

**بررسی پلی مورفیسم گیرنده ویتامین D (rs7975232) در زنان مبتلا به سندرم تخمدان****پلی کیستیک**فاطمه داوریان<sup>۱</sup>، اکرم وطن‌نژاد<sup>۱\*</sup>، اسما خیراللهی<sup>۱</sup>، مریم تیموری<sup>۲</sup>، مریم شعبانی‌نشتایی<sup>۳\*</sup>

۱- گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.

۳- گروه تشریح، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه ناباروری، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۶/۲۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۸

**چکیده**

**مقدمه:** در مطالعات مختلفی، ارتباط متابولیسم ویتامین D با ایجاد سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) مشخص شده است. گیرنده سلولی اتصال به ویتامین D (VDR) یک گیرنده پلی مورفیک است که نقش حیاتی در متابولیسم ویتامین D دارد. در این مطالعه ارتباط میان فراوانی پلی مورفیسم rs7975232 (Apa-I) در ژن VDR با خطر ابتلا به PCOS بررسی شد.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۱۰۱ زن مبتلا به PCOS در مقایسه با ۱۰۱ مورد زن غیر PCOS در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه خون از این افراد گرفته شد و فاکتورهای بیوشیمیایی و هورمونی آنها اندازه‌گیری شده و با توجه به نرمالیتی آنها با استفاده از آزمون‌های Student's t-test و Mann-whitney مورد مقایسه قرار گرفتند. پس از استخراج DNA، از روش PCR-RFLP جهت تعیین ژنوتایپ پلی مورفیسم rs7975232 استفاده گردید و با استفاده از آزمون Chi-squared مورد مقایسه قرار گرفتند.

**نتایج:** یافته‌های این مطالعه حاکی از آن است که تغییرات فراوانی ژنوتایپ‌ها و آلل‌های پلی مورفیسم rs7975232 بین دو گروه زنان سالم بارور و زنان مبتلا به PCOS معنی‌دار نبود. با اینکه، فراوانی ژنوتایپ CA در زنان PCOS و غیر PCOS نسبت به ژنوتایپ‌های AA و CA بیشتر بود ولی به سطح معنی‌داری نرسید. در همین راستا ژنوتایپ CA و آلل A ریسک PCOS شدن را در زنان افزایش نداد ( $P=0/2$ ،  $CI=0/31-1/37$ ).

**نتیجه‌گیری:** طبق نتایج حاصل از مطالعه حاضر، ارتباطی بین پلی مورفیسم Apa-I در ژن VDR با PCOS یافت نشد. علاوه بر این، ارتباطی بین ژنوتایپ‌های پلی مورفیسم Apa-I با مقاومت به انسولین، التهاب و پروفایل چربی دیده نشد. با این حال، مطالعات بیشتری برای تأیید یافته‌ها و روشن شدن مکانیسم بیولوژیکی این پلی مورفیسم بر خطر ابتلا به PCOS مورد نیاز است.

**واژه‌های کلیدی:** سندرم تخمدان پلی کیستیک، گیرنده ویتامین D، پلی مورفیسم، ناباروری، rs7975232.

\*نویسنده مسئول: تهران - خیابان آزادی - نبش خیابان دکتر قریب - دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تلفن: ۰۲۱۶۱۱۷۱۳۲، نمابر: ۰۲۱۶۶۹۳۲۲۲، maryam.shabani.n@gmail.com

Email: vatannejad@ut.ac.ir

**ارجاع:** داوریان فاطمه، وطن‌نژاد اکرم، خیراللهی اسما، تیموری مریم، شعبانی‌نشتایی مریم. بررسی پلی مورفیسم گیرنده ویتامین D (rs7975232) در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک. مجله دانش و تندرستی در علوم پایه پزشکی ۱۹:۱۴۰۳(۴):۳۰-۲۱.



## مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک (PCOS) به عنوان یکی از شایع ترین بیماری های هورمونی در سنین باروری زنان محسوب می شود که حدود ۷-۵ درصد زنان به آن مبتلا می شوند (۱). با این حال، مکانیسم و علت مولکولی این اختلال هنوز به خوبی درک نشده است. نشان داده شده است که شیوع ناباروری در زنان مبتلا به PCOS حدود ۱۵ برابر بیشتر است (۲). مشکل اصلی بالینی سندرم تخمدان پلی کیستیک عدم تعادل سطح هورمون است که منجر به نامنظم شدن سیکل قاعدگی و عدم تخمک گذاری می شود که بر باروری تأثیر می گذارد (۳). PCOS منجر به بروز اختلالاتی مانند ناباروری، خونریزی رحم، کارسینوم آندومتر، مقاومت به انسولین (IR)، دیابت شیرین، علائم بالینی هیپراندروژنیسم (هیپرسوتیسم، آکنه، الگوی مو مردانه و ریزش مو)، اولیگومنوره، آمنوره، عدم تخمک گذاری، دیس لیپیدی، فشار خون بالا، خطر بیماری های قلبی عروقی و همچنین چاقی می شود (۴-۷).

امروزه مشخص شده که ویتامین D نقش مهمی در تولید مثل دارد. ویتامین D در سلول های گرانولوزای انسانی بر مسیر سیگنالینگ AMH، حساسیت FSH، تولید و توزیع پروژسترون نقش دارد، که این نشان دهنده نقش فیزیولوژیکی آن در رشد فولیکول های تخمدانی و لوتئینیزاسیون آن است (۸ و ۹). از طرفی، زنان ناباروری که کمبود ویتامین D دارند، شانس باردار شدن کمتری را دارند (۱۰).

شیوع تخمینی کمبود ویتامین D (کمتر از ۲۰ ng/ml) در زنان ایرانی ۱۴ تا ۴۵ ساله حدوداً ۴۲ درصد گزارش شده است (۱۱)، اگرچه در مورد شیوع کمبود ویتامین D در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک همچنان تناقضاتی وجود دارد. در مطالعه ای که توسط تامسون و همکاران انجام شد، ۶۷ تا ۸۵ درصد از زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک دارای کمبود ویتامین D بودند که سطوح آن کمتر از ۲۰ نانوگرم در میلی لیتر بود (۱۲). همچنین مطالعات نشان داده اند که بین کمبود ویتامین D و مقاومت به انسولین و PCOS ارتباط وجود دارد (۱۳). در واقع، این احتمال وجود دارد که کمبود ویتامین D علائم PCOS شامل مقاومت به انسولین، بی نظمی سیکل قاعدگی، ناباروری، افزایش آندروژن ها، چاقی و افزایش خطر بیماری های قلبی عروقی را تشدید کند. مطالعات پیشنهاد می دهند که مصرف ویتامین D به بهبود سیکل قاعدگی در افراد PCOS، تخمک گذاری و تولد زنده نوزاد کمک می کند (۴ و ۱۴). برخی از مطالعات پلی مورفیسیم های ژن های درگیر در متابولیسم ویتامین D از جمله گیرنده ویتامین D (VDR) و پروتئین حامل ویتامین D (VDBP) را مورد بررسی قرار دادند و نشان دادند که با آدیپوزنز، مقاومت به انسولین، دیابت و چاقی مرتبط هستند (۱۵). ما در مطالعه قبلی خود نشان دادیم که ژنوتیپ AC و

آلل A در پلی مورفیسیم rs4588 در ژن VDBP، با افزایش خطر ابتلا به PCOS و ناباروری ارتباط دارد (۱۶).

