جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

التحري عن العلاقة بين جيني المستقبل النووي و العامل الثاني المرتبط بعامل التنخر الورمي لمجاميع الدم و بعض المعايير الهرمونية و الكيموحيوية في النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض

رسالة مقدمة الى

مجلس كلية العلوم/ جامعة القادسية وهي من متطلبات نيل درجة الماجستير

في علوم الحياة /علم الحيوان

من قبل

رجوان جواد حسن العبيدي

بكالوريوس علوم في علوم الحياة / 2015

جامعة القادسية / كلية العلوم

إشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

آلاء محمد حسون الحسيني

جمادي الاخرة- 1440 شباط- 2019 م

سورة الزمر : اية 6

الخلاصة

أجريت الدراسة التحري عن العلاقة بين جيني المستقبل النووي و العامل الثاني المرتبط بعامل التنخر الورمي لمجاميع الدم و بعض المعايير الهرمونية و الكيموحيوية في النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض تم جمع (57) عينة دم من النساء المصابات بـ PCOS تم متابعتها عن طريق ملاحظة بعض العلامات السريرية اضافة الى التأكد من نتائج فحوصات الموجات فوق الصوتية ultrasonic (السونار) ، تم تقسيم مجموعة النساء المصابات بـ PCOS الى اربع مجاميع ثانوية ، اعتماداً على نوع فصيلة الدم وكانت تضم (8) عينة من مجموعة دم A ،و(21) عينة من مجموعة دم B و(7)عينة من مجموعة دم AB و(21)عينة من مجموعة دم O ، كما تم اختيار (30) عينة من النساء غير المصابات بمتلازمة التكيس المبايض المتعدد ، و لا يعانين من الامراض المزمنة واعتبرن كمجموعة سيطرة لإجراء قياس لمستوى كل من انزيم الكاتليز و بيروكسيد الدهون باستخدام الطريقة الضوئية ، و مستوى هرمون المحفز للجريب ، و هرمون اللوتيني بأستخدام جهاز المنفايدز، و كذلك لتقدير مستوى التعبير الجيني للجيني TRAF2 و NR5A1 باستخدام تقانة PCR (RT-qPCR) و مقارنتها مع المجموعة المصابة بـ PCOS .

سجلت النتائج الحالية زيادة النسبة المئوية للإصابة بمرض التكيس المبايض المتعدد في كل من فصلتي O و B ، بالمقارنة مع فصيلتي A وAB ، بينما اظهرت فصيلتي AB وO ، زيادة معنوية لكل من عدم انتظام الدورة و الشعرانية و الحبوب .

كما لوحظ من خلال نتائج مؤشرات الاجهاد التأكسدي انخفاض معنوي في مستوى فعالية انزيم الكاتليز ، و زيادة معنوية في مستوى انزيم المالوندايالديهايد MDA في النساء المصابات بـ PCOS ، بالمقارنة مع النساء في مجموعة السيطرة . و إن انخفاض في مستوى فعالية انزيم الكانليز و زيادة في مستوى المالوندايالديهايد MDA في فصيلة الدم O مقارنة مع الفصائل الاخر.

كما سجلت الدراسة انخفاض في مستوى هرمون FSH لدى النساء المصابات بـ PCOS بالمقارنة مع النساء في مجموعة السيطرة ، وكان زيادة مستوى هرمون LH اكثر في النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة AB مقارنة مع الفصائل

و من ناحية أخرى أظهرت نتائج الدراسة الجزيئية ارتفاعاً معنوياً في مستوى تعبير جيني TRAF2 و NR5A في النساء بمتلازمة تكيس المبايض المتعدد مقارنة بمجموعة السيطرة و كانت الزيادة المعنوية

في مستوى تعبير جين TRAF2 في النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة O ، اكثر مقارنة مع الفصائل الاخرى في حين كان مستوى الزيادة المعنوية من تعبير جين NR5A في النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة AB مقارنة مع الفصائل الاخر .

اظهرت نتائج الارتباط وجود علاقة معنوية عكسية معنوية في مستوى تعبير جيني TRAF2 و NR5A مع كل من فعالية انزيم الكاتليز ، و مستوى هرمونFSH ، بينما سجلت النتائج الارتباط وجود علاقة طردية معنوية في مستوى تعبير جيني TRAF2 و NR5A مع كل من مستوى تركيزMDA و هرمون LH .

1-المقدمة

متلازمة تكيس المبايض المتعددPoly cyst ovarian syndrome (PCOS) اضطراب في الغدد الصماء، وعمليات التمثيل الغذائي ، وتكون اكثر شيوعا لدى النساء اللاتي في سن الانجاب (Maliqueo et al., 2009) ، حيث يحدث بنسبة 17.8% و يتميز بعدم انتظام الدورة الشهرية irregular menstrual cycle و زيادة افراز الهرمونات الذكرية hyperandrogenism ، وضعف التبويض anovulation ، وتعدد الكيسات في المبيض (March et al., 2010) ، واضطرابات في التمثيل الغذائي مما والذي يؤدي الى الانحراف في جميع نواحي الايض الغذائي aberrant metabolic profile والسمنة Obesity بالإضافة الى وجود حالات مُقاومة للأنسولين insulin resistance (IR) وفرط الأنسولين hyperinsulinism (Vrbikova *et al*, .2008) .

يعتبرPCOS من الحالات التي تظهر انخفاضاً كبيراً في مضادات الاكسدة و مستوى الفيتامينات في المصل، وتكون هذه النساء اكثر عرضة لخطر الاصابة بالإجهاد التأكسدي (Al-Kataan *et al*., 2010) مما يزيد نسبة اصابتهن بمرض ارتفاع ضغط الدم ، و ارتفاع مستويات كوليسترول الدم ، والذي يؤدي الى ما يُعرف بعسر شحميات الدم dyslipidemia (Sekhon et al،2010) ، والذي يؤدي الى الاصابة بما يعرف بمتلازمة التمثيل الغذائي metabolic syndrome (Glueck *et al*., 2003) ، وقد يؤدي PCOS الى الاصابة بسرطان المبيض الذي ينتج عن زيادة التعبير الجيني لجين TRAF2 (Zhao et al.,2015) ، وتعرف جزيئة TRAF2 بمحول الاشارة signaling adaptor اذ تُعد احد الجزيئات المفتاحية التي تتوسط مسار نقل الاشارة وبشكل اساسي مسار الموت المبرمج المستحث (Han *et al*., 2004). اضافة الى ذلك ان آليات التنظيم الجيني لـ TRAF2 تلعب دورا هاما في تقدم

مرض PCOS (Li et al., 2015) كما أن حدوث الطفرات الجينية التي من شأنها التأثير في مستوى تعبير أو وظائف الجينات التنظيمية TRAF2 ، ومساراتTNF ، تتسبب في اضطراب واستقلاب هرمونات المبيض الستيرويدية اضافة الى تأثيره في نمو الجريبات والاباضة. مؤديا الى زيادة الاضطرابات الدورة الشهرية (Yong *et al*.,2015) .

أن أسباب PCOS غير واضحة و يمكن ان يشترك بها عوامل عدة، اذ توجد علاقة مشتركة بين فرط افراز هرمون انسولين hyperinsulinemia ، وفرط في افراز الهرمونات الذكرية (الاندروجينات) hyperandrogenism ، في النساء المصابات PCOS الناتجة من تغير في نسبة هرموني LH الى FSH بسبب خلل في فراز الهرمونات المطلقة لموجه القند GnRH الموجود في تحت المهاد والتي تخضع لسيطرة العامل الستيرويدي-1 (SF-1) المشفر بواسطة جين NR5A ، الذي يمثل عامل نسخ رئيسي للجينات في محور تحت المهاد – النخامية – بناء الستيرويد hypothalamic-pituitary-steroidogenic axis (Lourenço *et al*.,2009) ، اذ يوجد ضمن منطقة تحت المهاد و الغدة النخامية والغدة الكظرية ويسيطر على استنساخ العديد من جينات انزيمات بناء الهرمونات الستيرويدية أضافة الى دوره في نمو وتطور الجهاز التناسلي و الغدة الكظرية (Lin & Achermann , *2008*).اذ تؤدي الطفرات في جين NR5A عند الاناث الى قصور المبايض الاولي primary ovarian insufficiency والاضطراب الجنسي في الذكور(Lourenço *et al*.,2009) الا ان الآليات التي تقف وراء علاقتهما بـ PCOSغير مفهومة (Schuring *et al*.2008) .

يختلف نمط توزيع مستضدات الدم أو ما يعرف بمجاميع الدم ABO ، باختلاف نوع الانتشار بين مختلف المجموعات السكانية في العالم ، كما اشارت دراسات عدة الى وجود علاقة بين مجاميع الدم ABO في البشر وعناصر عدة منها النظام الغذائي (D'Adamo and Adamo,2002) ، والأمراضية (Garratty,2005)، فقد حظيت العلاقة بين بعض الأمراض ونوع الدم ABO اهتماما كبيرا على مدى العقود الخمسة الماضية، أذ اشارت بعض الدراسات الى احتمال وجود ارتباط بين مستضدات الدم ABO وبعض الأمراض الا أنه لم يتم بعد إثبات صحة ، أو غير ذلك من كيفية ترجمة الارتباطات الإحصائية بين فصائل الدم، وبعض مخاطر الأمراض ، الا ان هناك أدلة تشير إلى أن مستضدات مجموعات الدم ABO قد تلعب دوراً بيولوجياً في بعض الأمراض (Garratty,2000) ، اذ عَدت بعض الدراسات مستضدات ABO كعامل خطر risk factor لبعض الأمراض القلبية الوعائية (Biswas *et al*.,2013) ، وأنواع السرطان (Aly *et al*.,2014) ، والأمراض المُعدية

(Afoakwah *et al*.,2016) من جانب آخر فقد لوحظ ان هنالك علاقة ما بين مجموعات مستضدات ABO والخصوبة فقد اشارت الدراسات الى أن انخفاض نسب نجاح التكاثر لدى النساء، اللواتي أظهرن عدم توافق ABO مع ازواجهن (Abdollahi *et al*.,2013) كما ن تعدد اشكال الجينات polymorphismللجين المنفرد المسؤول عن التشفير لمستضدات مجموعات الدم تعد احد المسببات المرضية لحدوث اضطرابات الدورة الشهرية menstrual disorders ، أضف الى إن الجينات المُهيئة لمتلازمة المبيض المتعدد الكيسات تكون مترافقة مع اضطرابات الدورة الشهرية (Yong et al.,2015)، اذ توصل Rahu وآخرون (2014) ان النساء اللواتي من فصيلة O^+ من اكثر تحسساً للإصابة بـPCOS من بين الفصائل الأخرى.

1-1 : الهدف من الدراسة

فقد اجريت هذه الدراسة بهدف معرفة العلاقة بين مجاميع الدم وبعض المؤشرات لدى المصابات بـ PCOS و ذلك عن طريق دراسة المقاييس التالية:

1- دراسة بعض العلامات السريرية (كالشعرانية وحب الشباب وعدم انتظام الدورة الشهرية والخصوبة) ومؤشر كتلة الجسم BMI.

2– قياس مستوى هرموني التكاثر LH و FSH في المصل.

3 - قياس مستوى انزيم المالون ثنائي الديهايد MDA Malondialdehyde كمؤشر لبيروكسدة الدهون وقياس مستوى فعالية انزيم الكتليز CAT كأنزيم مقاوم للاكسدة في المصل

4– استخدام تقانة الوقت الحقيقي الكمي لتفاعل سلسلة البلمرة qRT-PCR لدراسة التعبير الكمي لجيني TRAF2 و NR5A1.

5- ايجاد العلاقة الخطية بين مستوى تعبير كل من جيني TRAF2 و NR5A1 ومؤشرات الاجهاد التأكسدي والتغيرات الهرمونية التي اشتملتها الدراسة الحالية .

3 المواد وطرائق العمل Materials and Methods

3. 1: المواد Materials

1.1.3 : الأجهزة والمعدات Equipment's and Instruments

تم استعمال عدداً من الاجهزة والادوات في الدراسة الحالية كما مبينة في الجدول (3-1).

الجدول (1.3): يمثل الأجهزة والادوات المختبرية جميعها مع اسم الشركة المصنعة وبلد المنشأ.

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة	(المنشـــأ)
1	Exispin vortex centrifuge	Bioneer	(Korea)
2	High speed cold centrifuge	Eppendorf	(Germany)
3	Micropepitte 0.5-10, 20-200, 100-1000	Eppendorf	(Germany)
4	Mini VIDAS	Bio merieux	(France)
5	Miniopticon Real-Time PCR	BioRad	(USA)
6	Nanodrop spectrophotomerter	THERMO	(U.K)
7	Spectrophotometer	Bioneer	(Korea)
8	أنبوبة اختبار Eppendorf tubes	Biobasic	(Canada)
9	ثلاجة Refrigerator	Concord	(Lebanon)
10	جهاز الدورات الحرارية Thermocycler apparatus(PCR)	Bioneer	(Korea)
11	حاضنة Incubator	Gallen Kaamp	(England)
12	حمام مائي Water bath	Memmert	(Germany)
13	دورق مخروطي Conical flasks	BBL	(USA)
14	مازج Vortex	CYAN	(China)
15	ميزان الكتروني حساس Sensitive electronic balance	Gallen Kaamp	(England)

العدد Kits

1.2.1.3 : عدد فحص المنيفايدس Mini vidas kits

يوضح جدول (3. 2) العدد المستعملة في فحص الهرمونات بطريقة minividas في الدراسة الحالية

جدول (3. 2) العدد المستعلة في فحص الهرمونات

المنشأ	الشركة	نوع عدة القياس		رقم العدة
France	Biomerieux	عدة قياس FSH		1
		Well(1)= (FSH sample)	Strip (10 well)	
		Empty well=5,4,3,2		
		Conjugate well= 6		
		Wash buffer well = 9,8,7		
		Substrate= 10		
		monoclonal anti-FSH immunoglobulin's(mouse)	FSH SPRS	
		FSH Calibrator	S1	
		FSH Control	C1	
		FSH diluent	R1	
			Mle	
france	Biomerieux	عدة قياس LH		2
		Well(1)= (LH sample)	Strip (10 well)	
		Empty well=5,4,3,2		
		Conjugate well= 6		
		Wash buffer well = 9,8,7		
		Substrate= 10		
		monoclonal anti-LH immunoglobulin's(mouse)	LH SPRS	
		LH Calibrator	S1	
		LH Control	C1	
		LH diluent	R1	
			Mle	

3 : عدد تفاعل سلسلة البلمرة للاستنساخ العكسي في الوقت الحقيقي الكمي qRT-PCR
Quantitative Real-Time Reverse Transcriptase PCR Kits

يوضح الجدولين (3-3) و (3-4) العدد التي استعملت في الدراسة الحالية لقياس تفاعل qRT – PCR

جدول (3-3): يبين جميع العدد التي استعملت لقياس تفاعل qRT – PCR

المنشأ	الشركة المصنعة	اسم العدة ومكوناتها	
Korea	**Bioneer**	**AccuZol™ Total RNA Extraction Kit**	**-1**
		Trizol Reagent (100ml)	
Korea	**Bioneer**	**AccuPower® RocktScript RT Pre Mix**	**2-**
		RocketScript Reverse Transcriptase (200I U)	
		5× Reaction Buffer	
		DTT (0.25 m M)	
		dNTP (250 µM each)	
		RNaseInhibitor (1u)	
Korea	**Bioneer**	**AccuPower® 2× Greenstar Master Mix qPCR**	**3-**
		2× Greenstar Master mix	
		8 Well strips × 12 each	
		DEPC 1.8 ml × 4 tubes	
(Canada	**BioBasic**	**DNase I enzyme set kit**	**4-**
		DNase I enzyme	
		10X buffer	
		Free nuclease water	

الجدول (3-4): يبين البادئات التي استعملت لقياس تفاعل qRT – PCR المصممة باستخدام موقع NCBI GenBank Data وباستخدام برنامج تصميم البادئات Primer3 plus . وقد تم تجهيز هذا البادئات من قبل شركة بايونير الكورية كما في الجدول :

Primer	Sequence (5'-3')		Product Size
TRAF2	**F**	**ACGACATGAACATCGCAAGC**	**103bp**
	R	**ATGGCCTTGATGAAGATGGC**	
NR5A	**F**	**ACCGAAGCAAGCACGAAAAG**	**150bp**
	R	**AGCAGTTCTGAAGCAGCTTC**	

GAPDH	F	TTGCCATCAATGACCCCTTC	117bp
	R	TGATGACAAGCTTCCCGTTC	

3المواد الكيميائية Chemical material

يوضح الجدول (3-5) المواد الكيميائية التي استعملت في الدراسة الحلية مع الشركة المصنعة والمنشأ

جدول (3-5) يبين المواد الكيميائية المستعملة بالدراسة.

المنشأ	الشركة	المواد الكيميائية
(England)	BDH	Chloroform
(Korea)	Bioneer	DEPC water
(Korea)	Bioneer	Disodium hydrogen phosphate
(England)	BDH	Ethanol
(Korea)	Bioneer	Free nuclease water
(france)	Biomerieux inc	FSH enzyme test kit
(USA)	Sigma –Aldrich	Hydrogen peroxide
(England)	BDH	Isopropanol
(france)	Biomerieux inc	LH enzyme test kit
(Korea)	Bioneer	Potassium dihydrogen phosphate
(USA)	Sigma –Aldrich	Thichloraacetic acid
(Korea)	Bioneer	Thiobarbituric acid
(England)	BDH	Trizol

2.3 : طرائق العمل Methods

3. 2 .1 : تصميم الدراسة

3. 2. 1. 1 : جمع عينات الدراسة

أجريت الدراسة الحالية في مستشفى النسائية والاطفال التعليمي في محافظة الديوانية ، من تاريخ 2018/11/29 لغاية تاريخ 2018/4/25 وتضمنت دراسة (57) عينة من نساء تتراوح اعمارهن بين (22-34) مصابات بمتلازمة التكيس المبايض المتعدد تم متابعتها عن طريق ملاحظة بعض العلامات السريرية مثل السمنة، و عدم انتظام أو انقطاع الطمث ، و حب الشباب اضافة الى التأكد من جراء الفحوصات الموجات الفوق الصوتية ultrasonic (السونار) كما تم تقسيم مجموعة النساء المصابات بـ PCOS الى اربع مجاميع ثانوية اعتماداً على نوع فصيلة الدم وكانت تضم (8)عينة من مجموعة دم A، و(21)عينة من مجموعة دم B ، و(7)عينة من مجموعة دم AB ، و(21)عينة من مجموعة

دم O ، كما تم اختيار (30) عينة من النساء غير المصابات بمتلازمة التكيس المبايض المتعدد و لا يعانين من الامراض المزمنة واعتبرن كمجموعة سيطرة كما تم احتساب مؤشر كتلة الجسم لجميع عينات الدراسة وذلك باحتساب وزن الجسم الى مربع الطول (kg/m2).

3. 2. 1 .2 : جمع عينات الدم

تم سحب الدم الوريدي بواقع 3-4 مل لجميع العينات المدروسة خلال اليوم الثاني أو الثالث للدورة الطمثية ، وفي حالة انعدام الدورة يتم جمع عينات الدم في أي يوم و تم حفظ جزء من الدم في انابيب حاوية على مانع تخثر (EDTA) ، لغرض اجراء اختبار فحص التلازن لمعرفة فصلية الدم و الدراسة الجزيئية ، في حين تم وضع الجزء الاخر من الدم في أنابيب غير حاوية على مانع التخثر ، وتركت لمدة 20 دقيقة في درجة حرارة الغرفة بعدها تم وضعها بجهاز الطرد المركزي و سرعة 3000 دورة /دقيقة لمدة 3-5 دقيقة بعدها تم سحب المصل و وضعه في أنابيب اختبار وتحفظ في التجميد العميق لحين الاستعمال لغرض قياس المعايير الكيميوحيوية والهرمونية المدروسة .

3الفحوصات

3. 2. 2. 1 : فحص مجاميع الدم

أجري الفحص بأتباع الطرق التقليدية لفحص مجاميع الدم (A, B, AB,O) وملاحظة التلازن الحاصل ما بين المستضدات الموجودة على سطح الخلايا، و أجسام الضد المضافة (Anti B,Anti A). يوجد نوعين مختلفين من المستضدات (A, B) على سطح كريات الدم الحمراء، و تتولد بشكل طبيعي لهذه المستضدات اجسام مضادة في البلازما في الافراد ، وجود هذه المستضدات وأضدادها ممكن ان يعبر عن بأربعة انواع وكما مبين في الجدول ادناه:

جدول 3-6 يبين المستضدات الموجودة على سطح الكريات واضدادها

Blood Type	RBC Antigens	Serum antibody
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A and B	none
O	none	Anti-A and anti-B

خطوات العمل

1. تم وضع قطرتين من الدم المراد عمل الاختبار له على شريحة زجاجة
2. تم وضع و خلط مصل يحتوى على A,B antibody مع الدم الموجود على الشريحة الزجاجية
3. بعد ذلك ملاحظة التفاعل المناعي التلازن agglutination
4. حدوث التلازن يعني وجود المستضد والعكس عند عدم حدوث التلازن .

الفحوصات الكيموحيوية

: 1.2.2 .2 .3 قياس مستوى فعالية انزيم الكاتليز في مصل الدم Determination of Serum (Catalase (CAT) (u\ml) (Aebi, 1974

أ- المبدأ الاساسي

يعتمد المبدأ الاساس على فعالية الكاتليز في تفكيك بروكسيد الهيدروجين ، و يتم قياس فعاليته عن طريق قلة امتصاص بروكسيد الهيدروجين المستهلك (Mueller et al., 1997) كما في المعادلة التالية

ب- تحضير الكواشف Reagents

-1محلول الفوسفات المنظم (Phosphate buffer solution (50 mm, pH 7.0 تم تحضر المحلول حسب الخطوات التالية :

- محلول فوسفات ثنائي هيدروجين البوتاسيوم المائية Potassium dihydrogen phosphate (5 mm (KH2PO4)) ، تم تحضره بإذابة gm6.81 من (136.09 gm /mole KH2PO4) في 1لتر من الماء المقطر
- محلول فوسفات ثنائي هيدروجين الصوديوم المائية Disodium hydrogen phosphate (38.772 mM (Na2HPO4))، تم تحضره بإذابةgm6.9 من (Na2HPO4 (141.96 gm/mole في واحد لتر من الماء المقطر distilled water
- تم مزج 390 مل من محلول (KH2PO4) مع 610 مل من محلول (Na2HPO4) وضبط الاسُ الهيدروجيني PH عند 7 .

