

بررسی ارتباط غلظت هموسیستئین در مایع فولیکولی با کیفیت تخمک و جنین در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک که تحت درمان با روش کمک باروری قرار می گیرند

دکتر ایرج امیری*، دکتر صغری ربیعی**، دکتر محمدتقی گودرزی***، کتایون اعتمادی****
دکتر زینب همت پور*****

دریافت: ۹۱/۱/۲۸، پذیرش: ۹۱/۷/۱۸

چکیده:

مقدمه و هدف: سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) شایعترین بیماری غدد درون ریز زنان در سن باروری می باشد که معمولاً با توجه به راهنمای روتردام با وجود ۲ نشانه از ۳ نشانه زیر تشخیص داده می شود (۱) تخمدان پلی کیستیک (۲) الیگو اوولاسیون یا آنوولاسیون (۳) شواهد کلینیکی یا بیوشیمیایی هایپرآندروژنیسم. تخمک نابالغ و جنین با کیفیت پایین در بیماران سندرم تخمدان پلی کیستیک که تحت درمان با استفاده از فناوری کمک باروری قرار می گیرند گزارش شده است. همچنین یک رابطه معکوس بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و کیفیت تخمک و جنین دیده شده است. این مطالعه جهت بررسی بیشتر ارتباط بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و کیفیت تخمک و جنین اجرا شده است.

روش کار: در این مطالعه ۳۰ بیمار PCOS به عنوان گروه مورد و ۳۰ زن با عامل ناباروری مرد به عنوان گروه شاهد شرکت داشتند. سطح هموسیستئین مایع فولیکولی که هنگام پونکسیون تخمدان در دو گروه جمع آوری شده بود با روش الیزا اندازه گیری شد. تخمک ها و جنین ها در گروه هایی درجه بندی شدند. میزان هموسیستئین دو گروه با هم مقایسه شد و ارتباط آن با کیفیت تخمک و جنین مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: با این که میزان هموسیستئین مایع فولیکولی گروه مورد بیشتر از گروه شاهد بود اما تفاوت آن ها از نظر آماری معنادار نبود. ارتباط معناداری بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و کیفیت تخمک و جنین در دو گروه یافت نشد.

نتیجه نهایی: با اینکه در مطالعه حاضر رابطه ای بین کیفیت تخمک و جنین و سطح هموسیستئین مایع فولیکولی در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک یافت نشد اما مطالعات وسیعتر با تعداد نمونه های بیشتر پیشنهاد می شود.

کلید واژه ها: سندرم تخمدان چند کیستی / مایع فولیکولی / هموسیستئین

مقدمه:

بروز می کند (۴-۱) و معمولاً با وجود ۲ نشانه از ۳ نشانه زیر تشخیص داده میشود (۱) الیگو اوولاسیون یا آنوولاسیون (۲) شواهد کلینیکی یا بیوشیمیایی هایپرآندروژنیسم (۳) تخمدان پلی کیستیک، تشخیص باید با رد سایر علل از قبیل هایپرپلازی مادرزادی آدرنال، تومور ترشح کننده

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) یک اختلال شایع در غدد درون ریز زنان در سنین باروری آنان است، بطوری که تقریباً در ۱۰ درصد زنان در سن باروری دیده می شود. این سندرم توسط مجموعه ای از علائم و نشانه ها

* دانشیار آناتومی عضو مرکز آندومتر و آندومتریوزیس دانشگاه علوم پزشکی همدان (amiri@umsha.ac.ir)

** دانشیار زنان و زایمان عضو مرکز آندومتر و آندومتریوزیس دانشگاه علوم پزشکی همدان

*** استاد بیوشیمی عضو مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی همدان

**** عضو هیأت علمی گروه ژنتیک و پزشکی مولکولی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

***** دکتری حرفه ای پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

(۱۵). مطالعات ثابت کرده اند که مایع فولیکولی نیز حاوی هموسیستئین است (۱۱) و اختلال در میزان آن در مایع فولیکولی به عنوان محیطی که تخمک در آن پرورش می یابد ممکن است در نمو تخمک تأثیر بگذارد (۱۸،۱۹). در زنانی که تحت درمان با فناوری کمک باروری قرار گرفته اند رابطه معکوسی بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و کیفیت تخمک و جنین کشف شده است بطوریکه غلظت پایین هموسیستئین مایع فولیکول با میزان بلوغ بالای تخمک و جنین همراه است (۱۸،۲۰). همچنین گزارش شده است که کیفیت تخمک و جنین در بیماران سندرم تخمدان پلی کیستیک که تحت درمان با فناوری کمک باروری قرار میگیرند، بد و میزان لقاح در آنان کم است (۲۱). این امکان وجود دارد که افزایش سطح هموسیستئین پلاسما بر هموسیستئین مایع فولیکولی تأثیر گذاشته و این تغییر در ترکیب مایع فولیکولی سبب تغییر در کیفیت تخمک و جنین در بیماران PCOS که تحت درمان با فناوری کمک باروری قرار می گیرند، شود (۲۰).