گیرنده ویتامین D یک گیرنده هسته ای است که ژن آن بر روی کروموزوم ۱۲ (q13. 11۱۲) قرار گرفته است. با اتصال ویتامین D به گیرنده خود، بیان بیش از ۹۰۰ ژن تحت تأثیر قرار می گیرد و عملکرد فرآیندهای سلولی نظیر معدنی شدن بافت ها، تکثیر و تمایز سلولی، انتقال غشایی، اتصالات سلولی، آپوپتوز، التهاب و استرس اکسیداتیو تحت تأثیر قرار می گیرد. بر اساس مطالعات هر یک از پلی مورفیسیم های VDR با اختلالات متعددی نظیر چاقی، دیس لیپیدی، مقاومت به انسولین، هایپرآندروژنیسم در ارتباط هستند (۴، ۲۲-۱۷). مطالعات حاکی از تأثیر وریانت های VDR بر اختلالات بالینی همراه با PCOS است. با این حال به دلیل تناقض نتایج در بین جمعیت های مختلف، تعمیم ارتباط یک پلی مورفیسیم خاص به PCOS سخت به نظر می رسد. تاکنون، گزارش شده که تعدادی از پلی مورفیسیم های VDR شامل: Apa1 (rs7975232)، Cdx2 (rs11568820) Bsm1 (rs1544410) و Taq1 (rs731236) نقش مهمی در ترشح و حساسیت به انسولین در زنان مبتلا به PCOS دارد (۴).

با توجه به نقش کلیدی متابولیسم ویتامین D در تولیدمثل و باروری موفق زنان، مطالعات کافی با حجم نمونه مناسب بر روی انواع پلی مورفیسیم های گیرنده و ناقل ویتامین D در زنان مبتلا به PCOS نابارور در ایران صورت نگرفته است (۱۸ و ۲۴ - ۲۱). لذا هدف از انجام این مطالعه بررسی فراوانی پلی مورفیسیم Apa1 در ژن VDR در زنان PCOS در مقایسه با زنان بارور غیرمبتلا به PCOS بود. علاوه بر این خطر ابتلا به PCOS در ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسیم Apa1 نیز مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش ها

این مطالعه از نوع موردی - شاهدهی می باشد که بر روی نمونه های خون اخذ شده از ۲۰۲ زن در سنین باروری (۲۵ تا ۴۵ سال) انجام شد. برای تعیین حجم نمونه مناسب از فرمول آماری معتبری که توسط مطالعه حاجیان تهیه شده است، استفاده شد (۲۵). این افراد از میان مراجعین سراسر کشور به مرکز درمان ناباروری ابن سینا در تهران انتخاب شدند. افراد شرکت کننده در این مطالعه، ابتدا به دو گروه شامل زنان بارور غیرمبتلا به PCOS و زنان نابارور مبتلا به PCOS تقسیم شدند. تشخیص PCOS بر اساس معیارهای روتردام توسط پزشک متخصص زنان صورت گرفت که این معیارها عبارتند از: الف) هایپرآندروژنیسم که از طریق علائم بالینی یا فاکتورهای بیوشیمیایی مشخص می گردد، ب) الیگومنوره یا آمنوره، ج) مشاهده تخمدان پلی کیستیک در سونوگرافی (۲۶).

تولید قطعه‌یی به طول ۷۴۰ جفت بازی)، افراد دارای ژنوتیپ هتروزیگوت AC (دارای سه قطعه ۵۳۰، ۲۱۰، ۷۴۰ جفت بازی) و افرادی با ژنوتیپ CC (دارای قطعات ۲۱۰ و ۵۳۰ جفت بازی) مورد شناسایی قرار گرفتند. با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk توزیع نرمال یا غیرنرمال داده‌ها مورد بررسی قرار گرفت. برای مقایسه بین گروهی داده‌های بیوشیمیایی با توزیع طبیعی و طبیعی به ترتیب از آزمون‌های Student's t-test و Mann-Whitney استفاده شد. برای بررسی فراوانی ژنوتایپ‌ها و آلل‌ها در گروه‌های سالم و بیمار از آزمون Chi-squared استفاده شد. همچنین، بررسی ارتباط بین فراوانی ژنوتایپ‌ها و آلل‌ها با ریسک ابتلا به PCOS از آزمون logistic regression استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

پرایمر	نوکلئوتیدها
مستقیم (Forward)	5' CAGAGCATGGACAGGGAGCAAG 3'
معکوس (Reverse)	5' GCAACTCTCATGGCTGAGGCTCA 3'

### نتایج

متغیرهای سن، انسولین، HOMA-IR، HDL-C (High-Density Lipoprotein Cholesterol)، هوموسیستئین، تستوسترون آزاد، FSH و hsCRP (High sensitive-C Reactive Protein) بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌دار داشتند. درحالی‌که از نظر BMI، قند خون ناشتا، تری‌گلیسیرید (Triglyceride: TG)، کلسترول تام (Total Cholesterol: TC)، LDL-C (Low-Density Lipoprotein)، LH (Luteinizing Hormone)، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

محصول PCR و انواع ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم گیرنده ویتامین D (RS7975232) بر روی ژل آگارز در شکل ۱ نشان داده شده است.

همان‌طور که در جدول ۳ مشاهده می‌شود، تغییرات فراوانی ژنوتایپ‌ها و آلل‌ها بین دو گروه زنان بارور غیرمبتلا به PCOS و زنان مبتلا به PCOS معنی‌دار نبود ( $P=0/2$ ). در بررسی فراوانی ژنوتیپ‌های مربوطه در جمعیت مورد مطالعه بالاترین درصد در زنان مبتلا و غیرمبتلا به PCOS به ترتیب مربوط به ژنوتیپ CA با ۵۲/۵٪ و ۶۴/۴٪ و کمترین آن به ترتیب مربوط به ژنوتیپ CC با ۸/۲٪ و ۱۶/۸٪ بود.

با اینکه فراوانی ژنوتیپ CA در زنان PCOS و غیر PCOS نسبت به ژنوتیپ‌های AA و CA بیشتر بود ولی به سطح معنی‌داری نرسید. در همین راستا ژنوتیپ CA و آلل A، ریسک PCOS شدن را نیز در آنها افزایش نداد ( $P=0/2$ ,  $OR=0/66$ ,  $CI=0/31-1/37$ ) (جدول ۴).

علاوه‌براین، طبق تعریف WHO 2010 ناباروری به حالتی اطلاق می‌شود که پس از ۱۲ ماه رابطه جنسی بدون استفاده از روش‌های جلوگیری، بارداری اتفاق نیفتد. گروه کنترل، زنان بارور غیرمبتلا به PCOS (نداشتن معیارهای PCOS)، بودند که در یک سال گذشته صاحب فرزند شده بودند.

زنان با ابتلا به سندرم کوشینگ، سندرم پرفشاری خون، اختلالات پارائروئید، هایپرپلازی مادرزادی، سابقه دیابت بارداری، تومور ترشح‌کننده آدرنال، هایپرپرولاکتونمیا، بیماری کبدی، کلیوی، مصرف مکمل ویتامین D، کلسیم، کورتون، داروهای قلبی وارد مطالعه نشدند. این پژوهش توسط کمیته اخلاق مرکز درمان ناباروری ابن سینا (IR.ACER.Avicenna.Res.1395.6) تأیید شد. رضایت آگاهانه از تمامی افراد شرکت‌کننده در این مطالعه دریافت گردید.