2- محلول بروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide (H2O2) (30 mm تم تحضيره بواسطة تخفيف0.34 ml من 30% H2O2 بمحلول فوسفات المنظم الى 100 ml ، تم تحضر هذه المحلول انياً قبل الاختبار

ت- الاختبار Procedure

1- تم أخذ 50 µl مايكرو ليتر من العينة وخففت ب 50 µl مايكرو ليتر بمحلول الفوسفات المنظم عند درجة أُس الهيدروجين 7 (PH= 7) قبل بدء التحليل

2- تم تحضر مجموعتين من انابيب الاختبار و حسب الجدول التالي :

Reagents	Sample	Blank
Serum	2 ml	2 ml
PBS (pH 7.0)	_	1ml
H_2O_2	1 ml	_

3- بدأ التفاعل بعد اضافة بروكسيد الهيدروجين(المحضر انياً) الى كل انبوبة اختبار ، وبعد مزج الخليط تم قراءة شدة بامتصاص العينة بعد (15 ثانية) سُجلت القراءة الاولى د (t_1) و بعد (30 ثانية) يتم تسجيل القراءة الثانية (t_2) ويتم قراءة امتصاصية العينات عند طول موجي 240 nm بواسطة جهاز المطياف spectrophotometer Aple PD-303 UV

ث- الحسابات

تم أحتساب مستوى فعالية انزيم الكاتليز من خلال المعادلة التالية :

$$\text{Catalase activity (U/ml)} = \frac{(\Delta As - \Delta Ao) \times df}{\epsilon \times Tv \times \Delta t \times L}$$

ΔA_S : الفرق بين القراءتين للعينة

ΔA_o: الفرق بين القراءتين للخلية

***Df* : عامل التخفيف**

€ : عامل الامتصاصية ($0.0436\ M^{-1}\ cm^{-1}$)

Tv : الحجم الكلي

L : مسار الضوء

Δt : الفرق بين زمن القراءتين

تقدير مستوى بيروكسيد الدهن في الدم (المالونداي الديهايد)Mole\L

(Determination of Lipid Peroxidation in Blood Malondialdehyde)

أ- المبدأ الأساس Basic Principle

تم تقدير مستوى المالونداي الديهايد في المصل ، باستخدام الطريقة المحورة المتبعة من قبل الباحثين (Guidet and Shah, 1989) ، واعتمادا على هذه الطريقة تم تقدير مستوى بيروكسيد الدهن في المصل من خلال قياس كمية المالونداي الديهايد وهو يمثل أحد النواتج الرئيسة لبيروكسدة الدهن وتعتمد الطريقة على التفاعل بين بيروكسيدات الدهن وبشكل رئيس المالونداي الديهايد وبين حامض ثايوباربيوتريك (Thiobarbituric acid (TBA، وهذا التفاعل يتم في وسط حامضي ويكون ناتجاً ملوناً ، يتم قياس شدة الامتصاص له عند 532 نانوميتر.

ب- الكواشف Reagents

1- حامض ثايوباربيوتريك (Thiobarbutric acid (TBA (%0.6) : يحضر بإذابة 16 mg من TBA في 10ml من الماء المقطر يستخدم الحمام المائي لتأكد من اذابة الكاملة TBA.

2- محلول ثلاثي كلورو حامض الخليك (Trichloroacetic acid 70 % (TCA : تم اخذ 70 غرام من TCA وكمل الى الحجم النهائي من (100) مل من الماء المقطر

3- يأخذ 5 مليلتر من Trichloroacetic acid %17.5ويكمل الحجم الى 20 مل من الماء المقطر

ت- طريقة العمل Procedure

تحضير مجموعتين من انابيب الاختبار كما في الجدول الاتي :

Reagent	Sample	Blank
Serum	150 µl	-
TCA (17.5%)	1 ml	1 ml
TBA (0.6%)	1 ml	1 ml

يمزج جيدا ثم يوضع في حمام مائي لمدة 15 دقيقة ثم يترك ليبرد		
TCA (70%)	1 ml	1 1

ثم تركت الأنابيب بدرجة حرارة الغرفة لمدة 20 دقيقة ثم بعدها وضعت في جهاز طرد المركزي بسرعة 4500 دورة لمدة 15 دقيقة . نُقل الرائق و وضع في انابيب اختبار جديدة.تمت قراءة امتصاصية العينات عند الطول الموجي 532 نانوميتر باستخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer Type PD-303uv ،

ث- الحسابات Calculation

يتم تقدير تركيز المالونداياالديهايد اعتمادا على المعادلة الآتية :

$$D \times \text{The conc. of MDA} = \frac{A_{\text{of sample at 532 nm}}}{L \times \varepsilon}$$

L = طول المسار (1cm)

ε = معامل الامتصاص ($1.56 \times 10^5\ M^{-1}\ cm^{-1}$)

D = معامل التخفيف

D = Volume used in reference الحجم الكلي \ حجم العينة

D = 1+1+1+0.15 \ 0.15 = 21

قياس تركيز الهرمون المحفز للجريب في مصل الدم :

تم قياس تركيز الهرمون FSH في مصل الدم لدى مجموعة المصابات بمتلازمة تكيس المبايض المتعدد فضلا عن مجموعة السيطرة و ذلك بأتباع الخطوات المرفقة مع عدة mimi vidase لفحص هرمون FSH

أ_مبدأ الاساس

يعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون المحفز للجريبات على طريقة Enzyme immunoassay sandwich method with a final fluorescent detection نتيجة التنافس بين المستضد الموجود في العينة ، و المستضد المعلمة أو المختومة sealed reagents strips بـ anti- FSH- antibodes المغطية الSPR_1 ، وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية الاشعاع عن طريق الجهاز بشكل اوتوماتيكي تعمل مستلزمات الطور الصلب ، فضلا عن عملها بوصفها أداة ماصة في

الوقت نفسه لأجل المعايرة . أما المحاليل المستخدمة في المعايرة فهي جاهزة و محضرة على اشرطة مختومة sealed reagents strips .

يتم انجاز خطوات المعايرة او القياس جميعا بشكل اوتوماتيكي عن طريق جهاز Minvidas حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري ، من و الى ، حيث يتحرك وسط التفاعل بشكل دوري من و الى SPRs و المحاليل الموجودة عدة مرات .

أ_ خطوات طريقة العمل

1- التخفيف : يتم تخفيف المحاليل حسب الجدول ادناه:

المحاليل القياسية	التحضير
FSH Control	**تم تحضيره بإضافة 3 مل^3 من الماء المقطر و يترك لمدة 10_5 دقائق**
FSH Calibrator	**تم تحضيره بإضافة 2ملم^3 من الماء المقطر و يترك لمدة 10_5 دقائق**
FSH diluent	**جاهز للاستعمال**

2.وضعت بطاقة Mle الخاصة بعدة الفحص في المكان المخصص لها في جهاز Min vidas ليتعرف عن طريقها على الاختبار بشكل اوتوماتيكي اذ لا يمكن بدونها الجهاز من اظهار النتيجة وثم طباعتها .

يتم اتباع الخطوات بالجهاز و الموجود في manual الخاص بالجهاز ليقوم الجهاز بعملية المعايرة التي تستغرق 45 دقيقة اوتوماتيكيا .

3- تم استعمال اشرطة SPR & STR واحدة لكل عينة من مصل الدم القياسي و السيطرة Standard & Control و وضعت في المكان المخصص لها في الجهاز .

اذ تم اخذ (100 مايكروليتر) من عينة مصل الدم و وضعها في الحفرة الاولى الخاصة بها على شريط(Strip (STR و الحاوية على anti- FSH- antibodes المرتبطة مع الانزيم alkaline phosphates في الحفرة (6). ، وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR والموجود في الحفرة السادسة للشريط ، وبهذا يرتبط المستضد بالأجسام المضادة SPR و كذلك بالرابط مكونا بعد ذلك الشطيرة Sandwich .

من المؤكد انه ليس جميع الجزيئات يحدث فيها تفاعل فآلية عمل الجهاز في التخلص من المتبقي غير المتفاعل مع(anti-body+enzyme) بواسطة الغسل فيقوم spr بشفط محلول الغسل والذي يوجد بالحفر (7,8,9) ويحركه لأرجاعه الى احد الحفر الخالية (2,3,4,5) ويكرر خطوة الغسل عدة مرات

حتى يبقى الجزء المتفاعل فقط (الشطيرة) (antigen –enzyme link antibody) والملتصقات في الحفرة السادسة spr ،بعدها يتم التفاعل بين مكونات spr (الشطيرة) والمادة الاساس المفلورة وهي توجد في الحفرة الاخيرة وبهذا سوف يتبقى الانزيم الذي يرتبط بالمادة الاساس ،فيقوم الانزيم بعد ذلك بتحليل المادة الاساس الى الناتج المشع و هو 4-methly umbliliferyl الذي يتم قياس كمية الاشعاع فيه على طول موجي 450 نانو متر ، و تعتمد شدة الاشعاع على التركيز النسبي للمستضد الموجود في العينة

4- تم حساب النتيجة في نهاية المعايرة بشكل اوتوماتيكي عن طريق جهاز اعتمادا على المنحني القياسي المخزون في ذاكرة الجهاز وبعدها تم طباعة النتيجة عن طريف الجهاز ايضا .

3. 2. 2. 3. 2 : قياس تركيز الهرمون اللوتيني (LH)في مصل الدم :

تم قياس تركيز الهرمون LH في مصل الدم لدى مجموعة المصابات بمتلازمة تكيس المبايض المتعدد فضلا عن مجموعة السيطرة و ذلك بأتباع الخطوات المرفقة مع عدة mimi vidase لفحص هرمون LH.

أ_مبدأ الاساس

يعتمد مبدأ قياس تركيز الهرمون اللوتيني أيضاً على طريقة Combines enzyme immunoassay sandwich method with afinal fluorescent detection اذ يحدث تنافس بين المستضد الموجود في العينة و المستضد المعلم ب anti- LH- antibodes المغطية الSPR_1 وفي النهاية يتكون ناتج مشع تم قياس كمية الاشعاع عن طريق الجهاز بشكل اوتوماتيكي ، اما بالنسبة لطريقة العمل فقد تم اتباع الطريقة ذاتها المستخدمة في قياس FSH في التجربة السابقة .

أ_خطوات طريقة العمل

1–التخفيف : يتم تخفيف المحاليل حسب الجدول ادناه:

المحاليل القياسية	التحضير
LH Control	تم تحضيره بإضافة 3 مل^3 من الماء المقطر و يترك لمدة 10_5 دقائق
LH Calibrator	تم تحضيره بإضافة 2ملم^3 من الماء المقطر و يترك لمدة 10_5 دقائق
LH diluent	جاهز للاستعمال

الخطوات (2,3,4) مشابهة لما ورد في فحص هرمون FSH

3. 2. 2. 4: الفحص الجزيئي

3. 2. 2. 4. 1 : فحص تفاعل سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي)

Quantitative Reverse Transcription Real-Time PCR (RT-qPCR)

تم اجراء فحص تفاعل سلسلة البلمرة في الوقت الحقيقي الكمي (الاستنساخ العكسي) ، وذلك لقياس المستويات الكمية الحمض النووي المرسل (mRNA transcript levels) لدلالة على مقدار التعبير الجيني Gene expression لجين (TRAF2 and NR5A gene) وكذلك تم استخدام جين ال (GAPDH) كجين منظم قياسي لحساب التعبير الجيني.

اولاً : استخلاص الاحماض النووية الكلي Total RNA extraction

تم استخلاص الحمض النووي Total RNA وذلك باستخدام عدة ال Trizol kit المجهز من قبل شركة بايونير الكورية ولقد تم العمل بهذا العدة حسب تعليمات الشركة المصنعة كما في الخطوات التالية:

تم اخذ 250 مايكرو ليتر من نماذج الدم ووضعت في انابيب قياس 1,5 مل ثم أضيف اليها 1 مل من محلول ال Trizol ومزجت جيدة لمدة دقيقتين.

وتم أضافة 200 مايكرو ليتر من كحول الكلوروفوم chloroform لكل عينه من العينات و رجت لمدة 15 دقيقه بواسطه vortex .

حفظ الخليط في الثلج لمدة 10 دقيقه.

ثم وضع العينات في جهاز الطرد المركزي لمدة 10 دقيقه بسرعه 12000دورهادقيقه.

سحب الرائق و وضع في أنابيب ابندورف جديدة و أضّيف اليه كميه متساوية من كحول الآيزوبروبونال isoprobanol al cohool و رُجت الانابيب باليد بهدوء 4 –5 مرات.

حفظت العينات بدرجة حراره –20مْ لمدة 10 دقيقه .

و ضُعت العينات في جهاز الطرد المركزي12000 دورهادقيقه لمدة 10 دقيقه بعدها تم التخلص من الطافي وتُرك المترسب pellet.

تم اضافة 1 مل من كحول الإيثانولethanol alcohol بتركيز 80% للراسب و مزج بواسطة جهاز vortex بعدها وضع الخليط بجهاز الطرد المركزي بسرعه 12000دورهادقيقه لمدة 5 دقيقه وتم التخلص من الطافي و أخذ المترسب pellet.

تم تجفيف المترسب بتركه بدرجه حراره الغرفة ولمدة 10 دقيقه و تم حفظ عينات الحمض النووي RNA المستخلص في درجه حراره −70 مْ.

ثانياً قياس تركيز ونقاوة الحامض النووي Total RNAAssessing RNA yield and quality

تم الكشف عن تركيز الحمض النووي ng\µl RNA المستخلص وذلك من خلال استخدام جهاز خاص Nanodrop spectrophotometer و ثم قياس نقاوة الحمض النووي RNA من خلال قراءة الامتصاصية بدرجة (260/280 nm) على النحو التالي :

يعد تشغيل جهاز Nanodrop تم اختيار برنامج قياس الحمض النووي نوع RNA.

تم وضع 2 مايكرو ليتر من(Free nuclease water) باستخدام ميكروبا يبيت معقمة على سطح ركيزة المقياس لغرض تصفير الجهاز بعدها نُظفت الركيزة باستخدام أوراق تنشيف لقياس العينات.

غط على زر ok لبدء عملية قياس تركيز ال RNA اذ تم وضع 1 ميكرو ليتر من كل عينة من ال RNA المستخلص مع ثم تنظيف ركيزة المقياس الجهاز من كل مرة لقياس العينات الاخرى.

حددت نقاوة عينات ال Total RNA المستخلص بقراءة الامتصاصية جهاز Nanodrop Spectrophotometer على طولين موجيين (260/280 nm) حيث أن الحمض النووي RNA المستخلص يعتبر نقي عندما تكون نسبة الامتصاصية هي (1.8).

ثالثاً : المعاملة بأنزيم DNase I Treatment

تم أضافة أنزيم DNase الى جميع عينات الحمض النووي الريب وسومي الكلي RNA Total المستخلصة للتخلص من بقايا الحمض النووي DNA في عملية الاستخلاص و حسب طريقة عمل عدة الانزيم المبين في الجدول ادناه :

جدول (7.3) يبين عدة أنزيم DNase1

Mix	Volume
Total RNA 100ng/ul	10ul
DNase I enzyme	1ul
10X buffer	4ul
DEPC water	5ul
Total	20ul

بعد حضن المزيج في الحاضنة بدرجة حرارة 37مْ لمدة 30 دقيقه، وبعدها أضيف 1 ميكرو ليتر من مادة ال EDTA الى العينات و تم حفضها في الحمام المائي بدرجة حرارة 65 مْ لمدة 10 دقائق وذلك لتثبيط فعل الانزيم.

رابعاً: طريقة تصنيع ال cDNA synthesis

استخدمت طريقة تصنيع الحمض النووي cDNA المكمل لل cDNA من عينات الحمض النووي ال RNA المستخلص باستخدام عده Accupower Rockscript RT Premix kit المجهزة من قبل شركة بايونير الكورية. وتم اجراء هذا العملية حسب طريقة عمل العده كاما في الجدول الاتي:

جدول **(8.3)** تحضير تفاعل للأستنساخ العكسي لتحويل الـ**RNA** الى **cDNA**

RT master mix	Volume
Total RNA 100ng/ul	10ul
Random Hexamer primer 10pmol	1ul
DEPC water	9ul
Total	20ul

أضّيفت مكونات مزيج RT master mix التي ذكرت في الجدول أعلاه الى أنابيب عدة cDNA synthesis والحاوية على انزيم الاستنساخ العكسي Reverse transcription ومن ثم وضعت جميع الانابيب في جهز الطرد المركزي المازج vortex centrifuge (Exispin) بسرعة 3000rpm لمدة ثلاثة دقائق. بعد ذلك تم نقل الانابيب الى جهاز الدوار الحراري Thermocycler (Mygene. Korea) وتم تطبيق الظروف الحرارية لعملية تصنيع ال cDNA حسب طريقة عمل العدة كما في الجدول التالي

جدول **(9.3)** الظروف الحرارية لتصنيع الـ **cDNA**

Step	Temperature	Time
cDNA synthesis (RT step)	50 °C	1 hour
Heat inactivation	95 °C	5 minutes

بعد ذلك نقلت العينات الحفظ بدرجة −20 م لحين استخدامها في فحص Real-time PCR .

خامساً : فحص Quantitative Real-Time PCR (qPCR)

تم اجراء فحص ال qPCR لعينات ال cDNA لعينات المدروسة استخدام عدة Accupower 2x Green Star qPCR kit المجهزة من قبل شركة بايونير الكورية، لأجراء هذا الفحص والحاوي على صبغة السايبر الخضراء والتي تتفاعل مع الجينات المتضخمة في جهاز ال Real-Time PCR كما يأتي

أ)− تحضير مزيج تفاعل qPCR لجينات الهدف (TRAF2 and NR5A gene)

qPCR PreMix		Volume
cDNA template		2.5µL
Primers (10pmol)	Target gene –F	1.25 µL
	Target gene –R	1.25 µL
2x green star master mix		25 µL
DEPC water		20 µL
Total		50 µL

ب)− تحضير مزيج تفاعل qPCR جين المحافظ القياسي GAPDH genes

qRT-PCR Master Mix		Volume
cDNA template		2.5µL
Primers	GAPDH-F	1.25 µL
	GAPDH-R	1.25 µL
2x green star master mix		25 µL
DEPC water		20 µL
Total		50 µL

بعد ذلك تم اضافة المكونات المذكورة في الجداول أعلاه الى أنابيب qPCRالخاصة. ومن ثم وضعت جميع الانابيب في جهز الطرد المركزي المازج (Exispin) vortex centrifuge بسرعة 3000rpm لمدة ثلاثة دقائق. وبعدها نقلت صفيحة الى جهاز . (Miniopticon Real-Time PCR BioRad.USA) وتم تطبيق الظروف الحرارية qPCR Thermocycler conditions لكل الجينات حسب طريقة عمل العدة كما في الجدول الاتي:

جدول (10.3) الظروف الحرارية لـ qPCR

Step qPCR	Temp.	Time	Cycle
Pre-Denaturation	95 °C	3 min	1
Denaturation	95 °C	20 sec	45
Annealing/Extension	60 °C	30 sec	
Detection(Scan)			
Melting	-60-95°C	0.5 sec	1

سادسا : طريقة تحليل بيانات Real-Time PCR data analysis

استخدمت طريقة $2^{-\Delta\Delta C}t$ (The ΔCT Method Using a reference gene) والتي وضعت من قبل .(Livak and Schmittgen, 2001) لتحليل البيانات الناتجة من تفاعل السلسلة المتبلمر في الوقت الحقيقي الكمي ،في هذه الطريقة يتم استخراج الكمية النسبية.

والتي تعتمد على استخراج الكمية النسبية Relative Quantitive بعد تصحيحها بطريقة بحيث تصبح ذات معنى بايولوجي . لأحتساب نسبة التعبير الجيني (التغيير ألتضاعفي fold change) في الجينات المستهدفة في الدراسة الحالية *TRAF2* و*NR5A* يستخدم الجين المحافظ *GapdH* كجين تصحيح.

ولهذا صححت قيم عدد دورات العتبة (Ct) threshold cycle number للجين المستهدفة مع قيم Ct للجين المحافظ عن طريق مستويات نسب التعبير الجيني الكمي (التغير التضاعفي)، بطريقة ليڤاك تُعد أحدى عينات الدراسة كمعيار calibrator كمجموعة السيطرة Control samples ، وعليه كل قيم الجين المستهدف Ct values المصححة يتم تقسيمها قيم الجين المستهدف Ct values المصححة مع العينة القياسية (المعيارية) calibrator ،لأستخراج مستويات التعبير النسبي (التغيير التضاعفي) ،بعد ذلك أستخدمت طريقة دلتا دورات العتبة **ΔCT Method** مع جين التصحيح **Reference Gene** كما في الخطوات الاتية:-

صححت قيمة **Ct** للجين المحافظ (التصحيح) **reference gen(ref)** من كل من الجين المستهدف لعينة المعايرة والجين المستهدف لعينة الدراسة كما في المعادلتين الآتيتين:-

$$\Delta Ct\ (test) = Ct\ (target, test) - Ct\ (ref, test)$$

$$\Delta Ct\ (calibrator) = Ct\ (target, calibrator) - Ct\ (ref, test)$$

صححت قيمة **ΔCt** للجين المستهدف لعينة الدراسة من قيمة **ΔCt** للجين المستهدف لعينة القياس كما في المعادلة الآتية:-

$$\Delta\Delta Ct = \Delta Ct\ (test) - \Delta Ct\ (calibrator)$$

يحسب نسبة التغيير التضاعفي لمستويات التعبير الجيني حسب المعادلة الآتية:-

$$Fold\ change = 2^{-\Delta\Delta Ct}$$

3.2.3 : التحليل الاحصائي

أخضعت جميع نتائج الدراسة لحالية لمجموعة من الاختبارات الاحصائية وباستخدام البرنامج الاحصائي Graph Prism 7 لمعرفة الفروقات المعنوية للمعايير التي اشتملتها الدراسة الحالية فقط استخدم اختبار تي unpaired t-test لمعرفة الفروق المعنوية بين مجموعتي السيطرة ، و مجموعة المصابات بـ PCOS للمعايير الكيموحيوية والهرمونية والجينية في حين تم استخدام تحليل التباين في اتجاه واحد ANOVA واختبار Tukey's multiple comparisons test وبمستوى احتمالية 0.05 للمقارنة بين مجاميع الدم المختلفة للمصابات بـ PCOS ام احتساب النسب المئوية لجميع المؤشرات السريرية كان باستخدام لمجموعتي السيطرة والمصابات بأستخدام مربع كاي Chi-square ومعرفة معنوية الفروق بين مجاميع الدم باستخدام . كما تم احتساب معامل الارتباط R Correlation Coefficient لمعرفة العلاقات الخطية بين مستويات الجينات المدروسة ومؤشري التأكسدي والمعايير الهرمونية و التي اشتملت عليها الدراسة فقد استخدم الانحدار الخطي Liner Regression.