ترکیباتی که گروه سولفیدریل آزاد دارند (SH) به عنوان تیول شناخته می شوند (۱۳) و هموسیستئین یک تیول است (۲۲). در زمان تخمک گذاری، عوامل مختلفی مثل فعالیت لکوسیت های فولیکول سبب تولید گونه های واکنشگر اکسیژن می شود (۲۳). تیول ها (۲۴،۲۲) و گونه های واکنشگر اکسیژن (۲۶-۲۳) در باروری نقش دارند. مقادیر فیزیولوژیک گونه های واکنشگر اکسیژن در بلوغ تخمک، تخمک گذاری، لوتئولیز، آترزی فولیکول (۲۴) و تشرح پروژسترون از جسم لوتئوم هنگام تحریک LH (۲۵) نقش دارند. با این که سطح فیزیولوژیک گونه های واکنشگر اکسیژن نقش مهمی در تخمدان بازی می کنند اما در شرایط کمبود آنتی اکسیدان ها تولید این مواد مخرب بوده و وضعیت پاتولوژیک را در تخمدان ایجاد می کند (۲۳).

با توجه به شیوع سندرم تخمدان پلی کیستیک و ناباروری حاصل شده از آن و این مهم که علاوه بر توانایی لقاح در تخمک، وضعیت رویان حاصل از آن یکی از مهمترین عوامل مؤثر در نتیجه درمان ناباروری زنان است، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط غلظت هموسیستئین در مایع فولیکولی با کیفیت تخمک و جنین در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک در مقایسه با زنان بارور که به دلیل مشکل همسرشان

آندروژن و سندرم کوشینگ بدلیل افزایش آندروژن و رد اختلالات تیروئید و افزایش پرولاکتین بدلیل ایجاد الیگو یا آنوولاسیون، همراه باشد. عواقب بالینی سندرم تخمدان پلی کیستیک شامل: ناباروری، اختلال در قاعدگی، هایپرآندروژنیسم (هیرسوتیسم، آلوپسی و آکنه) افزایش خطر هایپرپلازی و نئوپلازی آندومتر، افزایش خطر بیماری قلبی-عروقی و افزایش خطر دیابت شیرین نوع دو می باشد. در زنان PCOS که مشکل ناباروری دارند ممکن است علاوه بر عدم تخمک گذاری مزمن که از شایعترین علل ناباروری است، فاکتورهای دیگر همچون کیفیت تخمک، اختلالات جایگزینی و آندومتر هم نقش داشته باشد (۴). پروتکل ثابتی برای القای تخمک گذاری در زنان مبتلا به این سندرم وجود ندارد، اما روش منطقی این است که ابتدا از روشی با کمترین خاصیت تهاجمی و سپس از روش های تهاجمی تر استفاده شود. نتایج نشان می دهد، از آن جا که در زنان با سندرم تخمدان پلی کیستیک غلظت آندوژن های سرم بالاست، نتیجه تحریک تخمک گذاری، تخمک هایی است که کیفیت مطلوبی ندارند و به دنبال آن رویان هایی حاصل می شود که از کیفیت پایین تری برخوردارند. در چنین شرایطی، اگر امکان انتخاب رویان مناسب برای انتقال به رحم وجود نداشته باشد، ممکن است تحریک تخمک گذاری نتیجه ای در بر نداشته باشد و به حاملگی نیانجامد. در چنین مواردی ممکن است استفاده از فناوری کمک باروری شرایطی فراهم کند تا رویان با کیفیت مطلوب برای انتقال انتخاب شود (۵،۶). مطالعات بسیاری نشان داده است که در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک میزان هموسیستئین سرم نسبت به زنان غیر مبتلا بالاتر است (۱۲-۷). دیده شده است که سطح هموسیستئین بطور طبیعی در افراد بالغ، ۵-۱۵ میلی اکی والان بر لیتر می باشد (۱۳) و در افرادی که مقدار کمتری ویتامین B مصرف می کنند بیشتر است (۱۴). عوامل مختلفی بر سطح هموسیستئین مؤثرند از قبیل: سن (۱۴)، جنس (۱۵)، سیگار کشیدن، مصرف قهوه، رژیم غذایی (۱۶)، التهاب مزمن، فعالیت فیزیکی (۱۷) و هورمون هایی چون انسولین (۱۵). بالا بودن غلظت هموسیستئین خون در سندرم تخمدان پلی کیستیک می تواند از بالا بودن انسولین خون و مقاومت به انسولین که در هایپرآندروژنیسم (که مسئول علایم و نشانه های این سندرم است) نقش دارد، نشأت گرفته باشد

نسبت به واحد پروتئین محاسبه و تعیین گردید. تخمکهای به دست آمده از فولیکول های فوق با استفاده از میکروسکوپ معکوس در ۳ دسته تخمک های متافاز ۲، تخمک متافاز ۱ و تخمک ژرمینال وزیکول طبقه بندی شدند. همچنین جنین های حاصله از لقاح تخمک های فوق بر اساس پروتکل های رایج آزمایشگاه های جنین شناسی به گرید های ۴-۱ تقسیم بندی شدند که در جنین گرید ۴، بلاستومرهای هم اندازه، گرد و بدون تکه تکه شدن (جنین با کیفیت بالا)، در جنین گرید ۳، بلاستومرها با اندکی تفاوت در سایز با حداکثر ۱۰٪ واکوئل و گرانول، در جنین گرید ۲، بلاستومرهای ناهمسان با حداکثر ۳۰٪ گرانول و در جنین گرید ۱، بلاستومرهای ناهمسان با تکه شدن بسیار و گرانول ها و واکوئل های تیره و بزرگ (جنین با کیفیت ضعیف)، وجود داشت. بعداً جنین های تقسیم نشده هم در طبقه بندی گنجانده شد.