نمونه خون ناشتا بین روزهای ۲ و ۵ سیکل قاعدگی به میزان ۱۰ سی‌سی گرفته شد و ۲ سی‌سی از آن به لوله حاوی ضدانعقاد EDTA برای استخراج DNA و آزمایش‌های مولکولی و ۸ سی‌سی به لوله حاوی ژل لخته برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی و اندازه‌گیری هورمون‌ها منتقل شد.

آزمایش‌های بیوشیمیایی مربوط به اندازه‌گیری قند ناشتا و پروفایل چربی با استفاده از روش‌های آنزیمی کیت‌های تجاری (پارس آزمون) به‌وسیله دستگاه اتوآنالایزر اندازه‌گیری شدند. هورمون‌های انسولین (مونوباند، آمریکا، شماره کاتالوگ: ۳۰۰-۵۸۲۵)، تستوسترون آزاد (مونوباند، آمریکا، شماره کاتالوگ: ۳۰۰-۵۳۲۵)، FSH (پیش‌تاز طب، ایران) و LH (پیش‌تاز طب، ایران) نیز با استفاده از الیزا اندازه‌گیری شدند.

DNA ژنومی با استفاده از روش استاندارد از لکوسیت‌های خون محیطی استخراج شد. (Sina Clon, Iran) پس از استخراج DNA، با استفاده از روش PCR، قطعه ۷۴۰ جفت بازی از ژن VDR با استفاده از پرایمرهای مربوطه شناسایی و تکثیر قرار گرفتند (جدول ۱). به‌طور خلاصه ابتدا دناتوراسیون اولیه (۱۰ دقیقه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد) در دستگاه ترموسایکلر صورت گرفت و سپس ۳۵ سیکل دناتوراسیون (۴۵ ثانیه با دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد)، annealing (۳۰ ثانیه با دمای ۶۶ درجه سانتی‌گراد)، طول‌سازی (۴۵ ثانیه با دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد) تکرار گردید و نهایتاً طول‌سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت.

برای شناسایی پلی‌مورفیسم rs7975232 در ژن VDR از آنزیم ApaI (Thermoscientific) استفاده شد (به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد) و محصولات RFLP بر روی ژل آگارز ۲٪ مورد بررسی قرار گرفتند. به‌طوری‌که افراد دارای ژنوتیپ AA (فاقد محل برش آنزیمی و

بالاترین درصد فراوانی آلل در زنان PCOS و Non-PCOS به ترتیب مربوط به آلل A با ۵۲/۹۷٪ و ۵۰/۹۹٪ و کمترین آن به ترتیب مربوطه

جدول ۲- مقایسه متغیرهای بیوشیمیایی در زنان نابارور مبتلا به PCOS و زنان بارور غیرمبتلا به (non-PCOS) PCOS

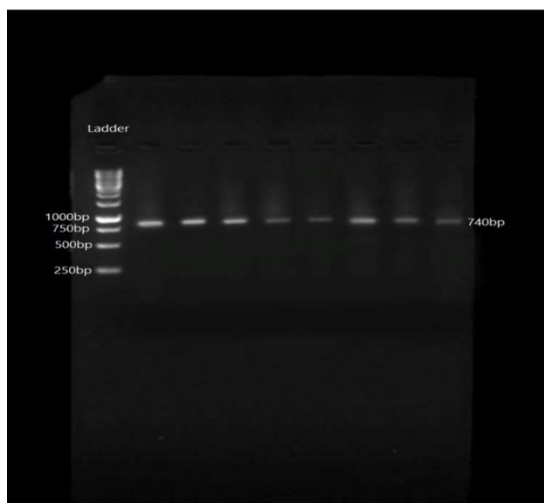
شاخص‌ها	زنان نابارور مبتلا به PCOS	زنان بارور غیرمبتلا به PCOS	پی-ویلو
سن (سال)	۳۰/۱±۴/۴۶	۳۳/۲۵±۴/۵۴	<۰/۰۰۰۱
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	۲۶/۶۶±۵/۰۶	۲۵/۸±۴/۲۷	۰/۲۱
قند خون ناشتا (mg/dL)	۸۸/۴۱±۹/۴	۹۰/۴۴±۹/۹۹	۰/۱۰
انسولین (μU/mL)	۴/۵۸ (۲/۷۴، ۷/۹۲)	۲/۸۸ (۱/۹۸، ۴/۲۱)	<۰/۰۰۰۱
HOMA-IR	۱(۰/۵۴، ۱/۸)	۰/۶ (۰/۴۴، ۱/۰۲)	<۰/۰۰۰۱
تری گلیسرید (mg/dL)	۱۴۱ (۹۸، ۱۷۳)	۱۱۲ (۹۲، ۱۵۱)	۰/۰۱
کلسترول توتال (mg/dL)	۱۷۲/۴۹±۳۹/۴۶	۱۶۶/۸۲±۲۹/۹	۰/۳۱
LDL-C (mg/dL)	۹۷/۸۸±۳۱/۸۴	۹۹±۲۹/۳۸	۰/۸۰
HDL-C (mg/dL)	۴۴(۳۹، ۴۸)	۴۶ (۴۱، ۵۲)	۰/۰۲
هوموسیستئین (mmol/L)	۱۰/۹ (۸/۰۵، ۱۴/۰۴)	۸/۹۸ (۷/۷، ۱۱/۹۷)	۰/۰۵۶
تستوسترون آزاد (pg/mL)	۳/۳۹ (۲/۵۳، ۴/۱۵)	۱/۵۱ (۱/۳، ۱/۸)	<۰/۰۰۰۱
LH (IU/L)	۵/۵۹ (۳/۵۱، ۷/۲۶)	۵/۸۳ (۴/۲۷، ۷/۶۱)	۰/۲۲
FSH (IU/L)	۵/۹۵(۴/۲۴، ۷/۶۱)	۸/۰۶ (۶/۳۶، ۹/۵۱)	<۰/۰۰۰۱
hsCRP (mg/L)	۳/۸۹±۱/۲۴	۲/۶±۰/۸۶	<۰/۰۰۰۱

BMI; Body mass index, LDL-C; Low-density lipoprotein-Cholesterol, HDL-C; High-density lipoprotein, LH; Luteinizing hormone, FSH; Follicle stimulating hormone, hs-CRP ; High-sensitivity C-reactive protein

شاخص‌هایی که توزیع طبیعی داشتند، با میانگین و انحراف از معیار گزارش شده و از طریق Student's t-test مورد مقایسه قرار گرفتند. شاخص‌هایی که توزیع غیرطبیعی داشتند، با میانه و IQR گزارش شده و از طریق آزمون Mann-Whitney مورد مقایسه قرار گرفتند.