4 . النتائج

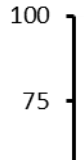
4 .1 . نسبة الاصابة بمرض التكيس المبايض بين مجاميع الدم ABO

اظهرت نتائج الدراسة الحالية جدول (1.4) و شكل (1.4) أن النسبة المئوية للإصابة بمرض التكيس المبايض المتعدد للعينات التي تضمنتها الدراسة الحالية كانت اكثر كل من فصلتي O وB بالمقارنة مع فصيلتي A و AB

جدول (1.4) يبين النسب المئوية لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

العدد الكلي للعينات (PCOS)	النسبة الكلية	ABO groups (PCOS)	العدد الكلي	النسبة %
(57)	%100	**Group A**	8	14.04a
		Group B	21	36.842b
		Group O	21	36.842b
		Group AB	7	12.3c
قيمة مربع كاي chi-square		18.51		

الحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي p<0.05 بين المجاميع والحروف المختلفة تشير المختلفة تشير الى عدم وجود فرق معنوي p>0.05 بين المجاميع



شكل (1.4) النسب المئوية لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

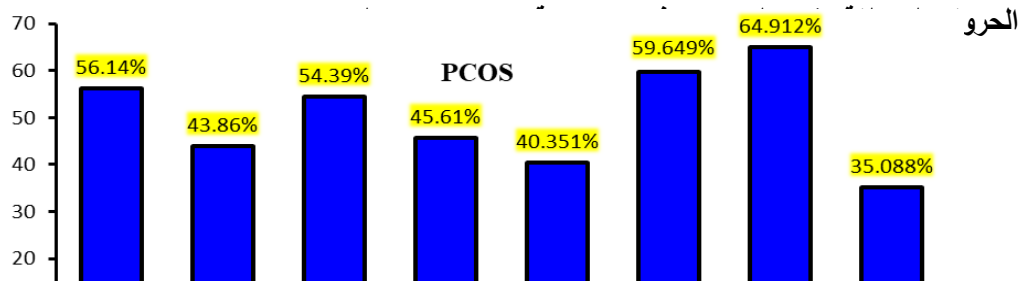
2.4. دراسة ظهور العلامات السريرية

1.2.4. النسب المئوية لظهور العلامات السريرية بين المصابات بـ PCOS

بينت نتائج النسب المئوية لظهور العلامات السريرية (الشعرانية Hirustim وحب الشباب Acne وعدم الخصوبة Infertility وعد انتظام الطمث irregular menstral) لدى النساء المصابات بـ PCOS الموضحة في جدول (2.4) وشكل (2.4) ان النسبة المئوية لظهور الشعرانية كانت 56.14% من بين النساء المصابات ، في حين بلغت نسبة ظهور حب الشباب 54.39% من نسبة الاصابة الكلية ، وكانت نسبة النساء المصابات بـ PCOS غير الخصبات 40.351% في حين بلغت نسبة النساء المصابات بـ PCOS اللواتي يعانين من عدم انتظام الطمث 64.912 من النسبة الكلية للعينات التي اشتملت عليها الدراسة الحالية (جدول 2.4 و شكل 2.4)

جدول (2.4) النسب المئوية لظهور العلامات السريرية للنساء المصابات بـ PCOS

العدد الكلي للعينات (PCOS)	النسبة الكلية	العلامات السريرية	العدد	النسبة %	العلامات السريرية	العدد	النسبة %	قيمة مربع كاي Chi square
(57)	%100	Hirustim	32	56.14a	Without Hirustim	25	43.86b	26.78
(57)	%100	Acne	31	54.39a	Without Acne	26	45.61b	18.49
(57)	%100	Infertility	23	40.351a	fertility	54	59.649b	7.996
(57)	%100	irregular menstrual	37	64.912a	regular menstrual	40	35.088b	19.69



شكل (2.4) النسب المئوية لظهور العلامات السريرية للنساء المصابات PCOS

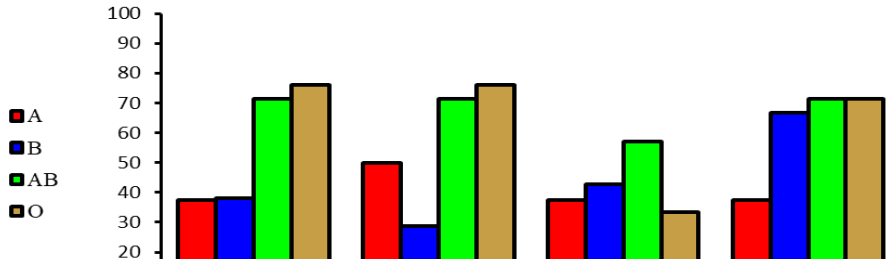
2.2.4.النسب المئوية لظهور العلامات السريرية بين المصابات بـ PCOS لفصائل الدم (ABO)

سجلت نتائج التحليل الاحصائي لظهور العلامات السريرية (الشعرانية Hirustim وحب الشباب Acne وعدم الخصوبة Infertility وعد انتظام الطمث irregular menstral) لفصائل الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS (جدول 4.3 وشكل 3.4) اختلافا معنويا في نسب ظهور العلامات السريرية ، اذ كانت نسب ظهور الشعرانية، وحب الشباب ، وعدم انتظام الطمث في فصيلتي AB و O اكثر من فصيلتي A و B لعينات النساء المصابات بـ PCOS قيد الدراسة لان زيادة في نسبة المئوية لعدم انتظام الدورة في كل من فصلية AB , O في حين كانت النسبة المئوية منخفضة لأنعدام الخصوبة في مجموعة AB مقارنة بالفصائل الأخرى للعينات التي اشتملت عليها الدراسة الحالية.

جدول (3.4) يبين النسب المئوية لظهور العلامات السريرية بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

irregular menstral		infertility		acne		hirustim		العدد الكلي	(PCOS) ABO groups
النسبة %	العدد	النسبة %	العدد	النسبة %	العدد	النسبة %	العدد		
37.5a	3	37.5a	3	50a	4	37.5a	3	8	**Group A**
66.7b	14	42.9b	9	28.6b	6	38.09b	8	21	**Group B**
71.42c	15	33.3c	7	76.19c	16	76.19c	16	21	**Group O**
71.43c	5	57. 43d	4	71.43d	5	71.49d	5	7	**Group AB**
179.7		128.6		169.5		164.9		قيمة مربع كاي	

الحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي $p<0.05$ والحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق معنوي $p>0.05$



شكل (3.4) النسب المئوية لظهور العلامات السريرية بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

3.4. دراسة مؤشر كتلة الجسم (BMI)

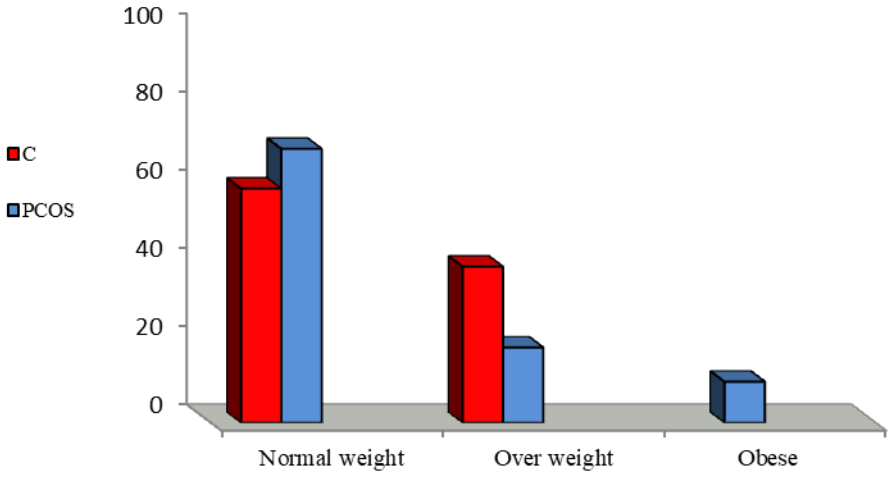
1.3.4.النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم للنساء المصابات بـ PCOS مقارنة مجموعة السيطرة

يوضح الجدول (4.4) والشكل (4.4) نتائج النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم لجميع العينات المدروسة اذ اشتملت النتائج على الاصناف الثلاثة لمؤشر كتلة الجسم وهي الوزن الطبيعي normal weight الذي تتراوح قيمة BMI بين 19-24.9 والفئة الثانية فوق الوزن الطبيعي overweight الذي تتراوح قيمة BMI بين 25-29.9 والفئة الثالثة للسمنة obese الذي تبلغ قيمة BMI +(شكل (3.4) **يبين النسب المئوية لظهور العلامات السريرية بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات** كتلة الجسم لجميع عينات الدراسة للمجموعتين السيطرة والنساء المصابات بـ PCOS ، اذ بلغت نسبة النساء ذات الوزن الطبيعي في مجموعة السيطرة حوالي 60% وذات الوزن فوق الطبيعي نسبة 40% من عينات السيطرة التي اشتملت عليها الدراسة في حين كانت نسبة النساء المصابات بـ PCOS ذات الوزن الطبيعي وفوق الطبيعي حوالي 70.18% و 19.298% على التوالي في حين بلغت نسبة البدينات من النساء المصابات بـ PCOS حوالي% 10.528 (جدول 4.4 و شكل 4.4).

جدول (4.4) يبين النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم (BMI) للنساء المصابات بـ PCOS

المجاميع	العدد الكلي	Normal weight BMI= 19-24.9		over weight BMI=25-29.9		Obese BMI=30+	
		العدد	النسبة %	العدد	النسبة %	العدد	النسبة %
C	30	18	60	12	40		
PCOS	57	40	70.18	11	19.298	6	10.528
P value		0.0336*		0.0446*			

*** تشير الى وجود فرق معنوي على مستوى P<0.05**



شكل (4.4) يبين النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم (BMI) للنساء المصابات بـ PCOS

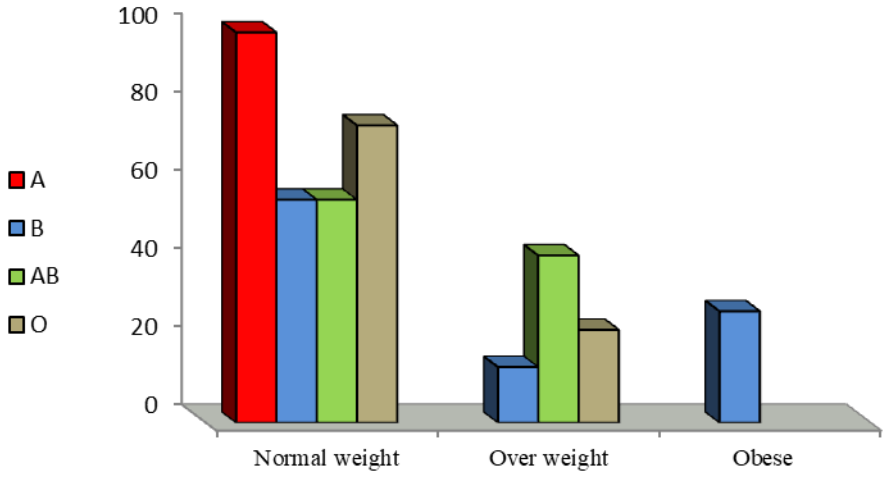
2.3.4. النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم بين المصابات بـ PCOS لفصائل الدم (ABO)

بينت نتائج نسب مؤشر كتلة الجسم لفصائل الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS الموضحة في جدول (5.4) و شكل (5.4) ، الى أن جميع عينات النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة A كن من ذوات الوزن الطبيعي ، في حين اشتملت عينات النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة B على الفئات التصنيفية الثلاثة لمؤشر كتلة الجسم ، اذ بلغت نسب النساء البدينات حوالي 28.57% في حين اشتملت عينات النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة AB و O على فئتين فقط وهما ذوات الوزن الطبيعي ، وفوق الطبيعي ، اذ بلغت نسبة النساء ذوات الوزن فوق الطبيعي حوالي 42.857% و 23.809% لمجموعتي AB و O على التوالي (جدول 5.4 وشكل 5.4)

جدول (5.4) يبين النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

(PCOS) ABO groups	العدد الكلي	Normal weight BMI= 19-24.9		over weight BMI=25-29.9		Obese class II BMI=30+	
		العدد	النسبة %	العدد	النسبة %	العدد	النسبة %
group A	8	8	100a				
group B	21	12	57.143b	3	14.286a	6	28.57
group AB	7	4	57.143b	3	42.857b		
group O	21	15	76.19c	5	23.809c		
قيمة مربع كاي		218.9		60.84			

الحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي p<0.05 بين المجاميع والحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق معنوي بين المجاميع p>0.05



شكل (5.4) يبين النسب المئوية لمؤشر كتلة الجسم بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

4.4. الفحوصات الكيموحيوية

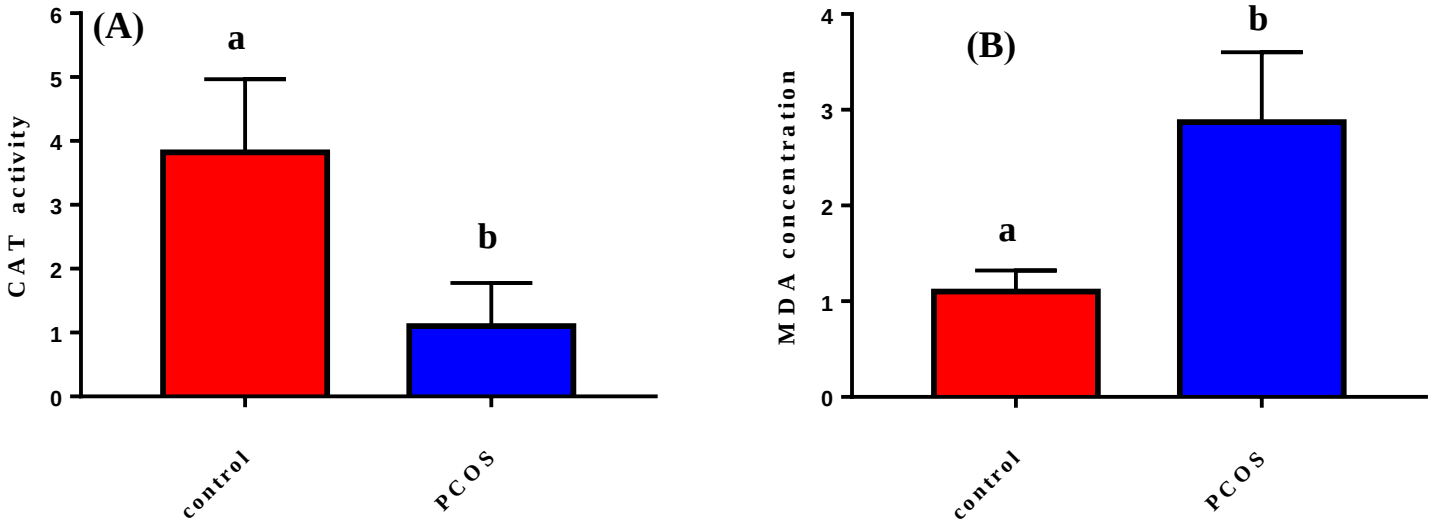
1.4.4. قياس مستوى فعالية انزيم الكاتليز CAT (u\ml) و مستوى بيروكسيد الدهن في الدم (المالوندايالديهايد MDA) µmole\L في النساء المصابات PCOS بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لمستوى فعالية انزيم الكاتليز (جدول 6.4 و شكل 6.4A) انخفاضاً معنوياً P<0.0001 في مستوى فعالية انزيم الكاتليز في النساء المصابات ب PCOS بالمقارنة مع النساء في مجموعة السيطرة . في حين لوحظ ارتفاعاً معنوياً P<0.0001 في مستوى المالوندايالديهايد في النساء المصابات ب PCOS بالمقارنة مع النساء في مجموعة السيطرة (جدول 6.4 و شكل 6.4B).

جدول (6.4) مستوى فعالية انزيم CAT (u\ml) و مستوى تركيزMDA (µmole/L) في النساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة

مؤشرات الاجهاد التأكسدي	المجاميع	mean ±SD	قيمة t (t-test)
CAT activity (u\ml)	C	3.823 ± 0.3622 a	8.224
	PCOS	1.228 ± 0.1508 b	
MDA concen (µmole /L)	C	1.102 ± 0.06898 a	7.436
	PCOS	2.671 ± 0.1634 b	

تمثل القيم (mean ±SD) المعدلات ±الخطأ القياسي . والحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي p<0.05 بين مجموعتي السيطرة والنساء المصابات بـ PCOS وقيم اختبار t



شكل (6.4) يبين مستوى فعالية انزيم CAT (A) و تركيز MDA (B) في مصل الدم النساء المصابات مقارنة مع مجموعة السيطرة.

Control تمثل مجموعة السيطرة و pcos تمثل المصابات و الحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي P<0.05.

2.44. قياس مستوى فعالية انزيم الكاتليز CAT (u\ml) و مستوى بيروكسيد الدهن (المالوندايالديهايد MDA) µmole \L في المصل بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS.

سجلت نتائج قياس مستوى فعالية انزيم CAT (جدول 7.4 و شكل (7.4A) انخفاضاً معنوياً (P<0.05) في فعالية انزيم CAT لمجاميع الدم A وB وO مقارنة بمجموعة AB ، و كان هذا

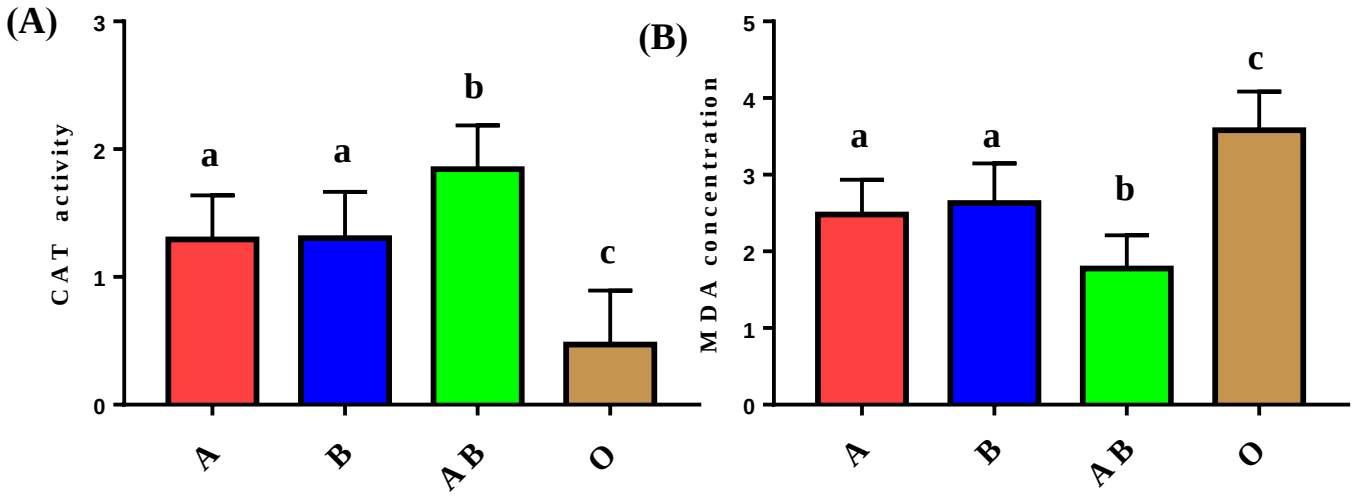
الانخفاض اكثر وضوحا في مجموعة الدم O (P<0.05) مقارنة بالمجاميع الاخرى في حين لم تسجل اي فروق معنوية بين فصيلتي A و B(P>0.05).

و فيما يخص مستوى تركيز **MDA** في الدم فقد كان هناك زيادة معنوية (P<0.05) في المستوى الكلي لـ MDA لمجاميع الدم A و B و O ، مقارنة بمجموعة AB وكان الزيادة اكثر معنوية في مجموعة الدم O (P<0.05) ، مقارنة بالمجاميع الاخرى بينما لم تسجل نتائج التحليل الاحصائي اي فروق معنوية بين فصيلتي A و B(P>0.05).

جدول (7.4) مستوى فعالية انزيم CAT (u\ml) و مستوى تركيزMDA (µmole \L) بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

Mean ± SD		ABO groups (PCOS)
MDA concen (µmole /L)	**CAT activity (u\ml)**	
2.482 ± 0.1503 a	1.293 ± 0.114 a	A group
2.632 ± 0.17103 a	1.304 ± 0.1199 a	B group
1.779 ±0.143 b	1.845 ± 0.1131 b	AB group
3.579 ±0.1677 c	0.4723 ± 0.1399 c	O group

تمثل القيم (Mean ± SD) المعدلات ± الخطأ القياسي والحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي (p<0.05) في حين تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فرق معنوي (p>0.05)



شكل (7.4) يبين مستوى فعالية انزيم CAT (A) و تركيز MDA (B) في مصل الدم بين مجاميع ABO للنساء المصابات بـ PCOS . الحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي P<0. 05 في حين تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فرق معنوي P>0.05.

5.4. التغيرات الهرمونية

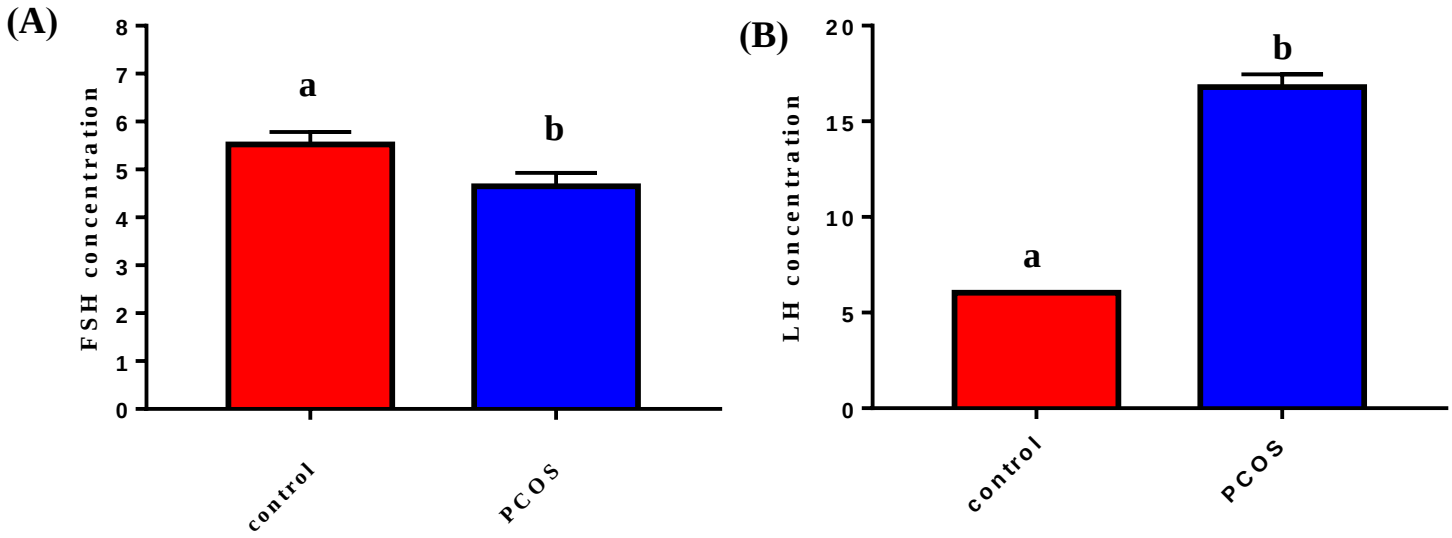
1.5.4. قياس مستوى الهرمون المحفز للجريب FSH(ng/L) و الهرمون اللوتيني وLH(ng/L) في مصل دم النساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة .

أظهرت نتائج التحليل الاحصائي لمستويات هرموني FSH وLH (جدول 8.4 وشكل 8.4) انخفاضاً معنوياً (P<0.05) في مستوى هرمون FSH في النساء المصابات بـ PCOS ، بالمقارنة مع النساء في مجموعة السيطرة (شكل A). في حين لوحظ ارتفاعاً معنوياً P<0.05 في مستوى هرمون LH في النساء المصابات بـ PCOS بالمقارنة مع النساء في مجموعة السيطرة (B).

جدول (8.4) التركيز الكلي لمستويات هرموني FSH (ng/L) و LH(ng/L) في النساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة

مستوى الهرمون	المجاميع	mean ±SD	قيمة t (t-test)
FSH concen. (ng/L)	C	5.52 ± 0.08406a	8.171
	PCOS	4.651 ± 0.06141b	
LH concen (ng/L)	C	6.049 ± 0.008622a	7.436
	PCOS	16.79 ± 0.1471b	

تمثل القيم (mean ±SD) المعدلات ±الخطأ القياسي . والحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي p<0.05 بين مجموعتي السيطرة والنساء المصابات بـ PCOS وقيم اختبار *t* .



شكل (8.4) التركيز الكلي لمستويات هرموني FSH (A) و LH (B) في النساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة .

Control تمثل مجموعة السيطرة و pcos تمثل المصابات والحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي P<0.05.

2.5.4.قياس مستوى الهرمون المحفز للجريب FSH (ng/L) و الهرمون اللوتيني وLH (ng/L)في المصل بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS.