در انتها داده ها وارد نرم افزار SPSS 16 شد و میانگین سنی دو گروه با independent t-test مقایسه گردید. سطح هموسیستئین در مایع فولیکولی بین دو گروه با همین تست مقایسه گردید. پس از تقسیم بندی سطح هموسیستئین به گروه های کمتر از ۷/۱ میکرو مول بر لیتر (Low)، بین ۷/۱ تا ۹/۸ میکرو مول بر لیتر (Medium) و بیش از ۹/۸ میکرو مول بر لیتر (High) ارتباط بین سطح هموسیستئین و کیفیت تخمک و جنین دو گروه با آزمون chi square آنالیز شد. به منظور انجام آنالیز آماری و بررسی تأثیر هموسیستئین مایع فولیکولی با میزان بلوغ تخمک، تخمک ها در دو گروه متافاز ۲ و درجه بلوغ کمتر (متافاز ۱ و GV) و جنین ها در دو گروه با درجه بلوغ ۴ و کمتر از ۴ (از جنین تشکیل نشده تا درجه ۳) دسته بندی شدند. $P < 0.05$ معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج:

گروه مورد در محدوده سنی ۲۱ تا ۴۴ سال با میانگین سنی 29.1 ± 5.35 سال و گروه شاهد در محدوده سنی ۱۶ تا ۴۰ سال با میانگین سنی 29.23 ± 5.61 سال قرار داشتند که اختلاف معناداری بین آن ها وجود نداشت. میزان BMI در گروه مورد 25.73 ± 4.21 و در گروه شاهد 26.48 ± 4.34 بود که از این نظر نیز اختلاف معناداری بین آن ها وجود نداشت ($P < 0.05$).

نتایج آزمایشهای عمومی بیوشیمیایی و هورمونی اعضای در هر دو گروه در جدول ۱ نشان داده شده است.

(male factor)، تحت درمان روش های کمک باروری قرار گرفته بودند، انجام شد.

روش کار:

این مطالعه از نوع مورد - شاهدهی بود که از مهرماه ۱۳۸۸ تا آذرماه ۱۳۹۰ در مرکز ناباروری فاطمیه همدان انجام شد. در این مطالعه ۳۰ زن که طبق معیار رتردام تشخیص PCOS برای آن ها گذاشته شده بود و بعد از بررسی انجام شده کاندید روش کمک باروری بودند به عنوان گروه مورد و ۳۰ زن که کلیه معاینات کلینیکی و پاراکلینیکی سالم بودن خود آنها را از نظر باروری نشان می داد و به دلیل ناباروری همسر به مرکز مراجعه نموده و کاندید درمان با روش کمک باروری بودند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. زنان با عامل فاکتور لوله ای، اندومتریوز، دارای مشکلات قلبی عروقی، دیابت و اعتیاد به سیگار از مطالعه خارج شدند. همچنین با توجه به اهمیت و نقش ویتامین های B6، B12 و اسید فولیک در متابولیسم هموسیستئین بیمارانی که از اقلام فوق استفاده می نمودند از مطالعه حذف شدند.

پس از انتخاب بیماران، سیکل درمانی روش کمک باروری (ART) طبق پروتکل معمول مرکز ناباروری فاطمیه منطبق با پروتکل بین المللی برای کلیه بیمارانی که وارد مطالعه شدند شروع شد و بیماران جهت پانکچر تخمک آماده شدند. حین عمل و هنگام جمع آوری تخمک ها مایع فولیکولی آنها جمع آوری و برای اندازه گیری هموسیستئین مورد استفاده قرار گرفت، برای به دست آوردن میزان دقیق هموسیستئین و جلوگیری از مخلوط شدن مایع چند فولیکول، مایع فولیکولی اولین فولیکول تک تخمکی تخمدان جمع آوری شد و سپس مایع فوق با چشم ارزیابی شده و در صورت عدم وجود خون داخل آن، مورد استفاده قرار گرفت. مایع فولیکول هایی که اندازه آنها بیشتر از ۱۷ میلی متر باشد مورد استفاده قرار گرفت. مایع جمع آوری شده به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید تا سلول های فولیکولی ته نشین شود. بعد مایع رویی جمع آوری شده و در ۸۰- درجه سانتیگراد تا هنگام آنالیز بیوشیمیایی نگهداری شد سپس مقدار هموسیستئین در مایع فولیکولی به روش ELISA با استفاده از کیت شرکت Axis - shield اندازه گیری شد. مقدار پروتئین مایع فولیکولی با روش برادفورد تعیین و مقدار هموسیستئین

جدول ۱: مقایسه نتایج آزمایش های هورمونی و بیوشیمیایی بین دو گروه مورد و شاهد

ارزش P	گروه مورد		آزمایش
	Mean±SD	Mean± SD	
۰/۳۶	۷/۵ ±۲/۷	۷/۸۳ ±۱/۹۰	FSH
۰/۵۲	۸/۳۶ ±۲/۲	۹/۸۳ ±۱/۸۰	LH
۰/۷۵	۵۳/۴۸ ±۱۰/۷	۵۷/۹۰ ±۹/۳۹	استرادیول
۰/۰۸	۸۴/۷۵ ±۴/۹	۸۵/۸۰ ±۶/۳	FBS
۰/۶۱	۱۷۸/۹ ±۱۶/۵	۱۸۵/۲ ±۱۷/۶	کلسترول