محصولات PCR روی ژل آگارز ۱،۲٪

قطعات حاصل از هضم آنزیم Apal برو روی ژل VDR روی ژل آگارز ۲٪



شکل ۱- تجزیه و تحلیل ژنوتیپ SNP VDR rs7975232 با استفاده از روش PCR-RFLP هموزیگوت AA با تولید قطعه ۷۴۰ جفت بازی، هتروزیگوت AC با سه قطعه ۷۴۰، ۲۱۰، ۵۳۰ جفت بازی و هموزیگوت CC با قطعات ۲۱۰ و ۵۳۰ جفت بازی با استفاده از رنگ‌آمیزی SYBER safe روی آگارز ۲ درصد مشاهده شدند.

جدول ۳- توزیع فراوانی ژنوتایپها و آللهای VDR در دو جمعیت مورد مطالعه

ژنوتایپ	PCOS زنان نابارور مبتلا به PCOS (تعداد (%))	زنان بارور غیرمبتلا به PCOS (تعداد (درصد))	OR (CI)	پی-ولیو
CC	۲۱ (۲۰/۸)	۱۷ (۱۶/۸)		
CA	۵۳ (۵۲/۵)	۶۵ (۶۴/۴)	۰/۶۶ (۰/۳۱-۱/۳۷)	۰/۲۶
AA	۲۷ (۲۶/۷)	۱۹ (۱۸/۸)	۱/۱۶ (۰/۴۸-۲/۸۴)	۰/۷۵
آل				
C	۹۵ (۴۷/۰۲)	۹۹ (۴۹)		-
A	۱۰۷ (۵۲/۹۷)	۱۰۳ (۵۰/۹۹)	۰/۷۷ (۰/۳۷-۱/۵۶)	۰/۷۵

جدول ۴- ارتباط شاخصهای بیوشیمیایی با ژنوتایپهای پلی مورفیسیم rs7975232

شاخص	AA	CA	CC	پی-ولیو
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	۲۵/۸۲±۵/۴۹	۲۶/۵۶±۴/۳۱	۲۵/۷۳±۴/۸۵	۰/۵۰
قند خون ناشتا (mg/dL)	۸۸/۷۷±۹/۵۸	۸۹/۷۱±۹/۹۰	۸۹/۱۶±۹/۵۵	۰/۸۱
انسولین (μU/mL)	۳/۳ (۲/۱۹-۶/۸)	۳/۱۲ (۲/۰۷۵-۲/۱)	۵/۲ (۲/۷۱-۷/۷)	۰/۰۹
HOMA-IR	۰/۷۰ (۰/۴۷-۱/۴۶)	۰/۶۹ (۰/۴۵-۱/۲۱)	۱/۱۷ (۰/۵۷-۱/۶۳)	۰/۱۲
تری گلیسرید (mg/dL)	۱۰۸/۵ (۸۴-۱۴۵)	۱۳۲ (۹۷-۱۵۸)	۱۴۲ (۹۲/۵-۱۸۶)	۰/۱۱
کلسترول توتال (mg/dL)	۱۷۲/۵۱±۴۱/۹۹	۱۷۰/۸۷±۴۰/۶۱	۱۶۲/۹۳±۳۳/۷۲	۰/۵۰
LDL-C (mg/dL)	۹۷/۱۳±۴۳/۰۴	۱۰۰/۹۶±۳۰/۲۲	۹۲/۱۱±۲۷/۱۹	۰/۲۱
HDL-C (mg/dL)	۴۵ (۴۱-۵۳)	۴۵ (۴۰-۵۰)	۴۳ (۳۷/۵-۴۸/۶)	۰/۲۰
LH (IU/L)	۵/۴ (۳/۶۵-۷/۰۶)	۵/۸۶ (۴/۰۴-۷/۴۹)	۵/۶ (۳/۳۹-۷/۸۱)	۰/۶۱
FSH (IU/L)	۶ (۴/۶- ۷/۳۸)	۷/۲۶ (۴/۷-۹/۵)	۶/۷ (۴/۵۲- ۸/۹)	۰/۱۱
تستوسترون آزاد (pg/mL)	۲/۳۹ (۱/۴۵- ۳/۵۲)	۲/۰۸ (۱/۴۸- ۳/۳۹)	۲/۸ (۲/۷- ۴/۰۶)	۰/۲۷
hsCRP (mg/L)	۳/۳۳±۱/۰۸	۳/۳۵±۱/۲۸	۳/۵۲±۱/۵۲	۰/۸۰
هوموسیستئین (mmol/L)	۱۰/۷ (۸/۸۶- ۱۳/۴۵)	۹/۸۷ (۷/۱۶- ۱۲/۲)	۱۲/۳۵ (۷/۶۹- ۱۳/۹۸)	۰/۱۷

BMI; Body mass index, LDL-C; Low-density lipoprotein-Cholesterol, HDL-C; High-density lipoprotein, LH; Luteinizing hormone, FSH; Follicle stimulating hormone, hsCRP; High-sensitivity C-reactive protein

حدود ۸۵-۶۷٪ از زنان PCOS از کمبود ویتامین D رنج می‌برند (۱۹). در همین راستا مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که مصرف ویتامین D به بهبود سیکل قاعدگی در افراد PCOS، تخمک‌گذاری و تولد زنده نوزاد کمک می‌کند (۱۴ و ۲۷). با اتصال ویتامین D به گیرنده خود (VDR)، بیان بیش از ۹۰۰ ژن تحت تاثیر قرار می‌گیرد و عملکرد فرآیندهای سلولی نظیر معدنی شدن بافت‌ها، تکثیر و تمایز سلولی، انتقال غشایی، اتصالات سلولی، آپوپتوز، التهاب و استرس اکسیداتیو تحت تأثیر قرار می‌گیرد.

با اینحال برخی از مطالعات نشان داده اند که با وجود مصرف مکمل ویتامین D، سطح ویتامین D در افراد افزایش پیدا نمی‌کند و عملکرد مورد انتظار ویتامین D دیده نمی‌شود. لذا نقش SNPهای دخیل در مکانیسم عملکرد ویتامین D (از جمله VDR و VDBP) اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. از آنجایی که پاسخ به مکمل ویتامین D بین افراد بسیار متفاوت است، احتمالاً تغییرات ژنوتیپی در ژن VDR در پاسخ به مکمل ویتامین D حائز اهمیت است. پلی مورفیسیم‌های موجود در ژن VDR می‌توانند فعالیت VDR را تغییر دهند و بنابراین می‌توانند توضیحی برای پاسخ متفاوت به مکمل ویتامین D در جمعیت‌ها و افراد مختلف باشد (۳۱-۲۸).

بررسی فراوانی ژنوتایپها و آللهای در دو گروه از طریق آزمون Chi square انجام شد و ریسک PCOS شدن از طریق logistic regression صورت گرفت.

همان‌طور که در جدول ۴ آورده شده است، ارتباط میان شاخصهای بیوشیمیایی و هورمونی سرم با ژنوتایپهای مختلف پلی مورفیسیم rs7975232 مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد.

شاخص‌هایی که توزیع طبیعی داشتند، با میانگین و انحراف از معیار گزارش شده و از طریق آزمون one-way ANOVA مورد مقایسه قرار گرفتند.

شاخص‌هایی که توزیع غیرطبیعی داشتند، با میانه و IQR گزارش شده و از طریق آزمون Kruskal-Wallis مورد مقایسه قرار گرفتند.