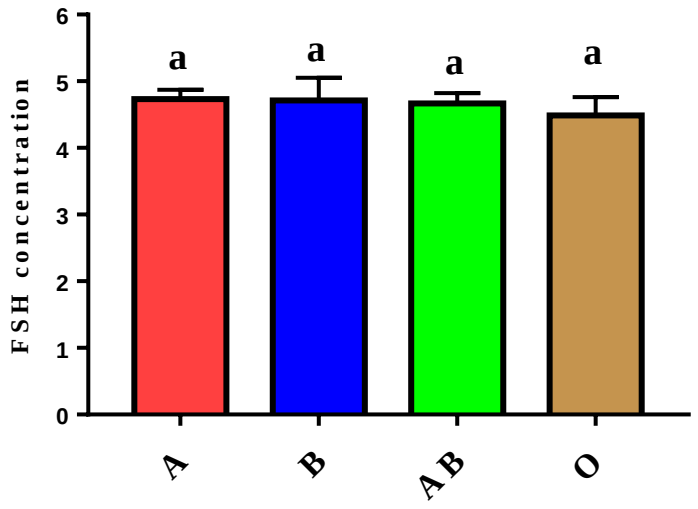
لم تسجل نتائج قياس المستوى الكلي لهرمون FSH في المصل (جدول 9.4 و شكل 9.4A) أي فروق معنوية (P>0.05) في مستوى هرمون FSH بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS . في حين أظهرت نتائج قياس مستوى التركيز الكلي لهرمون LH (جدول 9.4 وشكل 9.4B) اختلافا معنويا (P<0.05) لتركيز LH في مجموعة النساء المصابات بـ PCOS ، من مجموعة AB مقارنة بمجموعة A من جانب آخر فقد اظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) في مستوى LHللنساء المصابات بـ PCOS ، ما بين مجاميع الدم A وB وO ،اضافة الى عدم وجود فروق معنوية (P>0.05) ما بين مجاميع الدم B وAB وO .

جدول (9.4) التركيز الكلي لمستويات هرموني FSH (ng/L) و LH(ng/L) بين مجاميع الدم ABO في النساء المصابات بـ PCOS .

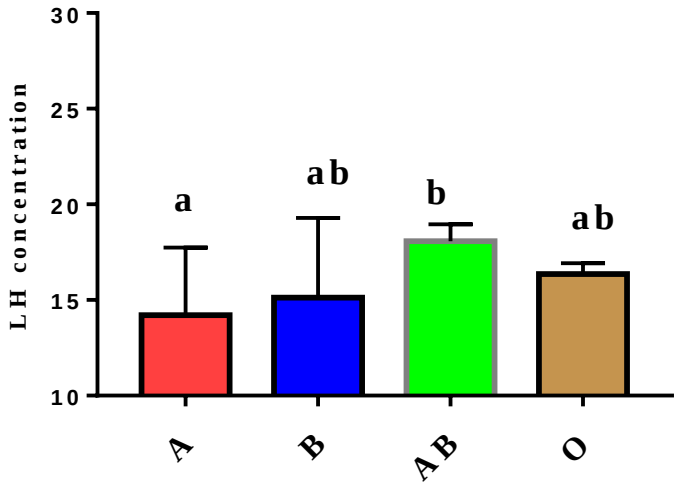
Mean ± SD		ABO groups (PCOS)
LH concen (ng/L)	FSH concen. (ng/L)	
14.201 ± 1.1125 a	4.733 ± 0.0464 a	A group
15.121 ± 1.3107ab	4.711±0.084 a	B group
18.082± 0.27653b	4.667 ± 0.0525 a	AB group
16.363 ± 0.1767 ab	4.489 ± 0.0823 a	O group

تمثل (Mean ± SD) القيم المعدلات ± الخطأ القياسي والحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي (p<0.05) في حين تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فرق معنوي (p>0.05)

(A)



(B)



شكل (9.4) التركيز الكلي لمستويات هرموني FSH (ng/L) (A) و LH(ng/L) (B) في مصل الدم بين مجاميع ABO للنساء المصابات بـ PCOS . الحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي P<0. 05 في حين تشير الحروف المتشابهة الى عدم وجود فرق معنوي P>0.05.

64. الفحص الجزيئي

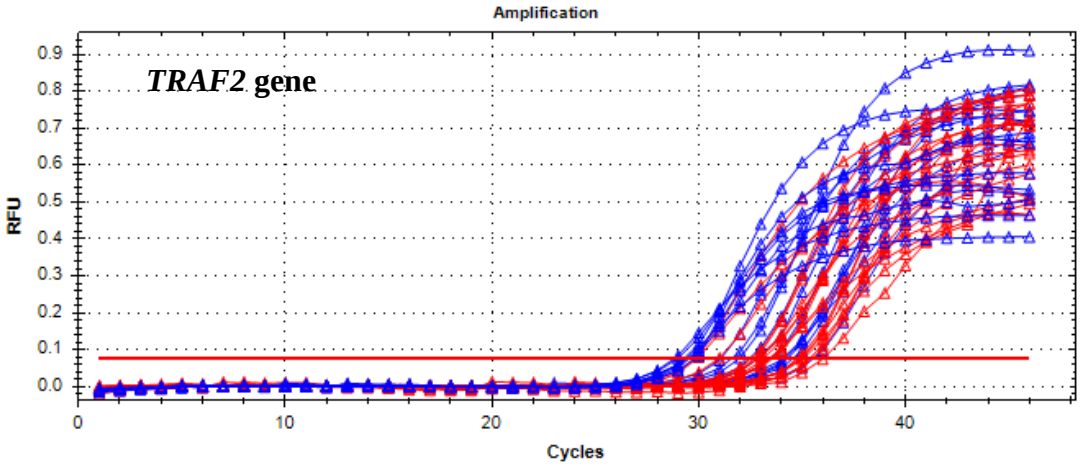
1.6.4. تقدير مستوى التعبير الجيني في فحص تفاعل سلسلة البلمرة لجيني TRAF2 وNR5A (ng/µL) للنساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة

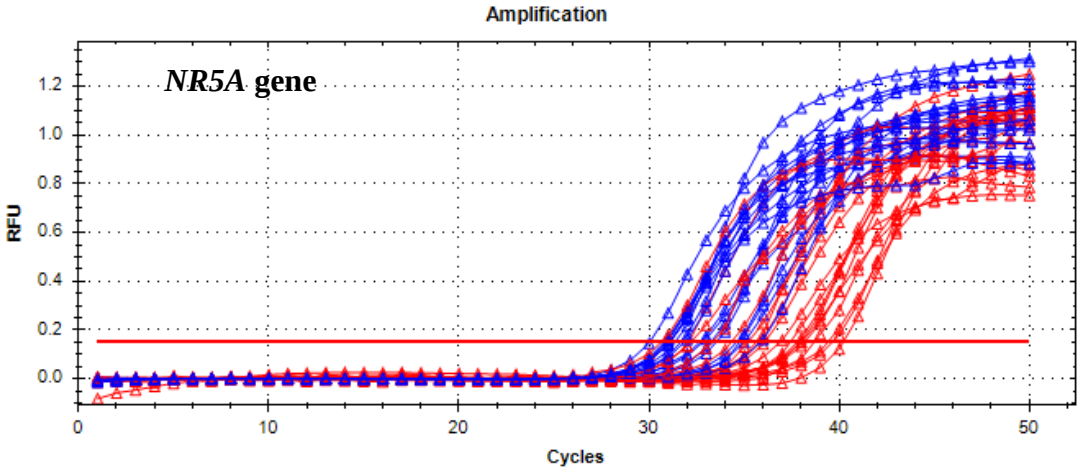
اظهرت نتائج فحص تفاعل سلسلة البلمرة المبين في منحنيات التغيير التضاعفي (شكل 10.4) ونتائج التحليل الاحصائي المبينة في جدول (10.4) والشكل (11.4) ارتفاعاً معنوياً $p<0.002$ و $p<0.0002$ في مستوى تعبير جيني TRAF2 و NR5A ، على التوالي لدى النساء بمتلازمة تكيس المبايض المتعدد بالمقارنة مع مجموعة السيطرة

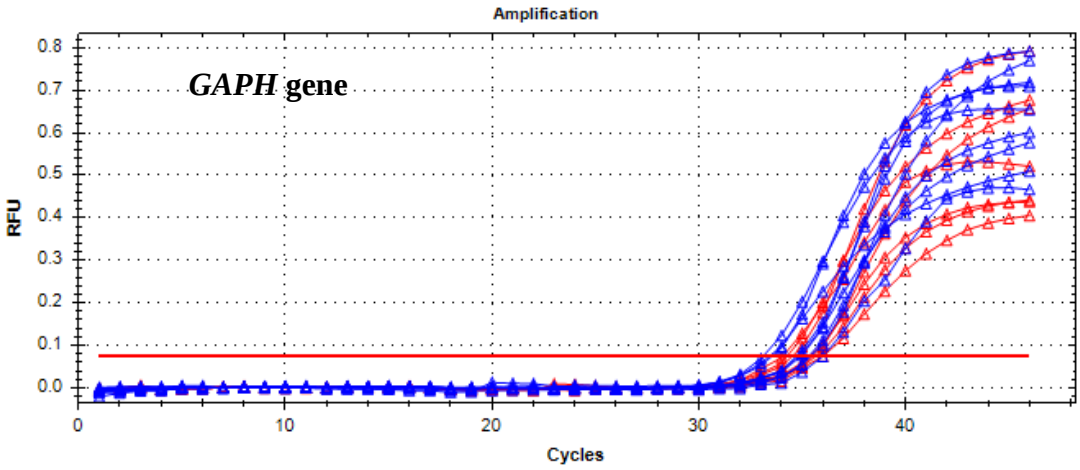
جدول (10.4) مستوى التعبير الجيني في فحص تفاعل سلسلة البلمرة لجيني NR5A, TRAF2 (ng/µL)) للنساء المصابات بـ PCOS مقارنة مع مجموعة السيطرة

الجين	المجاميع	Mean±SD	قيمة t (t-test)
***TRAF2* expression (ng/µL)**	C	1.018 ± 0.2091a	3.391
	PCOS	6.113 ± 1.048b	
***NR 5A* expression (ng/µL)**	C	0.923 ± 0.2525a	4.221
	PCOS	4.125 ± 0.5173b	

تمثل القيم (Mean±SD)المعدلات ±الخطأ القياسي . والحروف المختلفة تدل على وجود فرق معنوي $p<0.05$ لجيني *TRAF2* و*NR5A* بين مجموعتي السيطرة والنساء المصابات بـ PCOS وقيم اختبار *t* .



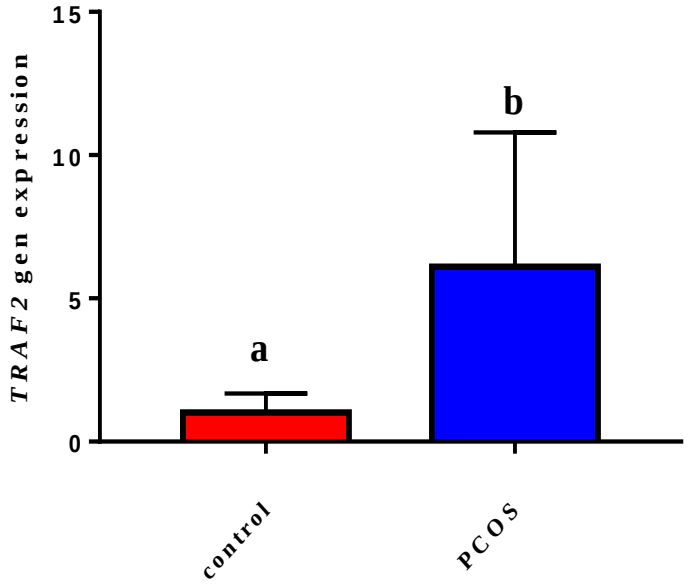




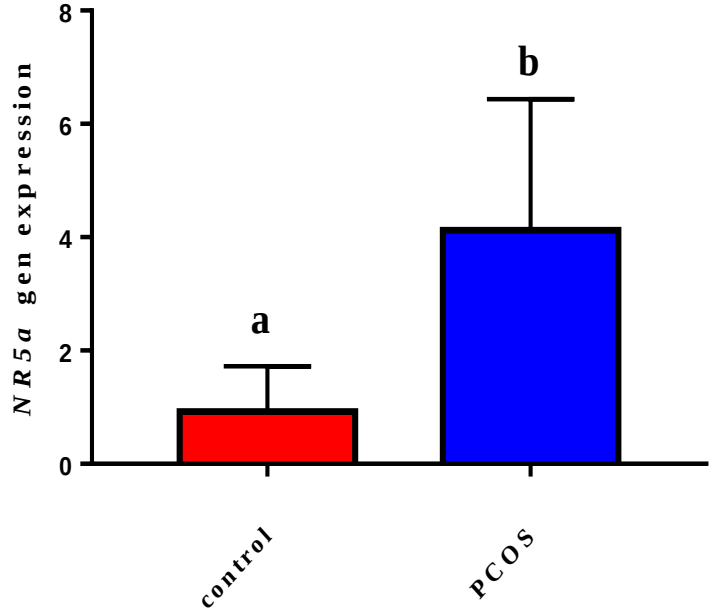
المصابات بـ PCOS ▲ مجموعة السيطرة ▲

شكل (10.4) منحنيات التغير التضاعفي لكمية التعبير الجيني في فحص تفاعل سلسلة البلمرة لجينات (*TRAF2* و*NR5A* و*GAPH*) للنساء المصابات بـ pcos مقارنة بمجموعة السيطرة

(A)



(B)



شكل (11.4) مستوى تعبير جيني *TRAF2 (A)* و *NR5A* (B) للنساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة Control تمثل مجموعة السيطرة و pcos تمثل المصابات والحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي P<0.05 لجيني *TRAF2* و*NR5A* على التوالي.

2.6.4. تقدير مستوى التعبير الجيني في فحص تفاعل سلسلة البلمرة لجيني *TRAF2* و*NR5A* (ng/µL) بين مجاميع ABO للنساء المصابات بـ PCOS .

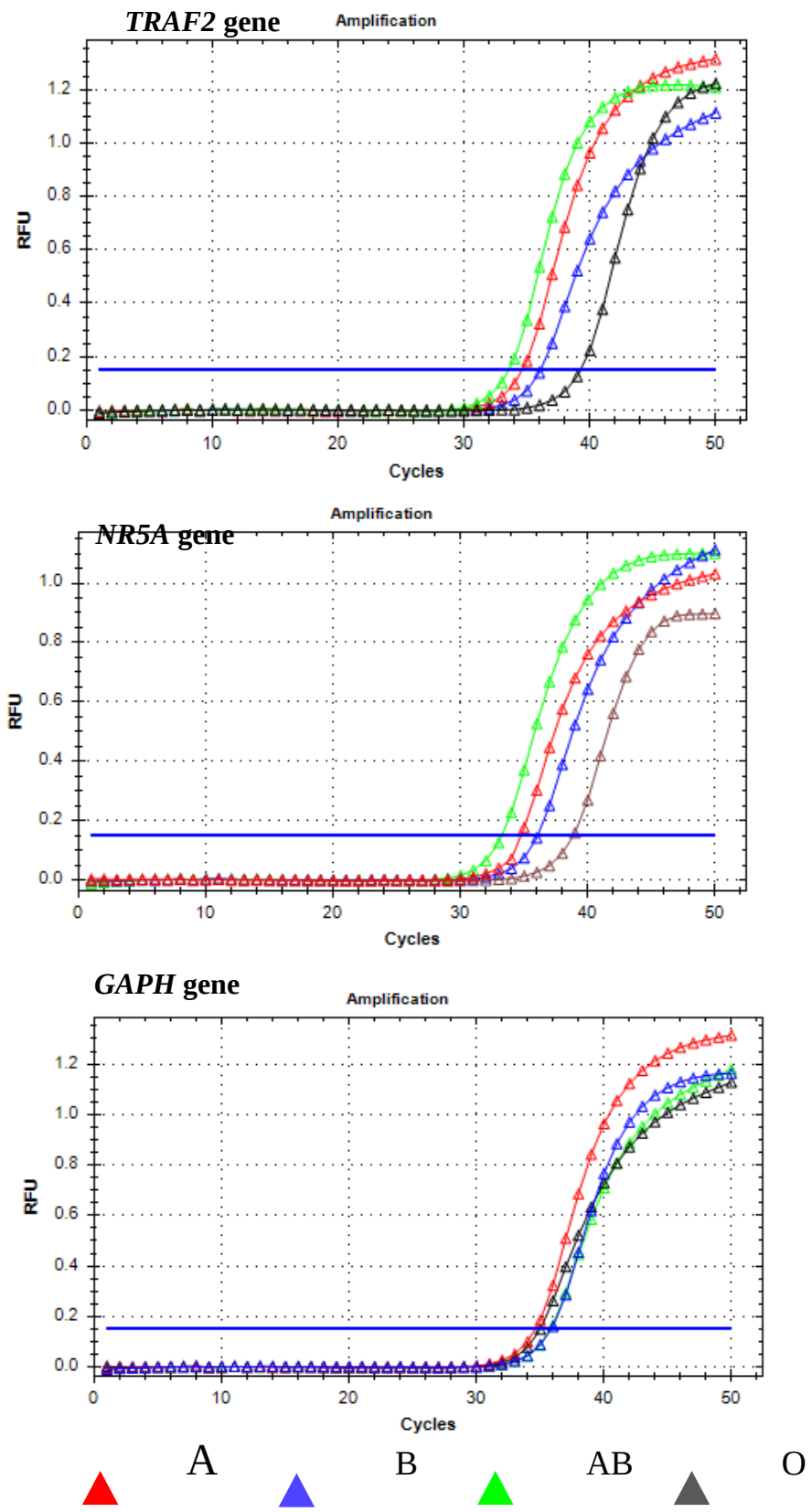
سجلت نتائج التحليل الاحصائي لمستويات التعبير الكمي لجيني *TRAF2* و *NR5A* المبينة في (جدول 11.4 والشكل 13.4)، إضافة الى منحنيات التغيير التضاعفي في تفاعل سلسلة البلمرة (شكل 12.4) ، أن كمية الزيادة المعنوية $p<0.05$ في مستوى تعبير جين TRAF2 كانت اقل في مجموعة النساء المصابات بـ PCOS مقارنة بالمجاميع الاخرى أذ بلغت حوالى (2.991) ضعف مقارنة بمستويات كمية تعبير جين *TRAF2* لمجاميع A وB وO والذي بلغ (6.31 و 6.113 و 7.878) ضعف أما عند المقارنة مع بعضهما البعض فلم تكن هنا فروقات ذات دلائل احصائية معنوية $p>0.05$ (جدول 11.4 والشكل 13.4A).

اما فيما يخص مستوى التعبير الجيني لجين *NR5A* فقد اظهرت النتائج تفوق النساء المصابات بـ PCOS من فصيلة AB معنوياً ($p<0.05$) بكمية التعبير الجيني والذي بلغ حوالي (7.83) ، ضعف مقارنة بالمجاميع الاخرى والتي بلغت كمية التعبير الجيني فيها حوالي (3.028 و 4.291 و 4.168) ضعف للنساء المصابات من مجاميع A وB وO على التوالي ،اما عند المقارنة مع بعضهم البعض فلم تلاحظ اي اختلافات معنوية $p>0.05$ (جدول 11.4 والشكل 13.4B).

جدول (11.4) مستوى التعبير الجيني في فحص تفاعل سلسلة البلمرة لجيني *NR5A*, *TRAF2* (ng/µL)) بين مجاميع الدم للنساء المصابات بـ PCOS .

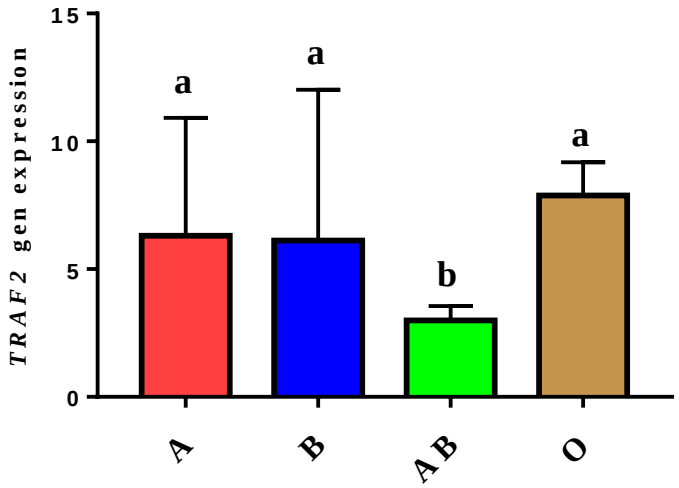
Mean±SD		ABO groups (PCOS)
NR 5A expression (ng/µL)	*TRAF2* expression (ng/µL)	
3.028 ± 0.4487 a	6.31 ±1.525343 a	A group
4.291 ± 0.787 a	6.113 ±1.9545 a	B group
7.837 ± 0.5634 b	2.991 ±0.1856 b	AB group
4.168 ± 0.4127 a	7.878 ±0.4290 a	O group

القيم تمثل المعدلات ±الخطأ القياسي (Mean±SD)،والحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي ($p<0.05$) ،اما الحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق معنوي($p>0.05$)

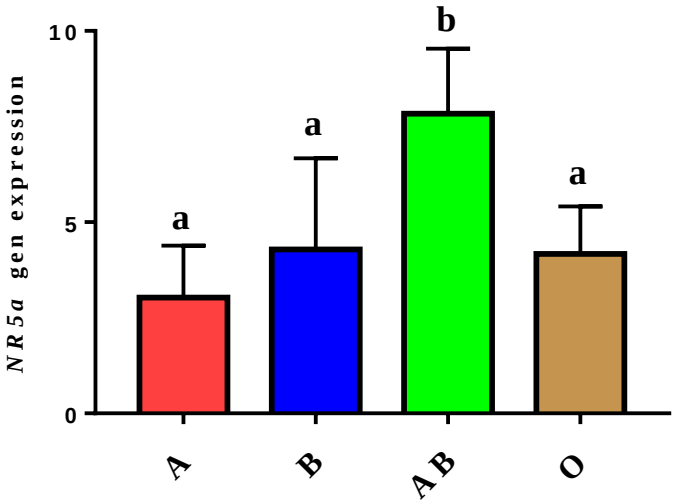


شكل (12.4) منحنيات التغير التضاعفي لكمية التعبير الجيني في فحص تفاعل سلسلة البلمرة لجينات (*TRAF2* و *NR5A* و *GAPH*) بين مجاميع ABO للنساء المصابات بـ pcos

(A)



(B)



شكل (13.4) مستوى تعبير جيني *TRAF2* (A) و *NR5A* (B) بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS

الحروف المختلفة تشير الى وجود فرق معنوي (P<0.05) والحروف المتشابهة تشير الى عدم وجود فرق معنوي (P>0.05).