جدول ۲: توزیع فراوانی دو گروه مورد و شاهد براساس درجه بلوغ تخمک و هموسیستئین مایع فولیکولی آن ها

میزان هموسیستئین مایع فولیکولی (μM/L)				درجه بلوغ تخمک	گروه
High	Medium	Low	مجموع		
تعداد	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد	تعداد
(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	تعداد	تعداد
متافاز ۲					
۲۲	۸	۱۲	۲	مورد	(۷)
(۷۳)	(۲۶)	(۴۰)	(۷)	شاهد	(۱۷)
۲۴	۱۰	۹	۵	متافاز ۱	(۳)
(۸۰)	(۳۳)	(۳۰)	(۱۷)	مورد	(۰)
۱	۰	۱	۰	شاهد	(۳)
(۳)	(۰)	(۳)	(۰)	متافاز ۱	(۰)
۱	۰	۰	۱	شاهد	(۳)
(۳)	(۰)	(۰)	(۳)	متافاز ۱	(۰)
GV					
۷	۵	۲	۰	مورد	(۰)
(۲۴)	(۱۷)	(۷)	(۰)	شاهد	(۳)
۵	۴	۰	۱	متافاز ۱	(۰)
(۱۷)	(۱۳)	(۰)	(۳)	متافاز ۱	(۰)

هموسیستئین مایع فولیکولی که از برداشت فولیکول از تخمدان در فرآیند ART به دست آمده بود در هر دو گروه اندازه گیری شد که در گروه مورد در محدوده ۵ تا ۲۹/۱ میکرو مول بر لیتر با میانگین $4/23 \pm 10/33$ و در گروه شاهد در محدوده ۵ تا $40/10$ میکرو مول بر لیتر با میانگین $4/03 \pm 9/76$ بود. بین میانگین هموسیستئین مایع فولیکولی دو گروه تفاوت معناداری وجود نداشت.

در مجموع افرادی که وارد مطالعه شدند، ۹ زن (۱۵٪) هموسیستئین مایع فولیکولی در گروه Low، ۲۴ زن (۴۰٪) در گروه Medium، و ۲۷ زن (۴۵٪) در گروه High قرار داشتند. ۷٪ از گروه مورد و ۲۳٪ از گروه شاهد در میزان هموسیستئین مایع فولیکولی Low، ۵۰٪ گروه مورد و ۳۰٪ گروه شاهد در میزان هموسیستئین مایع فولیکولی Medium و ۴۳٪ گروه مورد و ۴۷٪ گروه شاهد در میزان هموسیستئین مایع فولیکولی High قرار داشتند بنابراین در گروه مورد بیشترین فراوانی در گروه با میزان هموسیستئین متوسط و در گروه شاهد بیشترین فراوانی مربوط به گروه با میزان هموسیستئین زیاد بود.

بعد از تقسیم بندی تخمک ها بر اساس میزان هموسیستئین مایع فولیکولی، توزیع فراوانی دو گروه براساس درجه بلوغ تخمک و هموسیستئین مایع فولیکولی که این تخمک ها در آن رشد کرده بودند در جدول ۲ آورده شده است. در هر دو گروه مورد و شاهد با هر سطح هموسیستئین بیشترین فراوانی تخمک ها در مرحله بلوغ متافاز ۲ بوده است.

بعد از تقسیم بندی تخمک ها در دو گروه متافاز ۲ و درجه بلوغ کمتر (متافاز ۱ و GV)، مقایسه ارتباط هموسیستئین مایع فولیکولی با کیفیت تخمک دو گروه نیز در جدول ۲ ملاحظه می گردد.

در هموسیستئین مایع فولیکولی Low در گروه مورد، تمامی تخمک ها (۱۰۰٪ تخمک ها) و در گروه شاهد ۷۱٪ تخمک ها در فاز رشد متافاز ۲ بودند. به دلیل کم بودن تعداد نمونه ها در این میزان هموسیستئین امکان بررسی رابطه آن ها با تست Chi square وجود نداشت اما با توجه به ظاهر این دو عدد به نظر بین درجه بلوغ تخمک و میزان هموسیستئین Low تفاوت معناداری وجود نداشته باشد. در سطح هموسیستئین Medium در گروه مورد، ۸۰٪ تخمک ها و در گروه شاهد ۱۰۰٪ تخمک ها در مرحله متافاز ۲ بودند که از نظر آماری تفاوت معناداری بین درجه بلوغ تخمک و میزان هموسیستئین مایع فولیکولی Medium دیده نشد. در میزان هموسیستئین High در گروه مورد، ۶۲٪ تخمک ها و در گروه شاهد ۷۱٪ از تخمک ها در مرحله متافاز ۲ بودند که در این سطح نیز بین درجه بلوغ تخمک و میزان هموسیستئین ارتباط معناداری یافت نشد. توزیع فراوانی دو گروه براساس درجه بلوغ جنین و هموسیستئین مایع فولیکولی که تخمک این جنین ها در آن رشد کرده بودند در جدول ۳ آورده شده است.