## بحث

مطالعات نشان داده‌اند که کمبود ویتامین D علایم PCOS (شامل مقاومت به انسولین، بی‌نظمی سیکل قاعدگی، ناباروری، افزایش آندروژن‌ها، چاقی و افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی) را تشدید می‌کند. این درحالیست که، طبق مطالعه جین و همکاران در سال ۲۰۲۱،

بالای انسولین و مقاومت مکرر انسولین در زنان مبتلا به PCOS مرتبط با پلی‌مورفیسم FokI بوده است. از آنجایی که این مطالعه بر روی ۴۶ زنان مبتلا به PCOS صورت گرفته بود، پیشنهاد دادند که بهتر است در حجم‌های بیشتر مطالعه تکرار و تکمیل شود. (۲۳). نسیم رضانی و همکارانش مطالعه‌ای با عنوان ارتباط واریانت BsmI از ژن گیرنده ویتامین D و سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام دادند، در این مطالعه که ارتباط BsmI در زنان چاق با و بدون PCOS و ارتباط آنها با PTH، Ca، P بررسی شد ۳۸ بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مبتلا بودند و ۴۰ نفر زن سالم بودند نشان داد که ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم، پارامترهای متابولیکی و چاقی وجود ندارد (۴۱). برخلاف مطالعه حاضر، توجیح محمودی و همکاران طی یک مطالعه مورد-شاهدی ارتباط واریانت‌های گیرنده ویتامین D با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را مورد بررسی قرار دادند. ۳۵ بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مبتلا بودند و ۳۵ نفر زن سالم بودند. در این مطالعه ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم ژن گیرنده BsmI و ApaI در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مشاهده شد (۲۲). مطالعه‌ای که داسگوپتا و همکاران در ۱۵ شهر حیدرآباد هند به‌منظور بررسی الگوی ارتباط چهار پلی‌مورفیسم VDR (FokI، ApaI، TaqI و Cdx2) با PCOS در میان زنان هندی انجام دادند. در این مطالعه ۲۵۰ فرد مبتلا به PCOS و ۲۵۰ فرد سالم بررسی شدند. واریانت‌های ژنتیکی VDR (به جز Cdx2) دارای یک ارتباط با شدت علائم بالینی PCOS بودند. ممکن است به‌طور غیرمستقیم از طریق تنظیم سطح بیوشیمیایی ویتامین D یا سطح کلسیم بر ابتلا به PCOS اثر بگذارند (۱۸).

از آنجایی که پلی‌مورفیسم Apa-I در ناحیه ۳' UTR ژن VDR قرار دارد می‌تواند از طریق تنظیم پایداری mRNA در تعدیل بیان ژن و ترجمه کارآمد آن نقش دارد (۴۲). با توجه به اینکه در مطالعه حاضر تفاوتی در ژنوتیپ‌های مختلف VDR یافت نشد، به‌نظر می‌رسد در صورتی که خانم مبتلا به PCOS از کمبود ویتامین D رنج می‌برد، می‌توان با تجویز مکمل ویتامین D این کمبود را جبران کرد و پاسخ به مکمل مربوطه تحت تأثیر پلی‌مورفیسم ApaI در VDR نمی‌باشد. به‌طوری که مطالعات متعدد نتایج متناقضی را در رابطه با ارتباط انواع ژنوتیپ‌های ژن VDR با میزان پاسخ به مکمل ویتامین D نشان داده‌اند (۳۳-۳۵). در واقع، وضعیت ویتامین D تحت تأثیر عوامل بسیاری، به ویژه الگوی رژیم غذایی، فصل، و صفات ژنتیکی پروتئین‌های دخیل در متابولیسم آن است (۴۳). لذا پیشنهاد می‌شود که این مطالعه در مناطق جغرافیایی متعدد ایران و در حجم بیشتر صورت گیرد. زیرا نشان داده شده است که در اهواز با وجود تابش زیاد آفتاب، مردم از کمبود ویتامین D رنج می‌برند. علاوه‌براین انواع پلی‌مورفیسم‌های دخیل در VDR به‌طور همزمان در جمعیت مورد مطالعه

مطالعات حاکی از تأثیر واریانت‌های VDR بر اختلالات همراه با PCOS دارد. تنظیم عملکرد VDR تحت تأثیر عوامل ژنتیکی و محیطی (رژیم غذایی، قرار گرفتن در معرض نور خورشید، عفونت‌ها و آلودگی) مختلف قرار دارد (۲۲). این عوامل محیطی احتمالاً با تغییرات اپی‌ژنتیکی منجر به تغییراتی در سطح VDR می‌شوند که متعاقباً میزان ویتامین D در خون تغییر می‌کند. همچنین، میزان مصرف پیش‌ساز ویتامین D، میزان تولید و فعالیت ویتامین D در تنظیم VDR نقش دارد. عوامل ژنتیکی نیز می‌توانند تأثیر عوامل محیطی بر تنظیم VDR را تعدیل کنند (۳۵-۳۲).

در نتیجه متاآنالیز نیو و همکاران با عنوان ارتباط بین ویتامین D و پلی‌مورفیسم‌های ژن گیرنده ویتامین D با خطر ابتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم‌ها ژن VDR به خصوص ApaI A/C با PCOS در میان زنان آسیایی مرتبط است. برای تأیید نتایج نیاز به جمعیت‌هایی با حجم نمونه بزرگتر از ملیت‌های مختلف آسیایی است (۳۶). با اینحال در مطالعه حاضر، فراوانی ژنوتیپ‌های ApaI در زنان PCOS نسبت به زنان غیر PCOS تفاوتی نداشت. علاوه‌براین، آلل A تغییری در ریسک PCOS شدن یا نشدن نداشت. مشابه مطالعه حاضر، مطالعات دیگری نیز تفاوتی بین فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف از پلی‌مورفیسم‌های Bsm-I، Apa-I، و Taq-I در ژن VDR زنان مبتلا به PCOS در مقایسه با گروه کنترل پیدا نکردند (۱۸، ۳۷ و ۳۸) مخالف با نتایج حاصل از این مطالعه، برخی از مطالعات در یک یا چند مورد از پلی‌مورفیسم‌های ژن VDR در زنان مبتلا به PCOS ارتباط نشان داده‌اند (۳۹ و ۴۰).

سانتوس و همکاران مطالعه‌ای به‌منظور ارتباط بین پلی‌مورفیسم ApaI ژن گیرنده ویتامین D با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در زنان برزیلی انجام دادند. در این مطالعه ۱۹۱ فرد مبتلا به PCOS و ۱۰۰ فرد سالم بررسی شدند. در نتیجه تحقیقات صورت گرفته نشان داده شد که پلی‌مورفیسم‌های BsmI، ApaI، TaqI با ابتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک ارتباط ندارد، اگرچه ارتباطی بین ژنوتیپ CC از ApaI با سندرم متابولیک در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، فشار خون و کلسترول زنان بدون سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دیده شد. مطالعه نشان می‌دهد که ApaI بر سطح ویتامین D زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با سندرم متابولیک مؤثر است (۲۱). با این حال در مطالعه کنونی ارتباطی بین ژنوتیپ‌های ApaI و فاکتورهای دخیل در سندرم متابولیک از قبیل مقاومت به انسولین، پروفایل چربی، التهاب و BMI دیده نشد. در این راستا مرتضی باقری و همکاران پژوهشی مبنی بر ارتباط دو پلی‌مورفیسم دیگر (FokI و BsmI) در استان تبریز در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک انجام دادند. آنها نشان دادند با اینکه BsmI، FokI با سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مرتبط نیستند، اما سطح

## تشکر و قدردانی

از تمامی بیمارانی که بدون توقع وارد این مطالعه شدند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

## ملاحظات اخلاقی

در این مطالعه موازین اخلاقی شامل محرمانه نگه داشتن اطلاعات بیماران، کسب رضایت برای ورود به مطالعه، اجرای طرح پس از تصویب و گرفتن کد اخلاق رعایت شده است

## تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچگونه تعارض منافی وجود ندارد.

## مشارکت نویسندگان

تمام نویسندگان در مراحل انجام پژوهش و نگارش مقاله سهیم بوده‌اند.