7.4 . دراسة العلاقة بين مستويات تعبير جيني *TRAF2* و *NR5A* والمؤشرات الكيموحيوية والهرمونية لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـPCOS

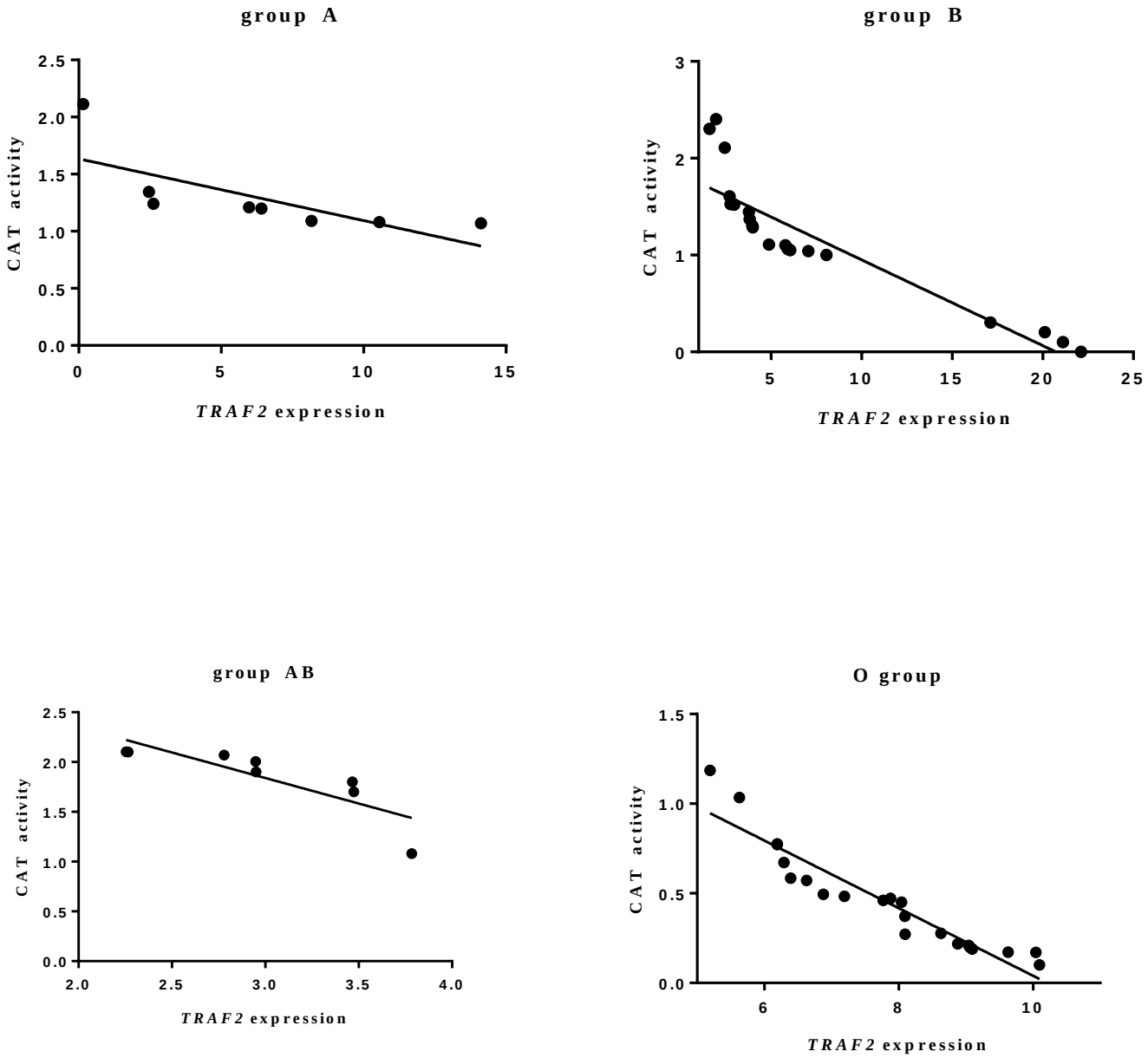
1.7.4 دراسة علاقة مستوى تعبير جين *TRAF2* ومستوى فعالية انزيم الكاتليز CAT ومستوى الـ MDAلمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS .

بينت نتائج التحليل الاحصائي لمعامل الارتباط الدراسة الحالية وجود علاقة معنوية سالبة بين مستوى انزيم الكاتليز و جين *TRAF2* لجميع فصائل الدم (جدول 12.4 وشكل 14.4)،في حين لوحظ علاقة ارتباط معنوية موجبة بين مستويات الـ MDA و الكمية النسبية لتعبير جين *TRAF2* لجميع فصائل الدم من النساء المصابات بـ PCOS (جدول 12.4 وشكل 15.4).

جدول (12.4) معاملات الارتباط بين مستوى تعبير جين *TRAF2* وفعالية انزيم CAT وتركيز الـMDA لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـPCOS.

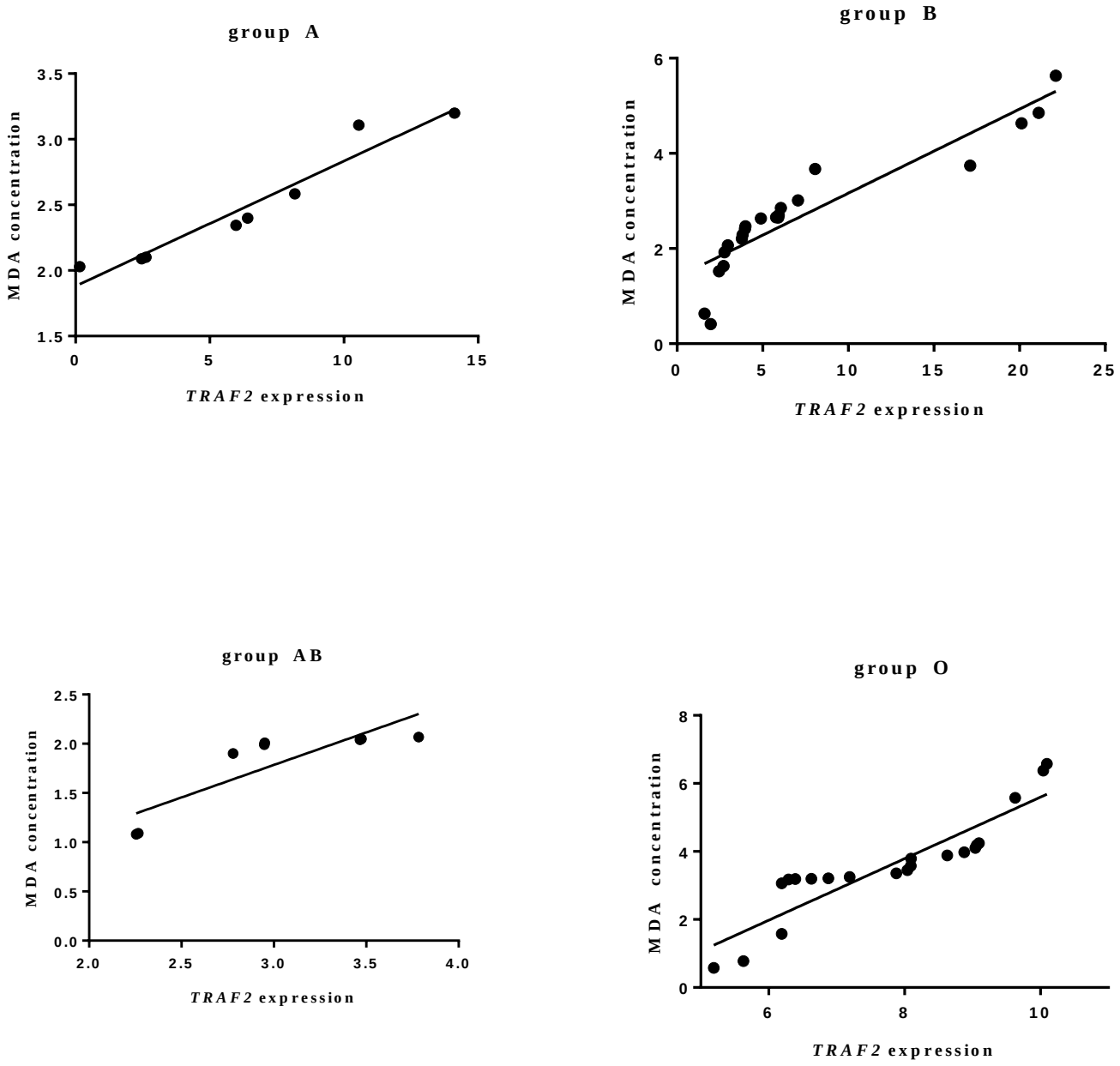
مؤشرات الاجهاد التأكسدي	*TRAF2* expression (ng/µL)			
	Group A	Group B	Group AB	Group O
	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط
CAT activity (u\ml)	-0.724*	-0.8966*	-0.8407*	-0.9425*
MDA concen (µmole/L)	0.9667*	0.9138*	0.859*	0.9048*

*** تشير الى وجود فرق معنوي على مستوى $p<0.05$**



شكل (14.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *TRAF2* ومستوى فعالية انزيم CAT لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS

.



شكل (15.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *TRAF2* ومستوى تركيز MDA لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.

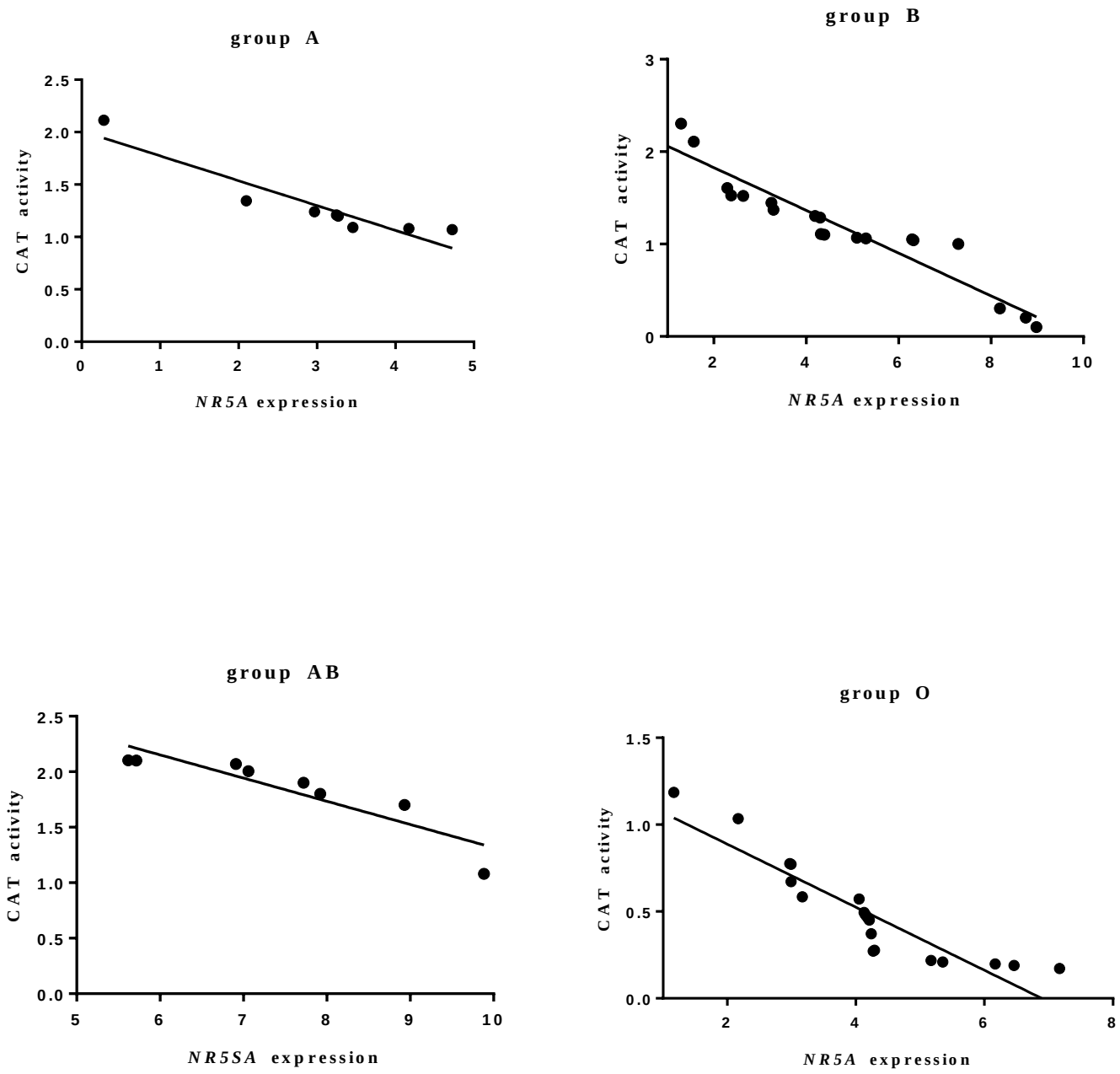
2.7.4. دراسة علاقة مستوى تعبير جين NR5A ومستوى فعالية انزيم الكاتليز CAT ومستوى الـ MDAلمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS

اظهرت نتائج التحليل الاحصائي لمعامل الارتباط الدراسة الحالية وجود علاقة معنوية سالبة بين مستوى انزيم الكاتليز و جين *NR5A* لجميع فصائل الدم (جدول 12.4 وشكل 16.4)، بينما سجلت علاقة ارتباط معنوية موجبة بين مستويات الـ MDA و الكمية النسبية لتعبير جين *NR5A* لجميع فصائل الدم من النساء المصابات بـ PCOS (جدول 12.4 وشكل 17.4).

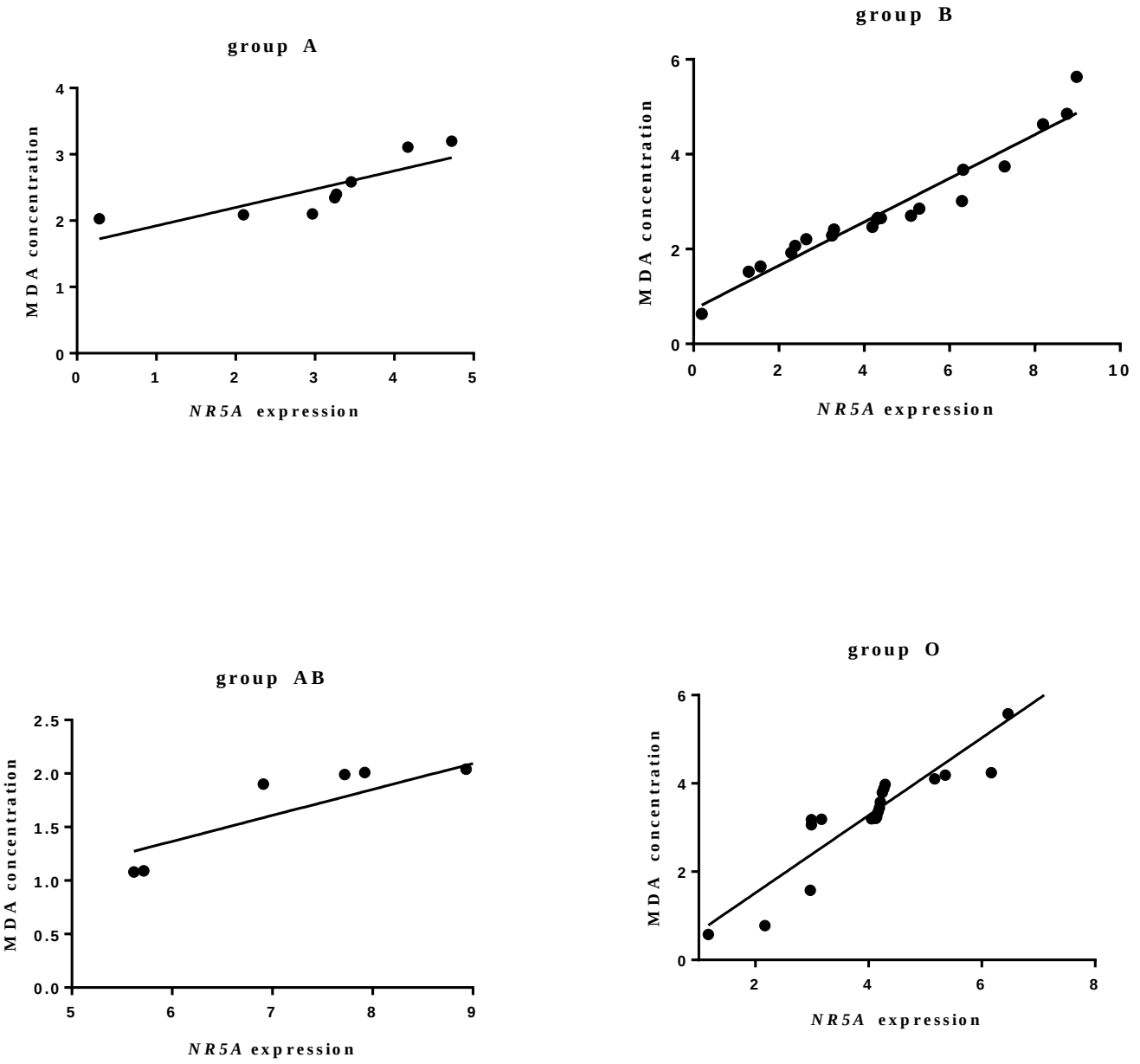
جدول (12.4) معاملات الارتباط بين مستوى تعبير جين *NR5A* وفعالية انزيم CAT وتركيز الـMDA لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـPCOS.

مؤشرات الاجهاد التأكسدي	*NR5A* expression (ng/µL)			
	Group A	Group B	Group AB	Group O
	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط
CAT activity (u\ml)	-0.9316*	-0.955*	-0.9012*	-0.9151*
MDA concen (µmole/L)	0.8232*	0.9685*	0.8568*	0.9313*

*** تشير الى وجود فرق معنوي على مستوى $p<0.05$**



شكل (16.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *NR5A* ومستوى تركيز CAT لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.



شكل (17.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *NR5A* ومستوى تركيز MDA لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.

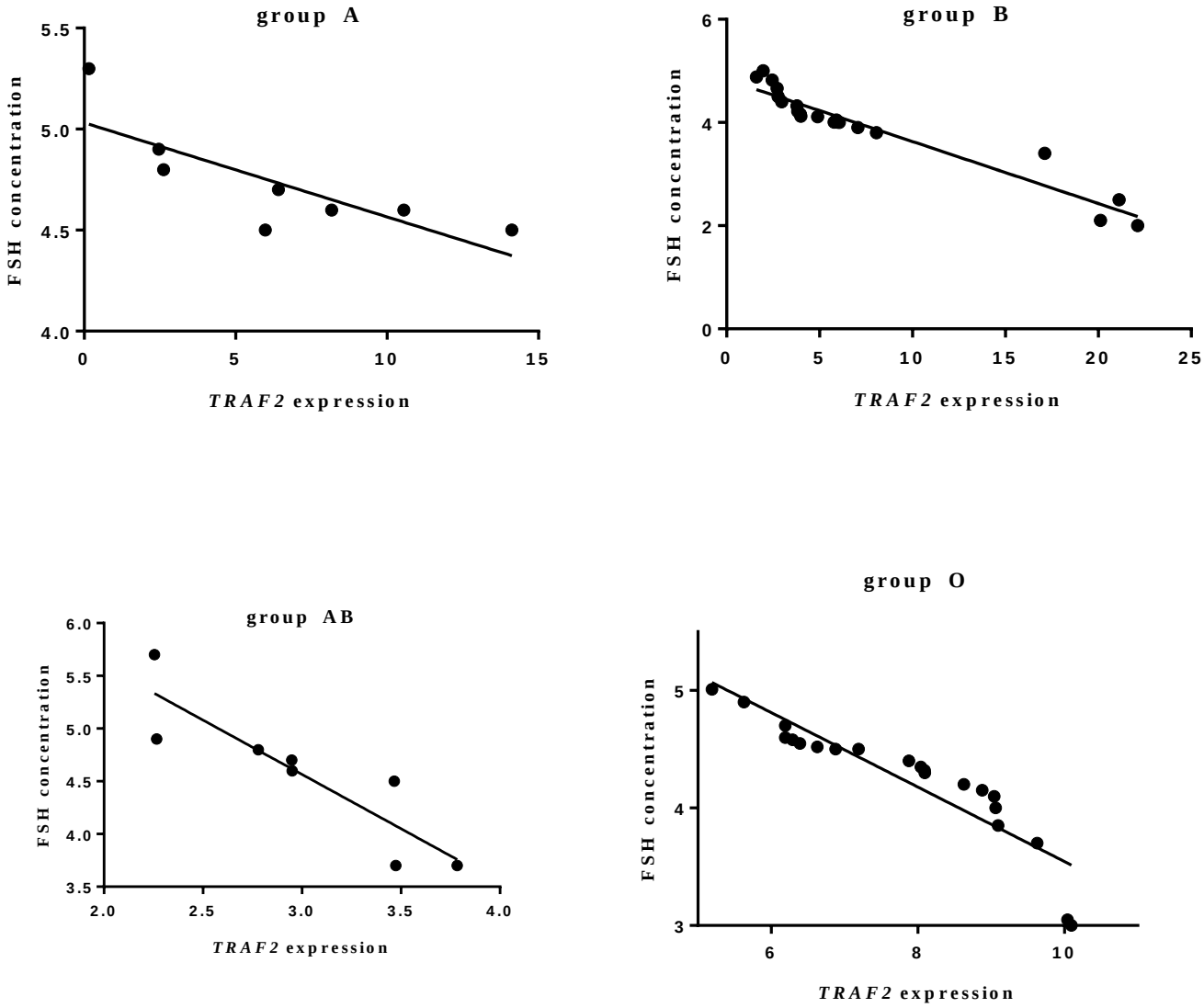
3.7.4. دراسة علاقة مستوى تعبير جين *TRAF2* ومستوى تركيز هرموني FSH وLH لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS .

بينت نتائج التحليل الاحصائي لمعامل الارتباط الدراسة الحالية وجود علاقة معنوية سالبة بين مستوى تركيز هرمون FSH و جين *TRAF2* لجميع فصائل الدم (جدول 13.4 وشكل 18.4)، في حين لوحظ علاقة ارتباط معنوية موجبة بين مستويات هرمون LH و الكمية النسبية لتعبير جين *TRAF2* لجميع فصائل الدم من النساء المصابات بـ PCOS (جدول 13.4 وشكل 19.4).

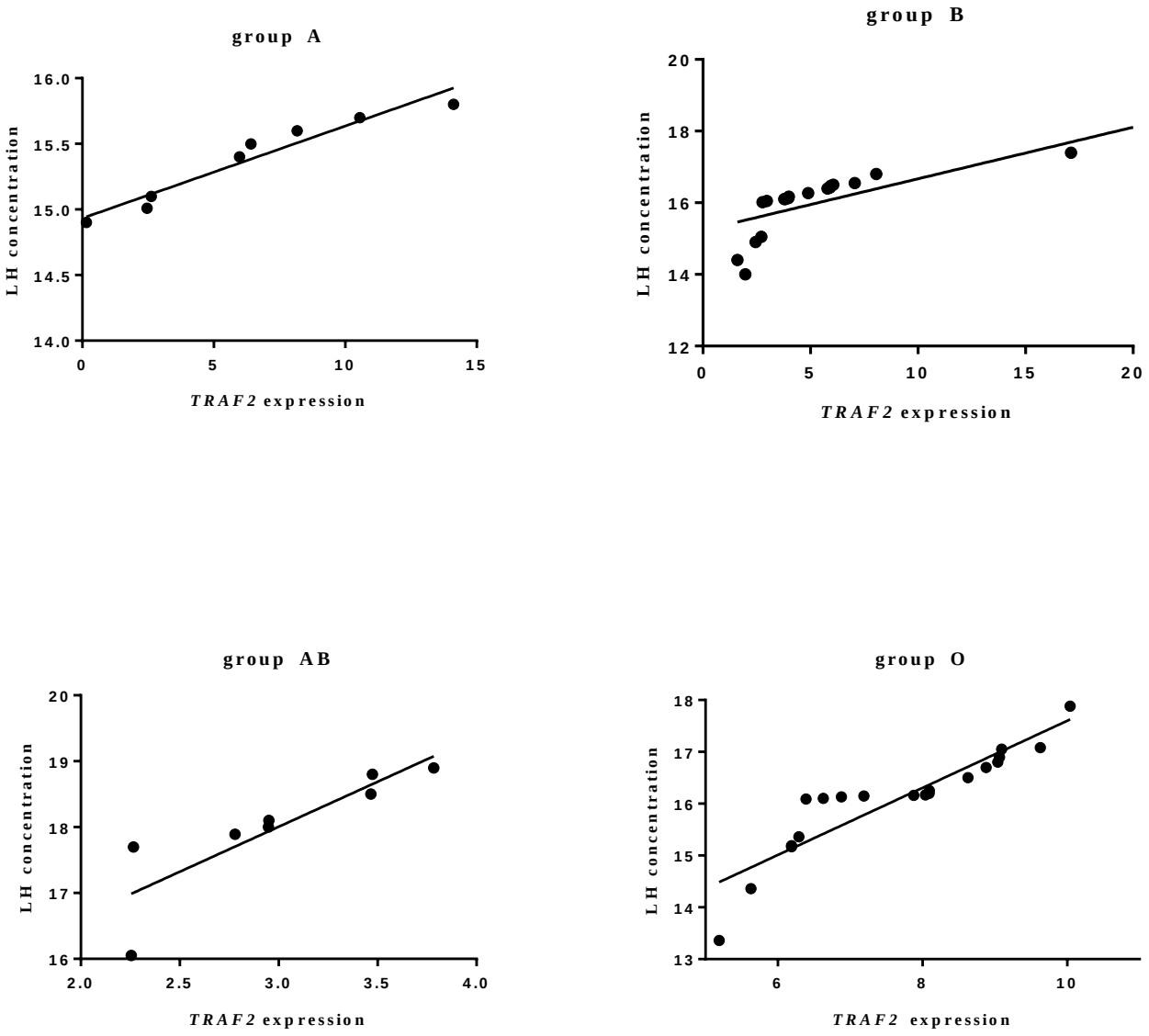
جدول (13.4) معاملات الارتباط بين مستوى تعبير جين *TRAF2A* ومستوى تركيز هرموني FSH وLH لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـPCOS.