در هموسیستئین مایع فولیکولی Low در گروه مورد، هیچکدام از جنین ها و در گروه شاهد در همین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی، ۱۴٪ از جنین ها درجه بلوغ ۴ داشتند. به دلیل کم بودن تعداد نمونه ها در این میزان هموسیستئین امکان بررسی رابطه آن ها با تست Chi square وجود نداشت اما با توجه به ظاهر این دو عدد به نظر می رسد بین درجه بلوغ جنین و میزان هموسیستئین Low رابطه معناداری وجود نداشته باشد. در هموسیستئین مایع فولیکولی Medium در گروه مورد، ۵۳٪ جنین های این بازه سطح هموسیستئین، و در گروه شاهد ۳۳٪ جنین ها بلوغ درجه ۴ داشتند. در این سطح هموسیستئین در بین دو گروه مورد و شاهد از نظر بلوغ جنین تفاوت آماری معنا داری وجود نداشت. در هموسیستئین مایع فولیکولی High در گروه مورد، ۲۳٪ جنین ها و در گروه شاهد ۳۶٪ جنین ها بلوغ درجه ۴ داشتند که از نظر آنالیز آماری تفاوت معناداری بین بلوغ جنین های دو گروه در این سطح هموسیستئین مایع فولیکولی نیز وجود نداشت (جدول ۵).

جدول ۵: توزیع فراوانی جنین های با بلوغ درجه ۴ نسبت به جنین های سایر مراحل رشد براساس سطح هموسیستئین مایع فولیکولی

میزان هموسیستئین مایع فولیکولی (μM/L)	درجه بلوغ جنین			
	مورد	شاهد	مورد	شاهد
Low	تعداد ۰	تعداد ۱	تعداد ۲	تعداد ۶
	درصد ۰	درصد ۱۴	درصد ۱۰۰	درصد ۸۶
Medium	تعداد ۸	تعداد ۳	تعداد ۷	تعداد ۱۵
	درصد ۵۳	درصد ۳۳	درصد ۴۷	درصد ۶۷
High	تعداد ۳	تعداد ۵	تعداد ۱۰	تعداد ۱۴
	درصد ۲۳	درصد ۳۶	درصد ۷۷	درصد ۶۴

بحث:

مطالعات نشان داده اند که سطح هموسیستئین سرم در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک بالاتر از افراد غیر مبتلا است (۸،۲۷،۷). همچنین گزارش شده است که مایع فولیکولی تخمدان نیز حاوی هموسیستئین است (۲۸). از آنجا که دریافت مکمل اسید فولیک باعث تغییر در سطح هموسیستئین سرم و مایع فولیکولی می شود این

جدول ۳: توزیع فراوانی تخمک های متافاز ۲ نسبت به تخمکهای سایر مراحل رشد براساس سطح هموسیستئین مایع فولیکولی

میزان هموسیستئین مایع فولیکولی (μM/L)	درجه بلوغ تخمک			
	مورد	شاهد	مورد	شاهد
Low	تعداد ۲	تعداد ۵	تعداد ۰	تعداد ۲
	درصد ۱۰۰	درصد ۷۱	درصد ۰	درصد ۲۹
Medium	تعداد ۱۲	تعداد ۹	تعداد ۳	تعداد ۱۵
	درصد ۸۰	درصد ۱۰۰	درصد ۲۰	درصد ۱۰۰
High	تعداد ۸	تعداد ۱۰	تعداد ۵	تعداد ۱۳
	درصد ۶۲	درصد ۷۱	درصد ۳۸	درصد ۲۹

در گروه مورد ۱۳ تخمک معادل ۴۳٪ منجر به ایجاد جنین نشده است که بیشترین فراوانی در گروه مورد مربوط به این جنین های تشکیل نشده بوده است و پس از آن درجه ۴ بلوغ، با فراوانی ۱۱ مورد (معادل ۳۷٪) در رتبه دوم از نظر فراوانی قرار دارد و جنین های با بلوغ درجه ۱ کمترین فراوانی را دارند. در گروه شاهد عدم تشکیل جنین با فراوانی ۱۰ مورد (معادل ۳۳٪) بیشترین فراوانی و پس از آن جنین های با بلوغ درجه ۳ و ۴ هرکدام با ۹ عدد (معادل ۳۰٪) بیشترین فراوانی را دارند. در گروه شاهد هیچ جنینی در درجه بلوغ ۲ قرار نگرفت. بعد از تقسیم بندی جنین ها در ۲ گروه با درجه بلوغ ۴ و کمتر از ۴ (از جنین تشکیل نشده تا درجه ۳)، مقایسه ارتباط هموسیستئین مایع فولیکولی با کیفیت تخمک دو گروه در جدول ۴ آورده شده است.