## حمایت مالی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی دانشگاه تهران می‌باشد که هزینه انجام آن از طریق گرنت دانشگاه تهران تأمین گردید.

## کد اخلاق

این مطالعه با کد اخلاق (IR.ACER.Avicenna.Res.1395.6) به تأیید کمیته اخلاق مرکز درمان ناباروری ابن سینا رسیده است.

## References

- Carmina E, Lobo RA. Polycystic ovary syndrome (PCOS): Arguably the most common endocrinopathy is associated with significant morbidity in women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:1897-9. doi: 10.1210/jcem.84.6.5803
- Joham AE, Teede HJ, Ranasinha S, Zoungas S, Boyle J. Prevalence of infertility and use of fertility treatment in women with polycystic ovary syndrome: data from a large community-based cohort study. *J Womens Health* 2015;24:299-307. doi: 10.1089/jwh.2014.5000
- Melo AS, Ferriani RA, Navarro PA. Treatment of infertility in women with polycystic ovary syndrome: approach to clinical practice. *Clinics* 2015;70:765-9. doi: 10.6061/clinics/2015(11)09
- Baranova A, Tran TP, Afendy A, Wang L, Shamsaddini A, Mehta R, et al. Molecular signature of adipose tissue in patients with both non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and polycystic ovarian syndrome (PCOS). *J Transl Med* 2013;11:1-8. doi: 10.1186/1479-5876-11-133
- Fouani FZ, Fadaei R, Moradi N, Zandieh Z, Ansari-pour S, Yekaninejad MS, et al. Circulating levels of Meteorin-like protein in polycystic ovary syndrome: A case-control study. *PLoS One* 2020;15:e0231943. doi: 10.1371/journal.pone.0231943
- Vatannejad A, Kheirollahi A. Adiponectin/leptin and HOMA/adiponectin ratios in Iranian women with polycystic ovary syndrome. *Ir J Med Sci* 2023;192:1793-9. doi: 10.1007/s11845-023-03408-4
- Narani MS, Vatannejad A, Kheirollahi A, Teimouri M, Bayat S, Jadidzadeh F. Changes of biochemical parameters in normal weight and overweight/obese women with polycystic ovary syndrome. *Acta Biochimica Iranica* 2023;1:119-25. doi: 10.18502/abi.v1i3.14547
- Liu S. The role of vitamin D receptor gene polymorphisms in gestational diabetes mellitus susceptibility: a meta-analysis. *Diabetol Metab Syndr* 2021;13:1-12. doi: 10.1186/s13098-021-00764-y

مورد بررسی قرار گیرد. همچنین پیشنهاد می‌شود که ارتباط پلی مورفیسم‌های مذکور با سطح ویتامین D و عملکرد آن مطالعه شود. در طول پاتوژنز سندرم تخمدان پلی کیستیک، عوامل متعددی از جمله افزایش سطوح سیتوکین‌ها و آدیپوکین‌های پیش‌تهابی، چاقی احشایی، مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی، SNPها، هیپرهوموسیستینمی، افزایش استرس اکسیداتیو و هیپراندرژیسم منجر به ایجاد یک حالت مزمن التهابی با شدت کم می‌شوند (۴۶-۴۴). در مطالعه حاضر نیز افزایش مقدار تستوسترون، hsCRP و هموسیستین در زنان نابارور PCOS نسبت به زنان بارور غیر PCOS مشاهده شد.

هیپراندرژیسم از طریق مکانیسم‌های مختلفی تعادل هموستاتیک بدن را مختل می‌کند. اول، بیان ژن‌های LDL-R را کاهش می‌دهد و نیمه‌عمر VLDL-c و LDL-c را طولانی‌تر می‌کند و منجر به افزایش خطر کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) در زنان هیپراندرژیسم مبتلا به PCOS، مستقل از سایر عوامل خطر می‌شود (۴۷). دوم، بیان گیرنده‌های آندروژن و تولید TNF- $\alpha$  توسط سلول‌های تک هسته‌ای را افزایش می‌دهد (۴۸). سوم، هیپراندرژیسم با فعال کردن مسیر NF-kB، منجر به اختلال در سیگنالینگ انسولین می‌شود (۴۹). افزایش آندروژن به‌طور قابل توجهی با نرخ بالاتر عدم تحمل گلوکز در زنان مبتلا به PCOS مرتبط است (۵۰). چهارم، افزایش نسبت آندروژن به استروژن با مهار AMPK، یک سرکوب‌کننده قوی لیپوژنز در سلول‌های چربی، و ترویج بیان ژن‌های لیپوژنیک، باعث تجمع چربی احشایی می‌شود (۵۱). در این راستا در مطالعه حاضر، مقدار تری‌گلیسرید در سرم زنان مبتلا به PCOS بالاتر بود.

شیوع بیماری‌های متابولیک از جمله PCOS در جوامع مختلف دارای تفاوت‌هایی است. انواع ژنتیکی یا SNPها نیز در التهاب مزمن با درجه پایین مشاهده شده در PCOS دخیل بوده و در عوارض شدید غدد درون‌ریز و متابولیک نقش اساسی دارند. به‌طور مثال انواع ژنوتیپ‌های MTHFR با خطر PCOS، همراه با هیپرهوموسیستینمی همراه است. سطوح بالا هموسیستین با افزایش بیان و ترشح رزیستین از سلول‌های چربی از طریق فعال‌کننده‌های ROS، PKC و مسیره‌های سیگنالینگ NF-kB با مقاومت به انسولین مرتبط است (۵۲). در مطالعه حاضر نیز سطح هموسیستین و همینطور مقاومت به انسولین در زنان PCOS افزایش یافته است.

طبق نتایج حاصل از مطالعه حاضر، ارتباطی بین پلی مورفیسم Apa-I در ژن VDR با PCOS یافت نشد. علاوه بر این ارتباطی بین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم Apa-I با مقاومت به انسولین، التهاب و پروفایل چربی دیده نشد. احتمالاً در جمعیت مورد مطالعه این پلی مورفیسم تأثیری بر عملکرد ویتامین D ندارد و نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه می‌باشد.