تركيز الهرمون	*TRAF2* expression (ng/µL)			
	Group A	Group B	Group AB	Group O
	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط
FSH concen. (ng/L)	-0.8049*	-0.9596*	-0.8865*	-0.9115*
LH concen. (ng/L)	0.9662*	0.8643*	0.8557*	0.909

*** تشير الى وجود فرق معنوي على مستوى $p<0.05$**



شكل (18.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *TRAF2* ومستوى تركيز FSH لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.



شكل (19.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *TRAF2* ومستوى تركيز LH لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.

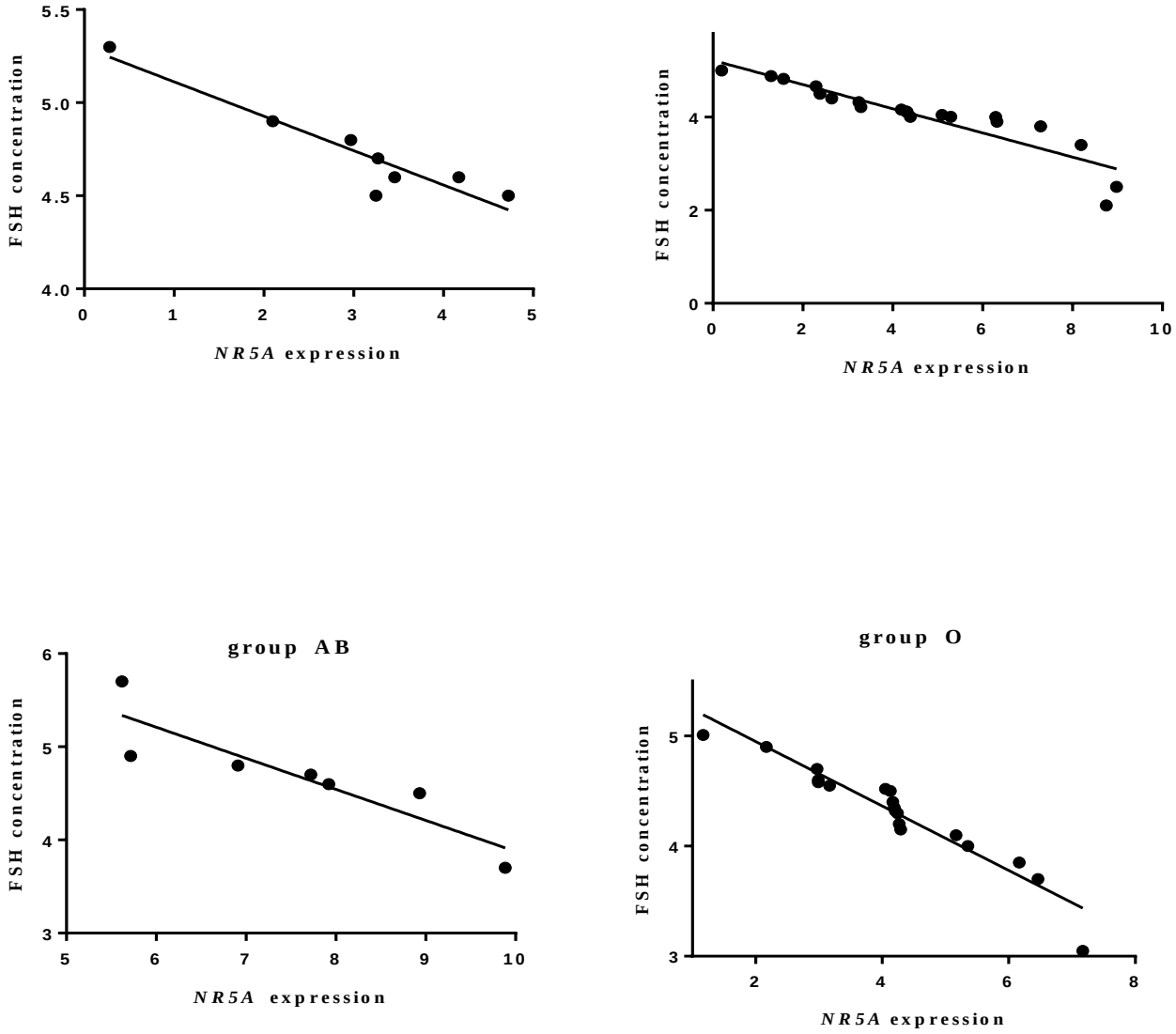
4.7.4 دراسة علاقة مستوى تعبير جين *NR5A* ومستوى تركيز هرموني FSH وLH لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS .

بينت نتائج التحليل الاحصائي لمعامل الارتباط الدراسة الحالية وجود علاقة معنوية سالبة بين مستوى تركيز هرمون FSH و جين *NR5A* لجميع فصائل الدم (جدول 14.4 وشكل 20.4)، في حين لوحظ علاقة ارتباط معنوية موجبة بين مستويات هرمون LH و الكمية النسبية لتعبير جين *NR5A* لجميع فصائل الدم من النساء المصابات بـ PCOS (جدول 14.4 وشكل 21.4).

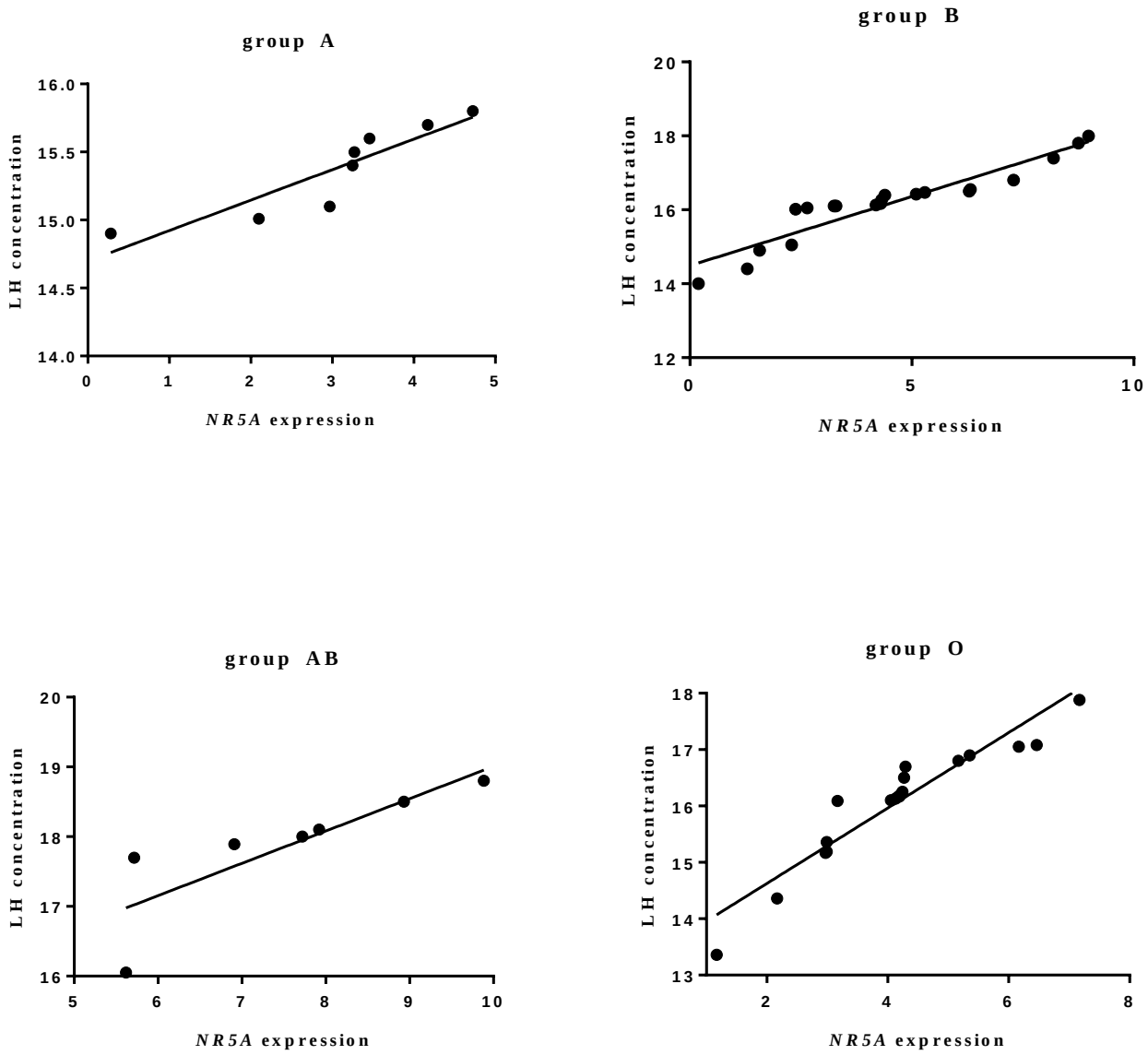
جدول (14.4) معاملات الارتباط بين مستوى تعبير جين *NR5A* ومستوى تركيز هرموني FSH وLH لمجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـPCOS.

تركيز الهرمون	*NR5A* expression (ng/µL)			
	Group A	Group B	Group AB	Group O
	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط	معامل الارتباط
FSH concen. (ng/L)	-0.939*	-0.9142*	-0.8919*	-0.9517*
LH concen. (ng/L)	0.9055*	0.9368*	0.831*	0.9451*

*** تشير الى وجود فرق معنوي على مستوى $p<0.05$**



شكل (20.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *NR5A* ومستوى تركيز FSH لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.



شكل (21.4) العلاقة الخطية بين مستوى تعبير جين *NR5A* ومستوى تركيز LH لمجاميع الدم ABO للنساء المصاباتPCOS.

5. المناقشة

1.5. التغيرات في العلامات السريرية في النساء المصابات بـ PCOS

اظهرت نتائج دراسة العلامات السريرية لدى النساء المصابات بـ PCOS الى زيادة نسبة ظهور الشعرانية ، و الحبوب عند مجاميع المصابة في فصيلة AB وO ، بالمقارنة مع المجاميع الاخرى ، و التي ممكن أن تعود الى الزيادة في مستوى الاندروجين في الدم إذ يحفز الاندروجين بصيلات الشعر على النمو بشكل أكثر سمكا و اكثر قتامة(*Slayden et al.,2001*) ؛ اذ يرتبط زيادة افراز الهرمونات الذكرية بالدم مع ارتفاع مستوى هرمون التستوستيرون المفرز من قبل المبيض نتيجة التحفيز المستمر من قبل الهرمون اللوتيني و الذي يرتفع معنويا لدى النساء المصابات PCOS *(& Nisenblat, 2009*

*Norman)*وهذا ما عززته نتائج الدراسة الحالية التي لوحظ من خلال ارتفاعاً في مستوى هرمون اللوتيني في النساء المصابات بـ PCOS .

كما قد تعود الاسباب الى زيادة الاجهاد التأكسدي الذي كان واضحاً من خلال زيادة مستويات MDA و انخفاض مستوى فعالية مضادات الاكسدة الانزيمي CAT لدى النساء المصابات بـ PCOS فقد اثبت الدارسات ان توليد ROS يكون مرتبط بشكل مباشر مع هرمون التستوستيرون و الاندروستيندآيون (González *et al.,2005)* إذ أن هناك إشارة على ان ROS يحفز OS و الذي بدوره يشارك في تكوين زيادة افراز الهرمونات الذكرية لدى النساء المصابات بـ PCOS وفي دراسة مختبرية اثبتت ان OS يحفز انتاج الاندروجين من المبيض و هرمونات الستيرويد بينما تعمل مضادات الاكسدة على تثبيط هذه العملية *(Piotrowski et al.,2005)* اذ يتم إنتاج الجذور الخالية من الأكسجين مثل superoxide خلال التكوُّين الحيوي للستيرويدات و التي يتم تحويله بواسطة SOD إلى H2O2 (Aten &Behrman ,1991) تبعاً لذلك يعمل الكاتليز كعامل وقائي لمعادلة H2O2 للحفاظ على توازن ROS ومستويات الستيرويد الطبيعية و تظهر الدراسات أن الكاتليز يساهم في نمو الجريبات وعملية بناء الستيرويدات في المبيضين و قد يساهم الاجهاد التأكسدي و الالتهابات في زيادة مستوى الأندروجين لدى النساء المصابات بـ PCOS اذ ذكرت عدد من الدراسات وجود علاقة طرية بين الاجهاد التأكسدي و التهابات مع ارتفاع مستوى الاندروجين لدى النساء المصابات بـ PCOS (et Yang al.,2011) و قد اثبت مختبريا أن الاجهاد التأكسدي يعزز من نشاط انزيمات تكوين الستيرويدات للمبيض و التي بدورها تحفز انتاج الاندروجين (Piotrowski et al.,2005) و من ناحية اخر تؤثر الاندروجينات على ظهور حب الشباب لدى النساء المصابات بالـ PCOS اذ يتكون حب الشباب من بثرات سوداء comedones ؛ نتيجة تراكم المواد الدهنية وحطام الخلايا الظهارية ، والتي استعمرتها بكتيريا Propionibacterium acnes و يؤدي التهاب هذه البثرات إلى تكوين عقيدات و ان زيادة الأندروجينات تؤدي إلى تفاقم هذه العملية وزيادة إنتاج مواد الدهنية عن طريق الوحدات الدهنية علاوة على ذلك فإن العديد من النساء المصابات بالـ PCOS لا يصبن بحب الشباب قد تكون هذه الاختلافات بسبب اختلاف حساسية مستقبلات الاندروجين Androgen receptors (AR) (Deplewski & Rosenfield ,2000)

كما اظهرت نتائج الدراسة الحالية زيادة في اضطراب الدورة الطمثية ، و عدم حدوث الاباضة لمجموعة O و، AB بمقارنة مع مع المجاميع الاخر، و الذي يمكن ان يعزى الى اضطراب النمو و

التطور الجريبي الناتج من النمو الجريبي المبكر المفرط مؤدياً بذلك الى تطور و نضج جريبي غير طبيعي (Jonard & Dewailly,2004) و هذا النمط من نمو الجريبي مع الفشل في اختيار الجريب السائد و المهيأ للإباضة ينتج عنه واحدة من السمات المميزة لـ PCOS و هي مبيض متعدد الكيسات و ينطوي الخلل الوظيفي في المبيض من متلازمة تكيس المبايض على كل من السمات المورفولوجية للمبيضين متعددة الكيسات و التي توصف بأنها تراكم جريبات غارية صغيرة حجمها 2–9 ملم Azziz (et al., 2006).

أن لزيادة الأندروجين (Lewy et al., 2001) وانخفاض مستوى الكلوبيولين الرابط للهرمونات الجنسية Steroid hormone binding globulin (SHBG)(Kajaia et al., 2007) دوراً هاماً في زيادة الاضطرابات في الدورة الشهرية اذ يرتبط انخفاض مستويات SHBG المصل مع زيادة خطر الاصابة بمرض السكري نوع الثاني T2DM في وقت لاحق من الحياة اذ ينظم SHBG مستوى الانسولين بالجسم و أن انخفاض في مستوى SHBG يدل على حدوث مقاومة الانسولين (Nestler et al.,1991) اذ ان السبب الحقيقي لانخفاض SHBG ليس واضحًا تمامًا لكنه ينخفض مستواه عند زيادة مستويات الأنسولين ومستويات الإندروجين ويزداد مع الإستروجين العالي (Wallace *et al.* 2013) نتيجة عمل الانسولين على تثبيط تكوين SHBG (Norman & Nisenblat,2009) ، و هذا يشير الى ان اضطراب الدورة الطمثية خلال سن الإنجابية يكون مرتبط بمخاطر ايضية ، و زيادة مخاطر الأمراض القلبية الوعائية CVD ، و الذي ينتج عنه زيادة معدل الوفيات بعد سن اليأس (Shaw et al., 2008) و قد اثبت ان وجود اضطرابات الدورة الطمثية في وقت مبكر يمكن أن يكون له علاقة بالسمنة ، و فرط الأندروجين ، و فرط الانسولين ، والتي تكون من ابرز اعراض متلازمة تكيس المبايض (Wiksten-Almstromer et al., 2008) .

أن زيادة الاضطرابات في الدورة الشهرية ممكن ان ينعكس على الخصوبة و يظهر ذلك واضحاً من نتائج الدراسة الحالية اذ لوحظ زيادة انعدام الخصوبة في النساء المصابات بـ PCOS من مجموعة AB بالمقارنة مع المجاميع الاخرى و الذي يعزى الى الخلل في محور تحت المهاد– النخامية الذي يؤدي الى زيادة مستوى هرمون LH مما يسبب زيادة تصنيع و افراز الاندروجين من المبيض و الذي ينتج عنه خلل في المبيض و فقدان حساسيته لهرمون LH (*Rosenfield* ,1997) و تؤدي زيادة مستويات الاندروجينات في الدم الى انخفاض قابلية البروجستيرون لتقليل او خفض مستوى وتأثير GnRH (et al. *Pastor* ,1998) و عليه يحصل زيادة في مستوى هرمون LH و انخفاض في مستوى هرمون FSH و

هذا الارتفاع يؤدي الى توقف نمو خلايا جرابية و تحفيز الخلايا الغلالية لإنتاج الاندروجين ، و ان توقف النضج الجريبي يكون بسبب زيادة مستوى الاندروجين في المبيض (Khan et al.,2006) اذ ان زيادة الاندروجينات يؤدي الى تثبيط النمو و التطور الجريبي مما ينتج عنه تكوين جريبات متعددة الاشكال و هذا يسبب انعدام حدوث الاباضة (*Schuring et al.,2008*) كما ان استمرار افراز هرمون التستوستيرون و ارتفاع مستوى هرمون الاستروجين و انخفاض البروجسترون يؤدي الى زيادة تثخن بطانة الرحم (Asrm,2005; Current, 2008) .

2.5. مؤشر كتلة الجسم و السمنة في النساء المصابات بـ PCOS

تعد السمنة اكثر شيوعا لدى النساء المصابات بـ PCOS ، قد تكون نتيجة زيادة افراز الهرمونات الذكرية اذ اشار Franks (1989) الى ان حوالي 35% من النساء المصابات بـ PCOS يكّن بدينات اذ ان فرط الاندروجين تساهم في تكوين الانسجة الدهنية الحشوية في النساء المصابات بـ PCOS (*Schuring* al.,2008) يتأثر توزيع الدهون في الجسم بكل من الاندروجين ، و مقاومة الانسولين ، اذ ممكن ان تؤدي السمنة الى الاصابة بـ PCOS و من اعراضها السريرية هو مقاومة الانسولين و فرط الاندروجين و في الحقيقة أن معظم العوامل التي تؤثر على الغدد الصماء و اضطراب التمثيل الغذائي في النساء المصابات بـ PCOS ممكن أن يؤدي الى زيادة مؤشر كتلة الجسم الى اكثر من 25 (Cupisti *et al.,2008*) و ذكر الباحث Kelly ، و آخرون(2005) أن النساء البدينات تكون السمنة لديهن مرتبطة في ارتفاع تركيز بروتين CRP الذي يزيد بزيادة التعبير الجيني لجين TRAF2 ، كما ترتبط السمنة مع زيادة الاجهاد (Sabuncu *et al.,2001)* اذ تلعب دوراً مهماً في رفع مستوى الاجهاد التأكسدي و الذي يشارك في مقاومة الانسولين (Urakawa et al.,2003) وتكون النساء البدينات و المصابات بـ PCOS ذات مستوى مرتفع من مقاومة الانسولين بالمقارنة مع النساء النحيفات و المصابات PCOS (Khan et al.,2006) فقد أشار العالم González و آخرون (2006) الى ارتفاع مستوى التعبير الجيني لجين $p47^{phox}$ في النساء البدينات و المصابات بـ PCOS مقارنة بالنساء الغير مصابات اذ يلعب هذا الجين دوراً مهماً لإنتاج أنيون الفائق في الجهاد التأكسدي كما ان زيادة تعبير هذا الجين يؤدي الى خفض من حساسية الانسولين (González et al.,2006) اذ لوحظ ان التقليل من وزن الجسم في النساء البدينات اللواتي يعانين من عدم الاباضة يؤدي الى استرداد قدرتها على الاباضة و زيادة في تحسين اداء الانسولين (Huber-Buchholz et al.,1999) ويخفض مستوى هرمون

التستوستيرون كما ينشط انتاج SHBG انتظام الحيض و معدلات الحمل و انخفاض احتمال الاجهاض (Moran et al.,2003)

3.5. دراسة التغيرات الكيموحيوية (CAT,MDA) في النساء المصابات بـ PCOS

اظهرت نتائج الدراسة الحالية انخفاضاً معنوياً في مستوى انزيم الكاتليز و ارتفاعاً معنوياً في مستوى تركيز MDA ، في مصل الدم لدى النساء المصابات بـ PCOS ، مقارنة بمجموعة السيطرة ، و كان هذا الاختلاف المعنوي لكلا المؤشرين (CAT,MDA) اكثر معنوية في المصابات من فصيلة O مقارنة بالفصائل الاخرى .

أن الانخفاض في مستوى فعالية انزيم الكاتليز ربما يعزى الى خلل في محور تحت المهاد – النخامية اذ ان يختلف مستوى انزيم الكاتليز أثناء مراحل الدورة المبيضية و تنظيم الهرمونات للدورة اذ تلعب الهرمونات المحفزة للغدد التناسلية gonadotropin FSH و LH دوراً هاماً في تحفيز النضج الجريبي والتمايز وتكوّن الستيرويدات (Fortune,1994) ، إضافة الى دورها الكبير في تعزيز فعالية انزيم الكاتليز (Pandey & Behl,2002) فقد اشار الباحثانPandey و Behl (2002) ، الى زيادة نشاط الكاتليز و الإستروجين بعد تحفيز FSH ، وكانت هذه الزيادة أكبر في الجريبات النامية (الناضجة) اذ يصل الإستروجين إلى أعلى تركيز له في الجريبات السائدة يرافقها زيادة فعالية الكاتليز نتيجة لاستجابة للـ FSH ، و قد يشير هذا إلى دور الكاتليز في انتقاء الجريبات ومنع موت الخلايا المبرمج بعد توقف الإباضة اذ تزداد فعالية الكاتليز بشكل ملحوظ في الجريب السائدة *Parshad (Guraya &,1993)* وهذا ما عززته نتائج الدراسة الحالية ترافق انخفاض مستوى فعالية انزيم الكاتليز مع انخفاض مستوى FSH في مصل الدم.