جدول ۴: توزیع فراوانی جنین های دو گروه براساس درجه بلوغ و هموسیستئین مایع فولیکولی

درجه بلوغ جنین	میزان هموسیستئین مایع فولیکولی (μM/L)					
	مجموع	High	Medium	Low	تعداد	درصد
درجه ۴	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۸	مورد ۲۷	مورد ۳	مورد ۳۷
	شاهد ۱	شاهد ۳	شاهد ۳	شاهد ۱۰	شاهد ۵	شاهد ۳۰
درجه ۳	مورد ۱	مورد ۳	مورد ۲	مورد ۷	مورد ۲	مورد ۱۷
	شاهد ۳	شاهد ۱۰	شاهد ۳	شاهد ۱۰	شاهد ۲	شاهد ۳۰
درجه ۲	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۱	مورد ۳
	شاهد ۰	شاهد ۰	شاهد ۰	شاهد ۰	شاهد ۰	شاهد ۰
درجه ۱	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۰	مورد ۰
	شاهد ۱	شاهد ۳	شاهد ۱	شاهد ۳	شاهد ۲	شاهد ۷
تشکیل نشده	مورد ۱	مورد ۳	مورد ۵	مورد ۱۷	مورد ۷	مورد ۴۳
	شاهد ۲	شاهد ۷	شاهد ۲	شاهد ۷	شاهد ۶	شاهد ۲۳

شاهدی در آن در نظر گرفته نشده بود و تخمک‌ها فقط در دو گروه متافاز ۱ و متافاز ۲ طبقه‌بندی شده بودند و بیشترین فراوانی تخمک‌های متافاز ۱ در گروه هموسیستئین زیاد و بیشترین فراوانی تخمک‌های متافاز ۲ در گروه با هموسیستئین کم قرار داشتند (۲۰) و این در حالیست که در مطالعه حاضر، فراوانی تخمک‌ها از نظر بلوغ در مقادیر مختلف هموسیستئین در هر دو گروه از الگوی خاصی تبعیت نمی‌کند. در مطالعه سزیمانسکی نیز رابطه معکوسی بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و درجه بلوغ تخمک یافت شده است (۱۸). لیکن در این مطالعه صرفاً بیماران PCOS شرکت نداشتند و مطالعه بر روی تمامی افرادی که تحت درمان با تکنیک‌های کمک باروری قرار داشتند بدون گروه بندی آنها انجام پذیرفت بنابراین از این نظر تفاوت بسیاری بین شرایط دو مطالعه وجود دارد که قیاس بین نتایج این دو را غیر قابل اعتماد میکند. در مطالعه برکر بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و کیفیت جنین بیماران مبتلا به PCOS نیز رابطه معناداری وجود داشت و بیشترین فراوانی جنین‌های درجه ۲ و ۳ که جنین‌های مطلوب تری بودند در میزان هموسیستئین کم و جنین‌های درجه ۳ که کیفیت پایین تری داشتند در میزان هموسیستئین مایع فولیکولی زیاد وجود داشت (۲۰). در مطالعه حاضر فراوانی درجه بلوغ جنین در میزانهای متفاوت هموسیستئین مایع فولیکولی در بیماران PCOS از الگوی خاصی تبعیت نمی‌کرد و بیشترین فراوانی جنین‌های درجه ۴ که مطلوب‌ترین ترین جنین‌ها بودند در میزان هموسیستئین متوسط قرار داشت. در مطالعه ابیش نیز میزان بالای هموسیستئین مایع فولیکولی با کیفیت پایین جنین همراه بوده است (۲۲). در آن مطالعه نیز صرفاً بیماران PCOS در نظر گرفته نشده‌اند و شاید علت اصلی تفاوت در نتیجه این مطالعه با مطالعه اخیر نیز در همین باشد، چون در مایع فولیکولی بیماران PCOS ممکن است علاوه بر هموسیستئین عوامل دیگری نیز وجود داشته باشند که بتوانند بر کیفیت جنین تأثیر بگذارند.

نتیجه نهایی:

اگرچه در مطالعه حاضر میزان هموسیستئین مایع فولیکولی بیماران نابارور مبتلا به PCOS از گروه زنان با عامل ناباروری مردانه بالاتر بود اما تفاوت معناداری بین آن‌ها یافت نشد. در این مطالعه بین میزان هموسیستئین مایع

نتیجه حاصل شده است که هموسیستئین مایع فولیکولی در ارتباط با هموسیستئین سیستمیک است و میزان آن در بیماران PCOS نیز بالا بوده و این امر می‌تواند بر بلوغ تخمک و کیفیت جنین این بیماران تأثیر بگذارد (۲۹). در این مطالعه، میزان هموسیستئین مایع فولیکولی بین دو گروه بیماران PCOS به عنوان گروه مورد و زنان با عامل ناباروری مردانه به عنوان گروه شاهد اندازه‌گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد، با این‌که میانگین هموسیستئین مایع فولیکولی در گروه PCOS بیشتر از گروه مورد بود اما از این نظر بین آن‌ها اختلاف معناداری وجود نداشت و همچنین بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی در بیماران PCOS و تعداد تخمک‌های MII و جنین‌های تشکیل شده ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد این دقیقاً مشابه مطالعه نافایا و همکارانش در سال ۲۰۰۹ بود (۱۱). در مطالعه یاد شده نیز همانند مطالعه ما، میانگین هموسیستئین مایع فولیکولی بیماران PCOS بیشتر از گروه با عامل ناباروری مردانه بود لیکن از نظر آماری این اختلاف معنی‌دار نبود. همچنین بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی در بیماران PCOS و تعداد تخمک‌های MII و جنین‌های تشکیل شده ارتباط معنی‌داری وجود نداشت. لیکن در مطالعه فوق هموسیستئین سرم بیماران PCOS و گروه با عامل ناباروری مردانه نیز اندازه‌گیری شده بود که از این نظر تفاوت بین دو گروه معنادار بود و همچنین ارتباط معنی‌داری بین میزان هموسیستئین سرم و تعداد تخمک‌های MII و جنین‌های تشکیل شده وجود داشت. از آنجا که مایع فولیکولی یک محیط دینامیک می‌باشد و ترکیب آن در مراحل مختلف فولیکولوژن تغییر می‌کند (۳۰) لذا میزان هموسیستئین سرم و مایع فولیکولی ممکن است همیشه تابع هم نبوده و متفاوت باشند (۱۱). هرچند مشخص شده است که در بیماران PCOS، تخمک کیفیت مطلوبی ندارد که شاید علت آن وجود هموسیستئین با میزان بالاتر در مایع فولیکولی تخمدان این بیماران باشد لیکن مطالعه ما نیز مانند مطالعه نافایا چنین چیزی را نشان نمی‌دهد. بر خلاف مطالعه حاضر و مطالعه نافایا در مطالعه ای دیگر که توسط برکر و همکارانش در سال ۲۰۰۹ انجام شد ارتباط معناداری بین میزان هموسیستئین مایع فولیکولی و کیفیت تخمک در زنان PCOS مشاهده شد. هرچند که در مطالعه ذکر شده تنها بیماران PCOS شرکت داشتند و گروه