9. Irani M, Merhi Z. Role of vitamin D in ovarian physiology and its implication in reproduction: a systematic review. *Fertil Steril* 2014;102:460-8.e3. doi: 10.1016/j.fertnstert.2014.04.046
10. Butts SF, Seifer DB, Koelper N, Senapati S, Sammel MD, Hoofnagle AN, et al. Vitamin D deficiency is associated with poor ovarian stimulation outcome in PCOS but not unexplained infertility. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104:369-78. doi: 10.1210/je.2018-00750
11. Nadi Ali Pourgoir S, Javadizadeh E, Yazdanyar Z, Riff M, Sate Maryam. Determining the prevalence of vitamin D deficiency in patients attending the central laboratory of Ferdows Karaj University of Medical Sciences. *Alborz Univ Med J* 2019;8:253-62. doi: 10.29252/aums.8.3.253
12. Thomson RL, Spedding S, Buckley JD. Vitamin D in the aetiology and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2012;77:343-50. doi: 10.1111/j.1365-2265.2012.04434.x
13. Garg G, Kachhawa G, Ramot R, Khadgawat R, Tandon N, Sreenivas V, et al. Effect of vitamin D supplementation on insulin kinetics and cardiovascular risk factors in polycystic ovarian syndrome: a pilot study. *Endocrine Connections* 2015;4:108-16. doi: 10.1530/EC-15-0001
14. Fernandez E, Fibla J, Betriu A, Piulats JM, Almirall J, Montoliu J. Association between vitamin D receptor gene polymorphism and relative hypoparathyroidism in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1997;8:1546-52. doi: 10.1681/ASN.V8101546
15. Sari MI, Rusdiana R, Daulay M. The Role of Apa-I Vitamin D Receptor Gene Polymorphism in Type 2 Diabetes Mellitus. *Open Access Maced J Med Sci* 2021;9:129-33. doi: 10.3889/oamjms.2021.5877
16. Akbari LN, Kheirollahi A, Vatannejad A, Hamidi H. Association of rs4588 polymorphism in vitamin D binding protein gene with polycystic ovarian syndrome in Iranian women: a case-control study. *BMC Res Notes* 2024;17:207. doi: 10.1186/s13104-024-06857-x
17. Zhao Y, Liao S, He J, Jin Y, Fu H, Chen X, et al. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with metabolic syndrome: a case-control design of population-based cross-sectional study in North China. *Lipids Health Dis* 2014;13:1-6. doi: 10.1186/1476-511X-13-129
18. Dasgupta S, Dutta J, Annamaneni S, Kudugunti N, Battini MR. Association of vitamin D receptor gene polymorphisms with polycystic ovary syndrome among Indian women. *Indian J Med Res* 2015;142:276. DOI: 10.4103/0971-5916.166587
19. Jin T, Lu W, Gong X, Zhou J, Wu F. Association of vitamin D receptor polymorphisms with metabolic syndrome-related components: A cross-sectional study. *J Clin Lab Anal* 2021;35:e23829. doi: 10.1002/jcla.23829
20. AlZaim I, Al-Saidi A, Hammoud SH, Darwiche N, Al-Dhaheiri Y, Eid AH, et al. Thromboinflammatory processes at the nexus of metabolic dysfunction and prostate cancer: The emerging role of periprostatic adipose tissue. *Cancers* 2022;14:1679. doi: 10.3390/cancers14071679
21. Santos BR, Lecke SB, Spritzer PM. Apa-I polymorphism in VDR gene is related to metabolic syndrome in polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study. *Reprod Biol Endocrinol* 2018;16:1-8. doi: 10.1186/s12958-018-0355-9
22. Mahmoudi T, Majidzadeh-A K, Farahani H, Mirakhorli M, Dabiri R, Nobakht H, et al. Association of vitamin D receptor gene variants with polycystic ovary syndrome: A case control study. *Int J Reprod BioMed* 2015;13:793. doi: 10.29252/ijrm.13.12.793
23. Bagheri M, Rad IA, Jazani NH, Nambakhsh F. Lack of association of vitamin D receptor FokI (rs10735810)(C/T) and BsmI (rs1544410)(A/G) genetic variations with polycystic ovary syndrome risk: A case-control study from Iranian azeri turkish women. *Maedica* 2012;7:303.
24. Zadeh-Vakili A, Tehrani FR, Daneshpour MS, Zarkesh M, Saadat N, Azizi F. Genetic polymorphism of vitamin D receptor gene affects the phenotype of PCOS. *Gene* 2013;515:193-6. doi: 10.1016/j.gene.2012.11.049
25. Hajian-Tilaki K. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. *J Biomed Inform* 2014;48:193-204. doi: 10.1016/j.jbi.2014.02.013
26. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum Reprod* 2004;19:41-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2003.10.004
27. Al-Daghri NM, Al-Attas OS, Alkharfy KM, Khan N, Mohammed AK, Vinodson B, et al. Association of VDR-gene variants with factors related to the metabolic syndrome, type 2 diabetes and vitamin D deficiency. *Gene* 2014;542:129-33. doi: 10.1016/j.gene.2014.03.044
28. Uitterlinden AG, Fang Y, Van Meurs JB, Pols HA, Van Leeuwen JP. Genetics and biology of vitamin D receptor polymorphisms. *Gene* 2004;338:143-56. doi: 10.1016/j.gene.2004.05.014
29. Whitfield GK, Remus LS, Jurutka PW, Zitzer H, Oza AK, Dang HT, et al. Functionally relevant polymorphisms in the human nuclear vitamin D receptor gene. *Mol Cell Endocrinol* 2001;177:145-59. doi: 10.1016/S0303-7207(01)00406-3
30. Barger-Lux M, Heaney RP, Hayes J, DeLuca H, Johnson ML, Gong G. Vitamin D receptor gene polymorphism, bone mass, body size, and vitamin D receptor density. *Calcif Tissue Int* 1995;57:161-2. doi: 10.1007/BF00298438
31. Arai H, Miyamoto KI, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, et al. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997;12:915-21. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.6.915
32. Barry EL, Rees JR, Peacock JL, Mott LA, Amos CI, Bostick RM, et al. Genetic variants in CYP2R1, CYP24A1, and VDR modify the efficacy of vitamin D3 supplementation for increasing serum 25-hydroxyvitamin D levels in a randomized controlled trial. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E2133-E7. doi: 10.1210/jc.2014-1389
33. Elnenaie MO, Chandra R, Mangion T, Moniz C. Genomic and metabolomic patterns segregate with responses to calcium and vitamin D supplementation. *Br J Nutr* 2011;105:71-9. doi: 10.1017/S0007114510003065
34. Graafmans W, Lips P, Ooms M, Van Leeuwen J, Pols H, Uitterlinden A. The effect of vitamin D supplementation on the bone mineral density of the femoral neck is associated with vitamin D receptor genotype. *J Bone Miner Res* 1997;12:1241-5. doi: 10.1359/jbmr.1997.12.8.1241
35. Serrano Casasola JCE, de Lorenzo D, Cassanyé A, Martín Garí M, Espinel A, Delgado MA, et al. Vitamin D receptor BsmI polymorphism modulates soy intake and 25-hydroxyvitamin D supplementation benefits in cardiovascular disease risk factors profile. 2013. doi: 10.1007/s12263-013-0356-4
36. Zhang X, Niu W. Meta-analysis of randomized controlled trials on vitamin D supplement and cancer incidence and mortality. *Biosci Rep* 2019;39:BSR20190369. doi: 10.1042/BSR20190369
37. Wehr E, Trummer O, Giuliani A, Gruber H-J, Pieber TR, Obermayer-Pietsch B. Vitamin D-associated polymorphisms are related to insulin resistance and vitamin D deficiency in polycystic ovary syndrome. *Eur J Endocrinol* 2011;164:741-9. doi: 10.1530/EJE-11-0134
38. Jedrzejuk D, Łączmański Ł, Milewicz A, Kuliczowska-Płaksej J, Lenarcik-Kabza A, Hirnle L, et al. Classic PCOS phenotype is not associated with deficiency of endogenous vitamin D and VDR gene polymorphisms rs731236 (Taql), rs7975232 (ApaI), rs1544410 (BsmI), rs10735810 (FokI): a case-control study of lower Silesian women. *Gynecol Endocrinol* 2015;31:976-9. doi: 10.3109/09513590.2015.1062865