قد تكون الزيادة المعنوية في مستوى MDA و في فصلية O كاستجابة تكيفية تعويضية لزيادة الطلب على التخلص من جذور فائق الأكسيد نتائجنا تتوافق مع الدراسات التي أجراها Sabuncu وآخرون او قد يكون نتيجة فرط سكر الدم أو مقاومة الانسولين أو الالتهاب المزمن اذ يرتبط الاجهاد التأكسدي والالتهابات المزمنة بشكل وثيق اذ يؤدي الالتهاب إلى توليد ROS في حين أن الإجهاد التأكسدي يعزز ويزيد الالتهاب (Duleba & Dokras,2011)

ترتبط الالتهابات مع مقاومة الانسولين (Wild et al.,2001) و عليه فأن فرط السكر في الدم يحفز توليد انواع الـ ROS بالتالي زيادة تركيزMDA و نتيجة لذلك يم تنشيط NFκB الذي هو أحد إشارات

الالتهاب (Dandona et al., 1996) و بذلك يزيد مستوى التعبير الجين للـ TRAF2 (Baud and Karin, 2001) وهذا ما اثبتته نتائج الدراسة الحالية اذ لوحظ علاقة خطية

إن زيادة تركيز MDA كانت اكثر وضوحاً مع زيادة في مؤشر كتلة الجسم و الخصر اذ اشارت الدراسات الى ان تركيز MDA في مصول دم النساء المصابات بـ PCOS يزيد مؤشر كتلة الجسم و هذا يشير الى ان السمنة تلعب دوراً مهم في التسبب و تطور متلازمة تكيس المبايض في النساء المعرضات للإصابة و لاشك بان البدانة تزيد من العلامات السريرية واضطرابات الهرمونية و التمثيل الغذائي في معظم النساء المصابات بـ PCOS.(Pasquali et al.,2006) اذ يعتبر كل من ROS ومضادات الأكسدة عوامل رئيسية تشارك في التمثيل الغذائي الفسيولوجي للمبيض اذ اثبتت عدداً من الدراسات وجود مضادات الأكسدة في الجهاز التناسلي الأنثوي (*Agarwal* et al.,2008) ، فقد وجد أن التوازن بين ROS ومضادات الأكسدة يؤثر بشكل كبير في الأنشطة الجهاز التناسلي الأنثوي مثل التغيرات في بطانة الرحم في مرحلة الجسم المصفر luteal phases ،و التطور الجريبي ، و الإباضة ، وعملية الاخصاب ، و نمو المشيمة ، و التطور الجنيني (Al-Gubory et al.,2010) ؛ و الذي ينعكس على عمليات التكاثر ، و الخصوبة اذ تتأثر عمليات التكاثر في ظروف الاجهاد التأكسدي التي تتصف بضعف وظائف المبيض و كمية البيوض المتدهورة و اضطرابات النمو الجنينية و أمراض النساء و العقم (Avila et al.,2016) بينما توصل الباحث Erdogan و اخرون 2008 الى عدم وجود فروق معنوية ذات دلالة احصائية في مستوى بيروكسيد الدهون لدى النساء المصابات بـ PCOS و مجموعة السيطرة (Fenkci et al.,2003) نتائج الدراسة الحالية متوافقة مع ما وجده كاظم (2014) لاحظت ارتفاع مستوى MDA و انخفاض مستوى انزيم الكاتليز لدى النساء المصابات بـPCOS مقارنة بمجموعة السيطرة

4.5. دراسة التغيرات الهرمونية (LH وFSH) في النساء المصابات بـ PCOS

بينت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاعاً معنوياً في مستوى هرمون LH و انخفاضاً في مستوى FSH في مصل دم النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض المتعدد مقارنة بمجموعة السيطرة وكان ارتفاع مستوىLH اكثر في مجموعة الدم AB عند المقارنة بالمجاميع الدم الاخر، في حين لم تسجل النتائج اختلافا معنويا للمستويات FSH المنخفضة بين مجاميع الدم ABO للنساء المصابات بـ PCOS يمكن ان تعزى هذه الاختلافات في مستويات LH وFSH لدى النساء المصابات بـPCOS الى وجود اضطراب في محور تحت المهاد – النخامية مما يؤدي الى حدوث اضطراب في GnRH و التي بدورها

يؤدي الى زيادة في نسبة هرمون LH الى مستوى هرمون FSH (LH/FSH) (Chiu et al.,2004) ان زيادة مستوى LH يؤدي الى زيادة إنتاج الأندروجينات في المبيض في حين أن انخفاض مستوى FSH تقلل من نضوج الجريب وبالتالي الاباضة (Burt Solorzano et al.,2012) وان انخفاض حساسية تحت المهاد للتغذية الراجعة السالبة لكل من هرمون الاستروجين والبروجسترون في متلازمة تكيس المبايض و الذي ربما يكون عن طريق التعرض المزمن لهرمون الاستروجين (Patel et al.,2004) اضافة الى الخلل في الأيض والسمنة هي الاخرى ممكن أن تسبب تغير في نمط إفراز LH كما أن فرط الاندروجين ممكن ان يتسبب في إزالة حساسية تحت المهاد للتغذية الراجعة السالبة للهرمون البروجسترون / الاستروجين مما يؤدي الى زيادة افراز هرمونات LH وبالتالي زيادة إنتاج الأندروجين المبيض (Eagleson et al.,2000) كما أن زيادة مؤشر كتلة الجسم (BMI) له تأثير قوي على إفراز LH (Patel et al.,2004) اذ ترتبط السمنة مع العديد من العوامل التي تأثر على وظيفة تحت المهاد –النخامية منها مقاومة الأنسولين ، أو فرط الأنسولين ، والذي يؤثر على الخلايا الدهنية مما يؤدي في اغلب الاحيان الى السمنة وهذا ينعكس على وظيفة المبيض اذ ينتج عنه فرط الاندروجين وتوقف النمو الجريبي ، وبالتالي يؤدي حدوث ما يعرف بمورفولوجيا المبيض المتعدد الكيسيات polycystic ovarian morphology PCOM ، والذي يؤثر على عمل تحت المهاد وبالتالي يؤثر على التدفق النبضي pulse surge لـ GnRh وهذا بدوره يؤثر على النخامية مما يسبب خلل في نسبة LH/FSH والذي بدوره ينعكس على وظيفة المبيض وتتطور هذه الحالة الى متلازمة poly cystic ovarian syndrom (Adashi & Hsueh,1981). اضافة الى وجود آليات أخرى ممكن ان تؤثر على وظيفة تحت المهاد ، فقد اكدت الدراسات ترافق السمنة مع زيادة جين TRAF2 من خلال زيادة الخلايا الدهنية في الجسم التي تفرز الانترلوكين IL-6 التي تشفر بواسطة جين TRAF2 و بذلك يحدث خلل في افراز GnRH عند زيادة تعبير هذا الجين & (Ranganathan Kern,2001) ، وهذا ما عززته نتائج الدراسة الحالية في وجود علاقة خطية لجين TRAF2 مع مستوى هرموني FSH و LH لدى النساء المصابات بتكيس المبايض.

من جانب آخر ممكن تفسير الاضطراب الحاصل في مستويات افراز هرموني FSH و LH للنساء المصابات بـ PCOS نتيجة لزيادة تعبير جين NR5A اذ يؤثر بشكل مباشر على محور تحت المهاد وأن اي تغيير في مستواه ينعكس على وظيفة هذا المحور من خلال تأثيره على افراز GnRh وGn(Jeyasuria et et.,2004) كما يمكن ان يؤثر بآلية اخرى عن طريق تأثيره على المبيض اذ لوحظ

ان زيادة مستوى جين NR5A تؤدي الى زيادة كل من الهرمون المضاد لقناة مولر AMH و الانهبين inhibin واللذان يؤديان الى انخفاض مستوى الـ FSH (Chand et al.,2010)

كما اشارت الدراسة التي أجراها Binder وأخرون (2008) ان النساء ذوات فصيلة الدم نوع O يكون مستوى FSH ، أكثر انخفاضاً مقارنة بمجاميع الدم الاخرى و الذي قد يعود للتأثير الوقائي لإنزيم glycosyltransferase ، في المجاميع الدموية اذ لوحظ ان هذا الانزيم يؤثر على ما يعرف بأسم احتياطي المبيض (DOR) الذي يعتبر مؤشراً على مستوى و فعالية هرمونFSH ، اذ يعتقد ان انزيم ترانسفيراز A قد يكون ذو صلة بعمليات تراكم أو الاستنزاف الأمشاج و أن غياب نشاطه كما هو الحال في حالة في فصيلة O قد تكون سبباً في انخفاض عدد البويضات و التي تسمى بأحتياطي المبيض البطيء كما ان هناك العديد من البروتينات المهمة في تطوير جريبات ونضجها مثل مستقبلات FSH (FSH-R) ومستقبلاتLH (LH-R) والتي تكون مرتبطة بـ glycosy بشكل كبير اذ لوحظ انخفاض واضح في معدلات الإباضة في الفئران التي تم ازالة انزيم glycosyltransferase وI N- acetylglucosaminyltransferase من جريباتها (Williams and Stanley, 2009) كما ذكر *Nejat* و آخرون (*2011*) ، أن مجاميع النساء من فصيلة الدم O يمتلكن عدد منخفض من البويضات هذا يضعهم في خطر من وجود مشاكل الخصوبة في وقت لاحق من الحياة أي أن نفس الآلية الجزيئية التي تحدد نوع فصيلة الدم يمكن أن تؤثر أيضًا على خلايا المبيض في حين اشار الباحثان Shapiro وBressler (2014) ، أفادتا أن فصيلة الدم A و AB مرتبطتان باحتمالية أكبر لـ DOR بينما يرتبط نوع الدم O مع احتمال أقل .

على الرغم من أن الآليات الدقيقة التي تربط نوع الدم باحتياطي المبيض ، والعقم غير واضحة فإن الاحتمالات التي قد تلعبها glycosyltransferases تلعب دورًا مهمًا في وظيفة المبيض ، أو أن وجود جين يشترك في هذه العملية (Nejat et al.,2011)، وبالرغم من الدراسات التي ذكرت سابقا تدل على وجود علاقة بين نوع فصائل الدم ABO ومستوى هرمون FSH الا انه لم يتحقق في الدراسة الحالية اذ لم توضح النتائج اي اختلافات معنوية لمستويات FSH المنخفضة لدى النساء المصابات بـ PCOS قد يرجع ذلك الى وجود العديد من الآليات التنظيمية لهرمون FSH بغض النظر عن وجود الانزيم فقد يتطلب ذلك حجم عينات كبير و مزيداً من الدراسات وبآليات مختلفة.

5.5. دراسة الكمية النسبية لتعبير جيني TRAF2 و NR5A في النساء المصابات بـPCOS

سجلت الدراسة الحالية زيادة معنوية في الكمية النسبية لتعبير جين TRAF2 و NR5A في النساء المصابات بـ PCOS مقارنة بمجموعة السيطرة ، من جانب آخر كانت هناك اختلافات معنوية لهذه الزيادة بين مجاميع الدم للنساء المصابات بـ PCOS فقد تفوقت مجموعة الدم O معنوياً ، في مستوى تعبير جين TRAF2 ، مقارنة بالمجاميع الاخرى في حين كانت مجموعة الدم AB هي الاكثر في زيادة في مستوى تعبير جين NR5A . من المحتمل ان تعود اسباب الزيادة في مستوى جين TRAF2 نتيجة زيادة الالتهاب المزمن الذي يعد من الصفات المهمة لمريضات PCOS اذ يعتقد ان الالتهاب يساهم في تطور إمراضيه PCOS (Kebapcilar et al.,2014) اذ ينتج الالتهاب بسب الانسجة الدهنية الزائدة التي تظهر في مريضات الـ PCOS اذ ان 52٪ –64٪ من النساء المصابات بالـ PCOS يعانن من السمنة في منطقة البطن (Eshre,2004) ، مما يؤدي الى زيادة مستوى كل من بروتين سي التفاعلي (CRP) C-reactive protein اذ ان زيادة مؤشر كتلة الجسم تكون مرافقة لزيادة (CRP) – C كما تطلق الانسجة الدهنية انترلوكين –6 (IL-6) interleukin-6 التي هي من علامات الالتهاب في مريضات الـ PCOS (González et al.,2009) و عليه يزداد التعبير الجيني لـ TRAF2 كما يرتبط افرز IL-6 في الخلايا الدهنية للإفراد البدينين الذين يعانون من سكري مع مقاومة الانسولين (Ranganathan &Kern,2001) كما يحفزIL-6 الكبد لإنتاج CRP و الذي يؤدي إلى زيادة التهاب (Raison et al.,2006)

من جانب آخر اشارت الدراسات ان هناك علاقة بين الاجهاد التأكسدي و الالتهابات وهذا ما اثبته الباحث Siti و اخرون (2015) ، الذي اشار الى انه من الصعب فصل الاجهاد عن الالتهابات اذ يعمل ROS على تحفز إطلاق العوامل الالتهابية والاستجابة الالتهابية من خلال خلال تنشيط مسارات الإشارات المصاحبة للعامل النووي nuclear factor-κB κB (NF-Kb) (Touyz,2005) و لذلك يزيد مستوى التعبير الجيني للTRAF لأنه يعمل على تنظيم تنشيط العامل NFκB (Davis, 2000). وهذا ما عززته نتائج الدراسة الحالية في وجود علاقة ارتباط خطية بين مستوى تعبير جين TRAF2 ومؤشرات الاجهاد حيث ترافقت زيادة مستوى MDA الذي يُعد من اهم مؤشرات الاجهاد وانخفاض مستوى فعالية CAT مع زيادة مستوى تعبير جين TRAF2 كما ان الزيادة في مستوى جين TRAF2 في مجموعة الدم O هي الاعلى مقارنة بالفصائل الاخرى والذي قد يعود نتيجة لزيادة MDA وانخفاض فعالية CAT اكثر مقارنة بالمجاميع الاخرى و يظهر من خلال النتائج انها اكثر عرضة للاجهاد والذي قد يؤدي الى زيادة الالتهاب والذي يترافق مع زيادة مستويات تعبير TRAF2.

أن الزيادة معنوية في مستوى التعبير الجيني لجين NR5A للنساء المصاب بـ PCOS وبصورة اكثر معنوية في مجموعة AB من بين مجاميع الدم الاخرى قد تكون نتيجة حدوث طفرة نقطية في النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض فقد اشار الباحثان Lin و Achermann (2008) الى وقوع جين NR5A في مركز جين ABO والذي يلعب دورا هاما في تنظيم استنساخ محور المبيض – النخامية – تحت المهاد (HP-O axis) ، وان أي خلل في تنظيم هذا الجين ممكن ان يؤدي الى الخلل في نمو ونضج الجريبات وبالتالي عدم الاباضة (Jeyasuria et al., 2004) وكل تلك الدلائل تشير الى علاقة هذا الجين في خصوبة واضطرابات الدورة الشهرية اضافة الى الاضطراب في محور HPO axis والذي الذي ينعكس على افراز GnRh من تحت المهاد وGn من النخامية ممكن ان نستنتج الاضطراب الحاصل في نسب LH/FSH من الدلائل الواضحة على التغيرات في مستوى التعبير جين NR5A للنساء المصابات بـ PCOS وهذا ما اثبتته نتائج الدراسة الحالية .

من جانب آخر فأن الادلة الوظيفية أو السريرية لأمكانية حدوث طفرة في جين NR5A غير واضحة ولكنها يمكن ان تسبب التغيرات التركيبية في الجين الذي يشفر لعامل النسخ SF-1 والذي يمتلك تأثيرات بايولوجية متعددة (Calvo et al., 2001) ، اذ ينظمNR5A1 استنساخ جين العامل SF-1 والذي يؤثر على انزيمات بناء الستيرويدات CYP11A1 أو CYP19A1 وان اي اضطراب في هذه الانزيمات يؤدي إلى خلل في هرمونات الستيرويد ، و الإستروجين ، على وجه الخصوص ، وتكوين جريبي غير الطبيعي كما ان زيادة هرمون اللوتيني الناتج عن الخلل محور تحت المهاد – النخامية يؤدي الى زيادة تحفيز المبيض لزيادة تكوين الهرمونات الستيرويدية و عليه يزداد مستوى التعبير الجيني لـ NR5A1 (Gilling-Smith,1997).

كما قد تعود أسباب زيادة مستوى التعبير الجيني لجين NR5A نتيجة لزيادة الانسجة الدهنية في جسم النساء المصابات بـPCOS اذ تعد هذه الانسجة كغدد داخلية الافراز وموضعية لإنتاج الهرمونات الستيرويدية علاوة على دورها الفعال في ايض الاندروجين والاستروجين المنتج موضعيا في هذه الانسجة لتنظيم السمنة (Belanger et al.,2002) و أن الانزيمات التي تشارك في تكوين الهرمونات الستيرويدية تُشفر بواسطة جين (Quinkler et NR5A al.,2004) وهذا ما اظهرته الدراسة الحالية . من جانب آخر فأن ان الزيادة في تعبير زيادة مستوى هرمون LH هي الاخرى ممكن ان يؤدي الى زيادة مستوى تعبير جين NR5A وهذ ما عززته نتائج الدراسة الحالية في وجود علاقة طردية بين مستوى تعبير جين NR5A ومستوى هرمون LH في مصل الدم، فقد اشار Tosi و آخرون (2012) الى مستوى التعبير

الجيني لـ NR5A يزداد من خلال مسار نقل الاشارة لهرمون LH اذ يعمل هرمون LH على زيادة مستقبلاته LH Receptores LHR و الانزيمات المكونة لهرمونات الجنسية الستيرويدية التي يشفرها جين NR5A في المبيض .

المصادر العربية

العلوجي ، صباح ناصر(2014)، هرمونات الغدد الصم و الغدد التناسلية ، دار الفكر للطابعة و النشر و التوزيع ، عمان ، الاردن.

فريحات، حكمت عبد الكريم (2000) ، تشريح جسم الإنسان ، دار الشروق للطباعة و النشر و التوزيع ، عمان ، الاردن .

كاظم، قصي محسن(2014)، أثير الحوامض والانزيمات في مصول مرضى متلازمة تكيسات المبيض، كلية الطب ، جامعة بابل.

المصادر الاجنبية

***Abdollahi, AA.**, Qorbani, M.; Salehi, A.; and Mansourian, M. (2009). ABO Blood Groups Distribution and Cardiovascular Major Risk Factors in Healthy population. Iranian J Publ Health.; 38(3):123-26*

***Abdollahi,**E.; Tavasolian,F.; Ghasemi,N.; Vakili, M.;and Amini, A.(2013) The effect of parental ABO blood group on fetal surveillance.Iran J Ped Hematol Oncol. 3(4): 154–158.*

***Adashi,** EY**.;**Hsueh, AJ.; and Yen, SS(1981). Insulin enhancement of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone release by cultured pituitary cells. Endocrinology;108(4):1441–1449. [PubMed]*

***Agarwal,** A.; Gupta, S., Sekhon, L.; and Shah, R.(2008). Redox considerations in female reproductive function and assisted reproduction: from molecular mechanisms to health implications. Antioxidants & Redox Signaling. ;10:1375–1403. doi: 10.1089/ars.2007.1964. [PubMed] [CrossRef]*

Aggarwal, BB**.;** Sung, B.(2011)NF-kappaB in cancer: a matter of life *and* death. Cancer Discov.;1(6):469–71. Epub 2012/05/16. [PMC free article] [PubMed]

Alexandra, R.; Herbert, D.; Thomas, N.;and William, B. (2009) Blood groups and malaria: fresh insights into pathogenesis and identification of targets for intervention. CurrOpinHematol.;16(6):480- 87

Al-Gubory, K. H.; Fowler, P. A.; and Garrel, C.(2010). The roles of cellular reactive oxygen species, oxidative stress and antioxidants in pregnancy outcomes. The International *Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2010;42:1634–1650. doi: 10.1016/j.biocel..06.001. [PubMed] [CrossRef]*

Al-kataan, **MA**.; Ibrahim, MA.; Al-jammas, MHH.; Shareef ,YS.; and Sulaiman, MA. (2010) Serum Antioxidant Vitamins Changes in Women with Polycystic Ovarian Syndrome. J Bahrain Med Sci. ;22:68–71.

Al-Omar, M. A. ; Beedham,C. and Alsarra, I. A.(2004). Pathological roles of reactive oxygen species and their defence mechanisms. Saudi Pharmacentical ,12: 1-18.

Anstee, DJ. *(2010) The relationship between blood groups and disease. Blood. ;115:4635–4643. doi: 10.1182/blood-2010-01-261859. [PubMed] [Cross Ref]*

Asuncion, M*.; Calvo, RM.; San Millan, JL.; Sancho, J.; Avila, S.; and Escobar-Morreale, HF. (2000)A prospective study of the prevalence of the polycystic ovary syndrome in unselected Caucasian women from Spain. J Clin Endocrinol Metab. Jul;85(7):2434-8.*

Azziz , R.; Carmina, E.; Dewailly ,D.; et al. (2006) Position statement: criteria for defining polycystic ovary syndrome as a predominantly hyperandrogenic syndrome: an androgen excess society guideline. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.;91(11):4237–4245. [PubMed]

Avila, J.; Gonzalez-Fernandez, R.; Rotoli, D.; Hernandez ,J.; and Palumbo, A. (2016) Oxidative stress in granulosa-lutein cells from in vitro fertilization patients. Reproductive Sciences. ;23:1656–1661. doi: 10.1177/1933719116674077. *[PubMed] [CrossRef]*

Azziz, **R.;** Woods, KS.; Reyna, R.; Key, TJ.; Knochenhauer, ES.; and Yildiz ,BO. (2004)The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population. J Clin Endocrinol Metab. Jun;89(6):2745-*9.*

Baerwald, *A. R.; Adams, G. P.;& Pierson, R. A. (2012). Ovarian antral folliculogenesis during the human menstrual cycle: a review. Human reproduction update, 18(1), 73-91. Retrieved from http://humupd.oxfordjournals.org/content/ 18/1/73.full.pdf+html*

Balen, A.; *(2007) Reproductive Endocrinology for the MRCOG and Beyond. 2nd ed. London: RCOG Press.*

***Barros**, A. I. R. N. A.; Nunes, F. M. ; Gonçalves, B. ; Bennett, R. N. and Silva, A.P.(2011). Effect of cooking on total vitamin C contents and antioxidant activity of sweet chestnuts (Castanea sativa Mill.). Food Chem. 128(1) : 165–172.*

***Bahorunt**, T. ; Soobrattee, M. ; Luximon, V. and Romma, O. (2006). Free radicals and antioxidants in cardiovascular health and disease. Inter J Med. 1(2): 25-41*

***Baud**, V., and M. Karin. 2001. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. Trends Cell Biol. 11:372-377. CrossRefMedlineGoogle Scholar*

***Baud, V.;** Karin, M. 2009.Is NF-kappaB a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls. Nat Rev Drug Discov. ;8(1):33–40. Epub 2009/01/01. [PMC free article] [PubMed]*

***Beckmann, MW.** & Mueller, A. (2007) .Low sex hormone-binding globulin as a predictive marker for insulin resistance in women with hyperandrogenic syndrome. Eur J Endocrinol 157(4): 499-507.*

***Behl, R..;** Pandey, R. S. 2002.FSH induced stimulation of catalase activity in goat granulosa cells in vitro. Animal Reproduction Science. ;70:215–221. doi: 10.1016/s0378-4320(02)00006-4.* [PubMed] [CrossRef]

***Behrman, H. R**.; Aten, R. F. 1991.Evidence that hydrogen peroxide blocks hormone-sensitive cholesterol transport into mitochondria of rat luteal cells. Endocrinology. ;128:2958–2966. doi: 10.1210/endo-128-6-2958.*[PubMed] [CrossRef]

***Belanger**, **C**.; LuuThe, V.; Dupont, P.; Tchernof ,A. 2002. Adipose tissue intracrinology: potential importance of local androgen/estrogen metabolism in the regulation of adiposity. Horm Metab Res; 34:737- 745*