11. Nafiye Y, Sevtap K, Muammer D, Emre O, Senol K, Leyla M. The effect of serum and intrafollicular insulin resistance parameters and homocysteine levels of nonobese, nonhyperandrogenemic polycystic ovary syndrome patients on in vitro fertilization outcome. *Fertil Steril*. 2010; 93: 1864-1888
12. Palep-Singh M, Picton HM, Yates ZR, Barth JH, Balen AH. Plasma homocysteine concentrations and the single nucleotide polymorphisms in the methionine synthase gene (MTR 2756A>G): Associations with the polycystic ovary syndrome An observational study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2008;138:180-186.
13. Homocystein in health and disease-google book, Carmel R, Jacobsen D. Homocystein in health and disease, Cambridge: University of Cambridge, 2001: 9-20.
14. Herrmann W. Significance of hyperhomocysteinemia. *Clin Lab* 2006; 52: 367-374
15. Schacter M, Razieli A, Friedler S, Starssburger D, Bern O, Ron-El R. Insulin resistance in patients with polycystic ovary syndrome is associated with elevated plasma homocysteine. *Hum Reprod* 2003; 8:721-727.
16. Nygard O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE. Major lifestyle determinants of plasma total homocysteine distribution: The hordaland homocysteine study. *AJCN* 1998; 67: 263-270
17. Schanede J, Refsum H, Ueland P. Biological and environmental determinants of plasma homocysteine. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 263-280.
18. Szymanski W, Kazdepka-Zieminska A. Effect of homocysteine concentration in follicular fluid on a degree of oocyte maturity. *Ginekol Pol* 2003; 74: 1392-1396
19. Boxmeer JC, Steegers-Theunissen RPM, Lindemans J, Wildhagen MF, Martini E, Steegers EAP, et al. Homocysteine metabolism in the pre-ovulatory follicle during ovarian stimulation. *Hum Reprod* 2008; 23: 2570-2576.
20. Berker B, Kaya C, Aytac R, Satroglu H. Homocysteine concentrations in follicular fluid are associated with poor oocyte and embryo qualities in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction. *Hum Reprod* 2009; 24: 2293-2302
21. Plachot M, Belaisch-Allart J, Chouraqui A, Tesquier A, Serkine AM, Agabeyrached F. Oocyte and embryo quality in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obstet Fertil* 2003;31:350-354.
22. Ebisch IMW, Peters WH, Thomas CM, Wetzels AM, Peer PG, Steegers-Theunissen RP. Homocysteine, glutathione and related thiols affect fertility parameters in the (sub)fertile couple. *Hum Reprod* 2006; 21:1725-1731.
23. Behrman HR, Kodaman PH, Preston SL, Gao S.

فولیکولی و کیفیت تخمک و جنین در بیماران نابارور مبتلا به PCOS و گروه زنان با عامل ناباروری مردانه که تحت درمان با فناوری کمک باروری قرار می گرفتند رابطه معناداری یافت نشد در حالیکه در برخی از مطالعات گذشته چنین رابطه ای گزارش شده است. به منظور بررسی دقیق تر این موضوع، مطالعات بیشتر با تعداد نمونه های فراوان تر پیشنهاد می شود.

سپاسگزاری:

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره دکتری حرفه ای پزشکی می باشد و نویسندگان مراتب قدردانی خود را از مسئولین کمیته پایان نامه ها بعمل می آورند.