39. Siddamalla S, Reddy TV, Govatati S, Erram N, Deenadayal M, Shivaji S, et al. Vitamin D receptor gene polymorphisms and risk of polycystic ovary syndrome in South Indian women. *Gynecol Endocrinol* 2018;34:161-5. doi: 10.1080/09513590.2017.1371128
40. Bagheri M, Rad IA, Jazani NH, Nanbakhsh F. Vitamin D receptor TaqI gene variant in exon 9 and polycystic ovary syndrome risk. *Int J Fertil Steril* 2013;7:116.
41. Ramezani N, Ostadsharif M, Nayeri H. Association of BsmI variant of vitamin D receptor gene with polycystic ovary syndrome: A case-control study. *Int J Reprod BioMed* 2020;18:877. doi: 10.18502/ijrm.v13i10.7772
42. Ogunkolade B-W, Boucher BJ, Prael JM, Bustin SA, Burrin JM, Noonan K, et al. Vitamin D receptor (VDR) mRNA and VDR protein levels in relation to vitamin D status, insulin secretory capacity, and VDR genotype in Bangladeshi Asians. *Diabetes* 2002;51:2294-300. doi: 10.2337/diabetes.51.7.2294
43. Bahrami A, Sadeghnia HR, Tabatabaeizadeh SA, Bahrami-Taghanaki H, Behboodi N, Esmaili H, et al. Genetic and epigenetic factors influencing vitamin D status. *J Cell Physiol* 2018;233:4033-43. doi: 10.1002/jcp.26216
44. Xu Y, Qiao J. Association of insulin resistance and elevated androgen levels with polycystic ovarian syndrome (PCOS): a review of literature. *J Healthc Eng* 2022;2022:9240569. doi: 10.1155/2022/9240569
45. Kondapaneni V, Gutlapalli SD, Poudel S, Zeb M, Toulassi IA, Cancarevic I. Significance of homocysteine levels in the management of polycystic ovarian syndrome: A literature review. *Cureus* 2020;12. doi: 10.7759/cureus.11110
46. Rudnicka E, Duszewska AM, Kucharski M, Tyczyński P, Smolarczyk R. Oxidative stress and reproductive function: oxidative stress in polycystic ovary syndrome. *Reproduction* 2022;164:F145-54. doi: 10.1530/REP-22-0152
47. Baranova A, Tran TP, Afendy A, Wang L, Shamsaddini A, Mehta R, et al. Molecular signature of adipose tissue in patients with both non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and polycystic ovarian syndrome (PCOS). *J Transl Med* 2013;11:133. doi: 10.1186/1479-5876-11-133
48. González F, Sia CL, Bearson DM, Blair HE. Hyperandrogenism induces a proinflammatory TNF $\alpha$  response to glucose ingestion in a receptor-dependent fashion. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;99:E848-54. doi: 10.1210/jc.2013-4109
49. Su CL, Chen M, Xu W, Lin JF. The impacts of testosterone on insulin sensitivity and chronic low-grade inflammation in polycystic ovary syndrome. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 2017;97:47-52. doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2017.01.012
50. Zhang J, Wang J, Shen S, Liu J, Sun J, Gu T, et al. Association of Androgen Excess with Glucose Intolerance in Women with Polycystic Ovary Syndrome. *Biomed Res Int* 2018;2018:1-8. doi: 10.1155/2018/9623412
51. McInnes KJ, Corbould A, Simpson ER, Jones ME. Regulation of adenosine 5', monophosphate-activated protein kinase and lipogenesis by androgens contributes to visceral obesity in an estrogen-deficient state. *Endocrinology* 2006;147:5907-13. doi: 10.1210/en.2006-0879
52. Li Y, Jiang C, Xu G, Wang N, Zhu Y, Tang C, et al. Homocysteine upregulates resistin production from adipocytes in vivo and in vitro. *Diabetes* 2008;57:817-27. doi: 10.2337/db07-0617



## Investigation of rs7975232 Polymorphism in Vitamin D Binding Receptor Gene in Patients with Polycystic Ovarian Syndrome

Fatemeh Davarian (M.Sc.)<sup>1</sup>, Akram Vatannejad (Ph.D.)<sup>1\*</sup>, Asma Kheirollahi (Ph.D.)<sup>1</sup>, Maryam Teimouri (Ph.D.)<sup>2</sup>, Maryam Shabani Nashtaei (Ph.D.)<sup>3,4\*</sup>

1- Department of Comparative Biosciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Department of Medical Laboratory Sciences, School of Allied Medical Sciences, Shahroud University of Medical Sciences, Shahroud, Iran.

3- Department of Anatomy, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Infertility, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Received: 18 September 2024, Accepted: 29 October 2024

### Abstract:

**Introduction:** Numerous studies have illuminated an association between vitamin D metabolism and the onset of Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS). The vitamin D binding receptor (VDR) is a polymorphic protein with a crucial role in vitamin D metabolism. This study aimed to examine the association of the rs7975232 polymorphism (Apa-I) in patients with PCOS.

**Methods:** A total of 101 women diagnosed with PCOS and 101 fertile, non-PCOS women were enrolled in this study. Blood samples were collected from these participants, and their biochemical and hormonal profiles were assessed and compared for normality using Student's t-test and Mann-Whitney tests. After DNA extraction, genotyping for the rs7975232 polymorphism was carried out using the PCR-RFLP method, and the results were compared in the study population with the Chi-squared test.

**Results:** The findings revealed no significant differences in the genotypes and alleles of rs7975232 between the control group and women with PCOS. Genotype analysis highlighted the prevalence of the CA genotype over the CC genotype in women with PCOS; however, it did not elevate the risk of PCOS (OR = 0.66, CI = 0.31–1.37, P = 0.2).

**Conclusion:** The study results highlight no significant correlation between the rs7975232 polymorphism in the VDR gene and the risk of PCOS in Iranian women. The findings showed no significant differences in the rs7975232 genotype polymorphism across key parameters, including insulin resistance (IR), inflammation, and lipid profile. However, further research is necessary to elucidate the precise role of VDR and its associated polymorphisms in the pathogenesis of PCOS and its related complications.

**Keywords:** Polycystic ovarian syndrome, Vitamin D receptor, Polymorphism, Infertility, rs7975232.

Conflict of Interest: No

\*Corresponding author: A. Vatannejad, M. Shabani Nashtaei, **Email:** vatannejad@ut.ac.ir, maryam.shabani.n@gmail.com

**Citation:** Davarian F, Vatannejad A, Kheirollahi A, Teimouri M, Shabani Nashtaei M. Investigation of rs7975232 polymorphism in vitamin D binding receptor gene in patients with polycystic ovarian syndrome. Journal of Knowledge & Health in Basic Medical Sciences 2025;19(4):21-30.