منابع:

1. Speroff L, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2011: 1137-1190.
2. Burney RO, Schut DJ, Yoa MWM. Infertility. In: Berek JS (ed). Berek & Novak's gynecology. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2007: 1185-1276.
3. Hart R, Hickey M, Franks S. Definitions, prevalence and symptoms of polycystic ovaries and polycystic ovary syndrome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol* 2004; 18: 671- 683
4. Speroff L, Fritz MA. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2011: 495-532.
5. Kazemi A, Zahrai H. [Comparison of ovulation induction in women with PCOS and women with normal ovaries in Isfahan fertility and infertility center, 2003]. *J Nurs Midwif Res* 2005; 11: 102. (Persian)
6. Speroff L, Fritz M. Clinical gynecologic endocrinology and infertility. Philadelphia: Lippincott Williams &Wilkins, 2011: 1331-1382.
7. Sohrabvand F, Lankarani M, Golestan B, Haghollahi F, Asgarpoor L, Badamchi Z, et al. Serum homocysteine levels in PCOS patients versus healthy women. *J Reprod Infertil* 2009; 9: 334-341
8. Yilmaz M, Biri A, Bukan N, Karakoç A, Sancak B, Törüner F, et al: Levels of lipoprotein and homocysteine in non-obese and obese patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2005; 20: 258-263
9. Yilmaz N, Pektas M, Tonguc E, Kilic S, Gulerman C, Gungor T. The correlation of plasma homocysteine with insulin resistance in polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Res* 2008; 34: 384-391
10. de la Calle M, Gallardo T, Diestro MD, Hernandez A, Pérez E, Fernández-Miranda C. Increased homocysteine levels in polycystic ovary syndrome. *Med Clin (Barc)* 2007;129: 292-294.

- Oxidative Stress and the Ovary. *J Soc Gynecol Investig* 2001; 8: S40-S42
24. Ebisch IMW, Thomas CMG, Peters WHM, Braat DDM, Steegers-Theunissen RPM. The importance of folate, zinc and antioxidants in the pathogenesis and prevention of subfertility. *Hum Reprod* 2007; 13: 163-174
 25. Sawada M, Carlson JC. Intracellular regulation of progesterone secretion by the superoxide radical in the rat. *Endocrinology* 1996; 137: 1580-1584
 26. Pasqualotto EB, Agarwal A, Sharma RK, Izzo VM, Pinotti JA, Joshi NJ, et al. Effect of oxidative stress in follicular fluid on the outcome of assisted reproductive procedures. *Fertil Steril* 2004; 81: 973-976.
 27. Loverro G, Lorusso F, Mei L, Depalo R, Cormio G, Selvaggi L. The plasma homocysteine levels are increased in polycystic ovary syndrome. *Gynecol Obstet Invest* 2002;53:157-162.
 28. Steegers-Theunissen RP, Steegers EA, Thomas CM, Hollanders HM, Peereboom-Stegeman JH, Trijbels FJ, et al. Study on the presence of homocysteine in ovarian follicular fluid. *Fertil Steril* 1993; 60:1006-1010
 29. Boxmeer JC, Brouns RM, Lindemans J, Steegers EA, Martini E, Macklon NS, et al. Pre-conception folic acid treatment affects the microenvironment of the maturing oocyte in humans. *Fertil Steril* 2008; 89: 1766-1770.
 30. Gerart N, LoisEau S, Duchamp G, Seguin F. Analysis of the variations follicular fluid composition during follicular growth and maturation in the mare using proton nuclear magnetic resonance. *Reproduction* 2002; 124: 241-248.

Original Article

Assessment of Correlation between Homocysteine Concentration in Follicular Fluid and Oocyte and Embryo Quality in Polycystic Ovary Syndrome Patients Undergoing Assisted Reproductive Technology

I. Amiri, Ph.D.^{*}; S. Rabiee, M.D.^{**}; M.T. Goodarzi, Ph.D.^{***}; K. Etemadi, M.Sc.^{****}
Z. Hematpour, G.P.^{*****}

Received: 16.4.2012

Accepted: 9.10.2012

Abstract

Introduction & Objective: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is the most common endocrine disorder in women of reproductive age. According to the Rotterdam criteria, this syndrome is identified by presence of two of three criteria: (1) polycystic ovaries (2) oligo/anovulation and/or (3) clinical or biochemical evidence of hyperandrogenism. Low mature oocyte and embryo have been reported in polycystic ovary syndrome patients undergoing assisted reproduction. An inverse correlation between follicular fluid homocysteine (Hcy) concentration and oocyte and embryo maturity has also been found. This study has been implemented to do more evaluation on the relationship between homocysteine levels in follicular fluid and oocyte and embryo quality.

Materials & Methods: 30 PCOS patients as case group and 30 women with male factor infertility as control group were included in the study. The follicular fluid in the cases was collected during ovary puncture and Hcy level was measured by ELISA method. The oocytes and embryos were classified into several groups. The Hcy levels of follicular fluid of two groups were compared and its relation with oocyte and embryo quality was assessed.

Results: Although the homocysteine concentration in follicular fluid of the case group was higher than the control group, the differences were not statistically significant. Moreover, no significant correlation was found between oocyte and embryo quality and homocysteine concentration of follicular fluid of the two groups.

Conclusion: In our study, no significant correlation was found between oocyte and embryo quality and homocysteine concentration of follicular fluid of PCOS patients but further studies with larger sample sizes are recommended.

(Sci J Hamadan Univ Med Sci 2013; 19 (4):11-19)

Keywords: Follicular Fluid / Homocysteine / Polycystic Ovary Syndrome

^{*} Associate Professor of Anatomy, Research Center for Endometr & Endometriosis
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran. (amiri@umsha.ac.ir)

^{**} Associate Professor of Obstetric & Gynecology, Research Center for Endometr & Endometriosis
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.

^{***} Professor of Biochemistry, Research Center for Molecular Medicine
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.

^{****} Academic Member, Department of Genetics & Molecular Medicine, School of Medicine
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.

^{*****} General Practitioner