***Benhar**, M.;D. Engelberg, and A. Levitzki. 2002. ROS, stress-activated kinases and stress signaling in cancer. EMBO Rep. 3:420-425*

***Berek ,** JS.; ed. Berek; and Novak's. 2007.Gynecology. 14th ed: Lippincott Williams & Wilkins;*

Binder, *H.;* Flegel , *WA.; Emran ,J.; Muller, A.; Dittrich, R.; Beckmann, MW.; Zingsem, J.; Eckstein, R.; Ringwald ,J. 2008.Association of blood group A with early-onset ovarian hyperstimulation syndrome. Transfus Clin Biol b;15:395–401.*

Biswas, P. K.; Ghoshal, B. ; Halder, and N. Mandal. 2013. “Distribution of ABO blood group and major cardiovascular risk factors with coronary heart disease,” BioMed Research International, vol., pp. 1–5, 2013. View at Publisher • View at Google Scholar • View at Scopus

***Blaustein, A**.; Kurman, R. 2002.Blaustein's pathology of the female genital tract. 5th ed. Kurman R, editor. New York: Springer;*

Block, C. *; Dietrich, M. ; Norkus, E. ; Morrow, J. and Poker, L.(2002). Factors associated with oxidative stress in human populations. Amer. J. Epidermal. 156(3): 274-278*

Brothers, *KJ.;**Wu. S. DiVall SA, et al. 2010.Rescue of obesity-induced infertility in female mice due to a pituitary-specific knockout of the insulin receptor. Cell Metab. ;12(3):295–305.* [PMC free article][PubMed]

Bryzski ,RG.; Knudston ,J. 2013. Female Reproductive Endocrinology. In: MSD Manual [Internet]. Kenilworth, NJ, USA: Merck and Co., Inc

Burt *Solorzano, CM.;* *Beller, JP.; Abshire ,MY.; Collins, JS.; McCartney, CR.; Marshall, JC. 2012. Neuroendocrine dysfunction in polycystic ovary syndrome. Steroids.;77(4):332–337. [PMC free article] [PubMed]*

Bulkley, *G. B. (1983). The role of oxygen free radicals in human disease processes. Surgery, 94(3): 407- 411*

Burger, *HG.; Hale, GE.; Dennerstein ,L.; Robertson, DM. 2008. Cycle and hormone changes during perimenopause: the key role of ovarian function. Menopause. Jul-Aug;15(4 Pt 1):603-612*

Caglar, G. S.; Asimakopoulos, B.; Nikolettos, N.; Diedrich, K.; & Al-Hasani, S. (2005). Recombinant LH in ovarian stimulation. Reproductive biomedicine online,10(6), 774-785. Retrieved from http://ac.els-cdn.com/S1472648310611236/1-s2.0-S147 2648310611236-main.pdf?_tid=119ec44e-a257-11e2-ba18-00000aab0f6b &acdnat=1365650741_cc083067e6a9ce33ea0fbc64c94a4fdf

***Calvo, RM**.; Asunción, M.; Tellería, D.; Sancho, J.; San Millán ,JL.; Escobar-Morreale ,HF. 2001.Screening for mutations in the steroidogenic acute regulatory protein and steroidogenic factor-1 genes, and in CYP11A and dosage-sensitive sex reversal-adrenal hypoplasia gene on the X chromosome, gene-1 (DAX-1), in hyperandrogenic hirsute women. J Clin Endocrinol Metab. ;86(4):1746–1749. [PubMed]*

Chand, AL.*;* *Harrison, CA.; Shelling, AN. (2010) Inhibin and premature ovarian failure. Hum Reprod Update 16: 39–50.View Article Google Scholar*

***Cheung, LP**. 2008.Polycystic ovary syndrome: not only a gynaecological disease. J Paediatr Obstet Gynaecol (May/Jun):125-31.*

Chiu, KC.; *Chu, A.; Go VL.; Saad ,MF. 2004 Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction. Am J Clin Nutr. ;79:820–825. [PubMed]*

***Kalro**, BN.; Loucks, TL.; Berga, SL. 2009.Neuromodulation in polycystic ovary syndrome. Obstet Gynecol Clin North Am. 2001;28:35–62. doi: 10.1016/S0889-8545(05)70184-4. [PubMed] [CrossRef]**Cole LA**, Ladner DG, Byrn FW. The normal variabilities of the menstrual cycle. Fertil Steril. Feb;91(2):522-527.*

***Cupisti, S.;** Kajaia, N.; Dittrich,R.; Duezenli, H.; W. Beckmann; M.Mueller A. 2008.Body mass index and ovarian function are associated with endocrine and metabolic abnormalities in women with hyperandrogenic syndrome. Eur J Endocrinol;158(5): 711-9.*

Current,S.(2008).Evalution of amenorrhea .fertil.steril,90(5):19-22

Dandona, *P.;* *Thusu, K.; Cook, S.; et al. 1996. Oxidative damage to DNA in diabetes mellitus. Lancet .;347:444–445. Google ScholarCrossrefPubMed*

Daniels, *G.* *2002. Human Blood Groups. 2nd Edition. Oxford: Blackwell Science.*

Day, *B. J.(2009). Catalase and glutathione peroxidase mimics. Biochem. Pharmacol., 77: 285-296.*

***DelRio**, D. ; Stewart, A. J. and Pellegrine, N. (2005). A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. Nutr. Metab. Cardiovasc Dis. 15(4): 316 – 328*

***Denecker**, G., D. Vercammen, W. Declercq, and P. Vandenabeele. 2001. Apoptotic and necrotic cell death induced by death domain receptors. Cell. Mol. Life Sci. 58:356-370. CrossRefMedlineGoogle Scholar*

***Deplewski, D**.; Rosenfield, RL. 2000.Role of hormones in pilosebaceous unit development. Endocr Rev. ;21:363–392. doi: 10.1210/edrv.21.4.0404.[PubMed] [CrossRef]*

***Devin, A**.; Cook, A.; Lin, Y.; Rodriguez, Y.; Kelliher, M.; Liu, Z. 2000.The distinct roles of TRAF2 and RIP in IKK activation by TNF-R1: TRAF2 recruits IKK to TNF-R1 while RIP mediates IKK activation. Immunity. ;12:419–429. [PubMed] [CrossRef]*

Devin, *A.; Y. Lin; and Z. G. Liu. 2003. The role of the death-domain kinase RIP in tumour-necrosis-factor-induced activation of mitogen-activated protein kinases. EMBO Rep. 4:623-627. CrossRefMedlineGoogle Scholar*

***Dhanalakshmi, S**.; Devi, R. S.; Srikumar, R.; Manikandan, S. and Thangaraj, R. (2007). Protective effect Triphala on cold stress-induced behavioral and biochemical abnormalitia in rats. J. Yakugaka Zaasshi, 127(11): 1863-1867.*

***Diamanti-Kandarakis, E**.; Piperi, C. 2005.Genetics of polycystic ovary syndrome: searching for the way out of the labyrinth. Hum Reprod Update;11:631-43.*

***Diamanti-Kandarakis**, E.; Argyrakopoulou, G.; Economou, F.; Kandaraki, E.; Koutsilieris, M. 2008.Defects in insulin signaling pathways in ovarian steroidogenesis and other tissues in polycystic ovary syndrome (PCOS). J Steroid Biochem Mol Biol;109:242-6.*

Diana *Lourenço, B.Sc.; Raja Brauner, M.D., Lin, Ph.D.;Arantzazu, De.; Perdigo, M.D., Ph.D. Georges Weryha; Mihaela Muresan, M.D.Ph.D.; Radia Boudjenah, M.S.; Gil Guerra-Junior, M.D., Ph.D., Andréa T. Maciel-Guerra, M.D., Ph.D.; John, C. Achermann, M.D.; Ken McElreavey, Ph.D.; and Anu Bashamboo, Ph.D. 2009.Th e new england journal of medicine n engl j med 360;12 nejm.org march 19.*

Drake, RL.;Vogl, W.; Mitchell, AWM. 2015.Gray's Anatomy for Students. 3rd ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingston/Elsevier.

Droge, W. 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. Physiol. Rev. 82:47-95. Abstract/FREE Full Text *CrossRefMedlineGoogle Scholar*

Duleba, AJ.; Dokras, A. 2011.Is PCOS an inflammatory process? Fertil Steril.2012;97(1):7–12. doi: 10.1016/j.fertnstert. 11.023. *[PMC free article] [PubMed] [CrossRef]*

Eagleson, CA.; Gingrich, MB.; Pastor, CL.; et al. 2000. Polycystic ovarian syndrome: evidence that flutamide restores sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. ;85(11):4047–4052. *[PubMed]*

Eppig, J. J.; Wigglesworth, K.; and Pendola, F. L. (2002). The mammalian oocyte orchestrates the rate of ovarian follicular development. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **99,** 2890-2894.

Erdogan, R. Zaimoglu Z, Sucu MY, Budak F, Kekec S.J Environ Biol. Applicability of leachates originating from solid-waste landfills for irrigation in landfill restoration projects 2008 Sep;29(5):779-84. PMID:19295082

Eshre, TR.*;* *Group A-SPCW. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. . Fertil Steril 2004;81:19-25.*

Fehring ,RJ.*; Schneider, M.; Raviele, K. 2006.Variability in the phases of the menstrual cycle. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs. May-Jun;35(3):376-384.*

Fenkci, V.; Fenkci, S.; Yilmazer, M.; and Serteser, M. 2003.Decreased *total antioxidant status and increased oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome may contribute to the risk of cardiovascular disease. Fertil Steril;; 80: 123-127.*

Fehring, *RJ.;* *Schneider, M.; Raviele, K. 2006.Variability in the phases of the menstrual cycle. J Obstet Gynecol Neonatal Nurs. May-Jun; 35(3):376-84. [Pubmed] [Crossref]*

Foerster J, *Greer JP, Wintrobe MM. Wintrobe's clinical hematology.C H A P T E R 2 0.Red Cell, Platelet, and White Cell Antigens2014*

Fortune, *J. E.* *1994. Ovarian follicular growth and development in mammals. Biology of Reproduction. ;50:225–232. doi: 10.1095/biolreprod50.2.225.[PubMed] [CrossRef]*

G. Garratty, 2000 .“Blood groups and disease: a historical perspective,” Transfusion Medicine Reviews, vol. 14, no. 4, pp. 291–301,. View at Publisher • View at Google Scholar • View at Scopus

G. Garratty, 2005 “Relationship of blood groups to disease: do blood group antigens have a biological role,”Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social Julio-Agosto, vol. 43, no. 1, pp. 113–121,. *View at Google Scholar*

Gilling-Smith, *C.;* *Story, H.; Rogers, V.; Franks, S. 1997.Evidence for a primary abnormality of thecal cell steroidogenesis in the polycystic ovary syndrome. Clin Endocrinol (Oxf); 47(1):93-99.*

Glueck, C.J., et al., 2003.*Incidence and treatment of metabolic syndrome in newly referred women with confirmed polycystic ovarian syndrome.* Metabolism, 52(7): p. 908-15.

González, F.; Rote, NS.; Minium, J.; Kirwan, JP. 2006. Reactive oxygen species-induced oxidative stress in the development of insulin resistance and hyperandrogenism in polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab; 91(1): 336-40

González, F.;Minium, J.; Rote, NS.; Kirwan, JP. 2005 Hyperglycemia alters tumor necrosis factor-alpha release from mononuclear cells in women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab; 90(9): 5336-42.

Goodman, H. M. (2003). Basic medical endocrinology. (3rd ed., pp. 393-417). Worcester, MA: Academic Press

Gregory, S. J.; & Kaiser, U. B. (2004). Regulation of gonadotropins by inhibin and activin. In Seminars in reproductive medicine (Vol. 22, No. 03, pp. 253-267). Copyright© 2004 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA. Retrieved from *https://www.thieme-connect.com/ ejournals/pdf/10.1055/s-2004-831901.pdf*

Guyton, A. C.; and Hall, J. E. (2006). Textbook of Medical Physiology. (11th ed). Philadelphia: Elsevier Saunders.

Hadley, TG.; Issitt, PD. 1993. Associated biological changes. Transfus Med, 7: 139.

Hanley, *N. A.; Ball, S. G.; Clement-Jones, M.; Hagan, D. M.; Strachan, T.; Lindsay, S.; Wilson, D. I. (1999). Expression of steroidogenic factor 1 andWilms' tumour 1 during early human gonadal development and sex determination. Mechanisms of Development, 87, 175–180.*

Han-Ming Shen.2004.1,2 Yong Lin,1 Swati Choksi,1 Jamie Tran,1 Tian Jin,3 Lufen Chang,4 Michael Karin,4 Jianke Zhang,5 and Zheng-gang Liu1 Molecular And Cellular Biology, July, p. 5914–5922 Vol. 24, No. 13

Harold ; Ellis, (2013). Clinical anatomy : applied anatomy for students and junior doctors *(th ed). Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.ISBN 9781118373767. OCLC 856017698.*

Herzog, AG.; Schachter, SC. (2001) On the association between valproate and polycystic ovary syndrome. Epilepsia 42:311–315

Hoivik, E. A.; Lewis, A. E.; Aumo, L.; & Bakke, M. (2010). Molecular aspects of steroidogenic factor 1 (SF-1). Molecular and Cellular Endocrinology, 315, 27–39

Howell, WM. 2014. HLA and disease: guilt by association. Int J Immunogenet.;41:1–12. doi: 10.1111/iji.12088. *[PubMed] [Cross Ref]*

Huber-Buchholz, MM.; Carey, DG.; Norman, RJ. 1999. Restoration of reproductive potential by lifestyle modification in obese polycystic ovary syndrome: Role of insulin sensitivity and luteinizing hormone. J Clin Endocrinol Metab; 84(4): 1470-4.

Ito, M.; Park, Y.; Weck, J.; Mayo, KE.; Jameson, JL. (2000). Synergistic activation of the inhibin alpha-promoter by steroidogenic factor-1 and cyclic adenosine 3′,5′-monophosphate. Mol Endocrinol 14: 66–81. *[PubMed]*

Jeyasuria, P.; Ikeda, Y.; Jamin, SP.; et al. Cell-specific knockout of steroidogenic factor 1 reveals its essential roles in gonadal function. Mol Endocrinol 2004;18: 1610-9.

Jonard, S.; Dewailly, D. The follicular excess in polycystic ovaries, due to intra-ovarian hyperandrogenism, may be the main culprit for the follicular arrest. Human Reproduction Update. 2004;10(2):107–117. [*PubMed*]

Karin, M.; and A. Lin. 2002. NF-kappaB at the crossroads of life and death. Nat. Immunol. 3:221-227. CrossRefMedlineGoogle Scholar

Kebapcilar, A. G.; Tatar, M. G.; Ipekci ,S. H.; et al. 2014. Cornea in PCOS patients as a possible target of IGF-1 action and insulin resistance. Archives of

Gynecology and Obstetrics. ;290(6):1255–1263. doi: 10.1007/s00404-014-3353-y. [*PubMed] [CrossRef*]

Kazem, Qusay Mohsen (2014), Acids and Enzymes in the Outbreak of Ovarian Tissue Syndrome Patients, Faculty of Medicine, University of Babylon.

Kern, PA.;Ranganathan, S.; Li, C.; Wood, L.; Ranganathan, G. 2001.Adipose tissue tumor necrosis factor and interleukin-6 expression in human obesity and insulin resistance. Am J Physiol Endocrinol Metab;280:E745-E751Sabuncu T, Vural H,

Harma, M. 2001. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. Clin Biochem; 34(5): 407-13

Kelly, C.J.; Lyall, H.; Petrie, J.R.; Gloud, G.W.; Mcconnell, J.; and Satar N. (2005). Low Grade chronic infanmation in women with polycystic ovarian syndrome J.Clin Endochinol & Metol ;86(6):2453-2455

Khan, KA.; Stas, S.; Kurukulasuriya, LR. 2006 Polycystic ovarian syndrome. J Cardiometab Syndr; 1(2): 125,30; quiz 131-2.

Kimothi, S. P. ; and Ghosh, C. P. (2005). Strategies for ameliorating heat stress in dairy animals. Dairy Year book. 371-377.

Lewy, VD.; Danadian, K.; Witchel, SF.; & Arslanian, S. (2001) Early metabolic abnormalities in adolescent girls with polycystic ovarian syndrome. J Pediatr 138(1): 38-44.

Li, D.; Jiao, J.; Zhou, YM.; Wang, XX. (2015). Epigenetic regulation of traf2-and Nck-interacting kinase (TNIK) in polycystic ovary syndrome. Am J Transl Res 7(6): 1152-1160.

Lin, L.; Achermann, JC. 2008. Steroidogenic factor-1 (SF-1, Ad4BP, NR5A1) and disorders of testis development. Sex Dev 2:200–209 *Google Scholar CrossRef Search ADS PubMed*

Liu, Y.; Gold, EB.; Lasley, BL.; Johnson, WO. 2004. Factors affecting menstrual cycle characteristics. Am J Epidemiol. Jul 15; 160(2): 131-40. *[Pubmed] [Crossref]*

Lobo, V. ; Phatak, A. and Chandra, N.(2010). Free radicals and functional foods: impact on human health. Pharmacogn. Rev. 4, 118–126.

Loscertales, MP.; Brabin, BJ. 2006. ABO phenotypes and malaria related outcomes in mothers and babies in The Gambia: A role for histo-blood groups in placental malaria. Malar J, 5: 72.

Lutsenko, E. A.; Carcamo, J. M.; and Golde, D. W. (2002). Vitamin C prevents DNA mutation induced by oxidative stress. J. Biol. Chem. 277: 168-195.

Majdic, G.; Young, M.; Gomez-Sanchez, E.; et al. 2002. Knockout mice lacking steroidogenic factor 1 are a novel genetic model of hypothalamic obesity. Endocrinology. ;143(2):607–614. [*PubMed*]

Mak, T. W.; *and W. C. Yeh. 2002. Signaling for survival and apoptosis in the immune system. Arthritis Res. 4(Suppl. 3):S243-S252. CrossRefMedlineGoogle Scholar*

Maliqueo, M.; et al., 2009.*Adrenal function during childhood and puberty in daughters of women with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab, 94(9): p. 3282-8.

March, WA.; Moore, VM.; Willson, KJ.; Phillips, DI.; Norman, RJ.; Davies, MJ. 2010.The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. Hum Reprod. Feb;25(2):544-51.

Marshall, JC.; McCartney, CR. 2016. Clinical practice. Polycystic ovary syndrome. N Engl J Med;375:54-64

Matkovics, A. (2003). An over view of free radical research. Acta. Bio.J. 47(1): 93-97

McDowell, L.; Wilkinson, R.; Madison, R. and Felix, T.(2007).Vitamins and minerals functioning as antioxidants with supplementation consideration. Florida Ruminant Nutrition symposium, USA.

Mendelson, CR.; Kamat, A. (2007) Mechanisms in the regulation of aromatase in developing ovary and placenta. J Steroid Biochem Mol Biol 106: 62–70. [*PMC free article] [PubMed]*

Mitra, R.; Mishra, N.; Rath, GP. 2014. Blood groups systems. Indian journal of anaesthesia.;58(5):524.

Moon, T. 2014.An Examination of the Relationship of ABO Blood Group and Lifespan in a Hospitalized Population in the Southeastern United States. p. Paper 3348. (VCU Theses and Dissertations).

Moran, LJ.; Noakes, M.; Clifton, PM.; Tomlinson, L.; Galletly, C.; Norman, RJ.2003. Dietary composition in restoring reproductive and metabolic physiology in overweight women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab; 88(2): 812-9.

Naresh, K.; Mahathi, N.; Vishnu, R.; Gopal, K. 2010. Association of ABO blood groups with Chikungunya virus. Virology Journal.;7:140-46

Nejat, EJ.; Jindal, S.; Berger, D.; Buyuk, E.; Lalioti, M.; Pal, L. 2011.Implication of blood type for ovarian reserve. Hum Reprod. Sep; 26(9):2513-7. PMID: 21708793 DOI: 10.1093/humrep/der199

Nestler, JE.; Powers, LP.; Matt, DW.; et al. 1991.A direct effect of hyperinsulinemia on serum sex hormone-binding globulin levels in obese women with the polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab; 72(1): 83-9_Kajaia N, Binder H, Dittrich R, Oppelt PG, Flor B, Cupisti S,

Noori, S. (2012). An overview of oxidative stress and antioxidant defensive system. Sci. Rep., 1(8):413-422.

Norman, RJ.; Dewailly, D.; Legro, RS.; Hickey, TE. 2007. Polycystic ovary syndrome. Lancet. Aug 25;370(9588):685-97

Norman, RJ.; Masters, L.; Milner, CR.; Wang, JX.; Davies, MJ. 2001.Relative risk of conversion from normoglycaemia to impaired glucose tolerance or non-insulin dependent diabetes mellitus in polycystic ovarian syndrome. Hum Reprod; 16(9): 1995-1998.

Nydegger, UE.; Wuillemin, WA.; Julmy, F.; Meyer, BJ.; Carrel, TP. 2003. Association of ABO histo-blood group B allele with myocardial infarction. Eur J Immunogenet, 23: 201-230.

Odajima, N.; Betsuyaku, T.; Nagai, K.; Moriyama, C.; Wang, D.; Takigawa, T.; Ogino, K. and Nishimura, M. (2010). The role of catalase in pulmonary fibrosis. Respir. Res., 11: 183.

O'Donnell, JS.; Lasffan, MA.; 2001. The relationship between ABO histo-blood group, factor VIII and von Willebrand factor. Transfusion Medicine, 11: 343– 35 1.

Palomba, S.; et al., 2015. Pregnancy complications in women with polycystic ovary syndrome. Hum Reprod Update,. 21(5): p. 575-92.

Parshad R. K., Guraya S. S. Changes in catalase activity during follicular growth, atresia and luteinization in rat ovary. Indian Journal of Experimental Biology. 1993;31:109–111. [PubMed]

Pastor, CL.; Griffin-Korf, ML.; Aloi, JA.; Evans, WS.; Marshall, JC. 1998 Polycystic ovary syndrome: Evidence for reduced sensitivity of the gonadotropin-releasing hormone pulse generator to inhibition by estradiol and progesterone. J Clin Endocrinol Metab; 83(2): 582-90.

Parker, KL.; Rice, DA.; Lala, DS.; Ikeda, Y.; Luo, X.; et al. (2002) Steroidogenic factor 1: an essential mediator of endocrine development. Recent Prog Horm Res 57: 19–36. [*PubMed*]

Pasquali, R., A.; Gambineri; and U. Pagotto. 2006. The Impact of Obesity on Reproduction in Women with Polycystic Ovary Syndrome. BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology; 113(10): 1148-1159.

Patel, K.; Coffler, MS.; Dahan, MH.; Malcom, PJ.; Deutsch, R.; Chang, RJ. 2004 Relationship of GnRH-stimulated LH release to episodic LH secretion and baseline endocrine-metabolic measures in women with polycystic ovary syndrome. Clinical Endocrinology. ;60(1):67–74. [*PubMed*]

Pelusi, C.; Ikeda, Y.; Zubair, M.; Parker, KL.; (2008) Impaired follicle development and infertility in female mice lacking steroidogenic factor 1 in ovarian granulosa cells. Biol Reprod 79: 1074–1083. [*PMC free article] [PubMed*]

Pham-Huy, L. A. ; He, H. and Pham-Huy, C.(2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. Int. J. Biomed. Sci. 4(2): 89-99.

P. J. D'Adamo; and P. D'Adamo. 2002Eat Right 4 Your Type, Century, New York, NY, USA.

Piotrowski, P.; Rzepczynski, I.; Kwintkiewicz, J.; Duleba, A. 2005. Oxidative stress induces expression of CYP11A, CYP17, STAR and 3BHSD in rat theca interstitial cells. J Soc Gynecol Investig; 320A.

Puthpongsiriporn, U.; Scheideler, S. E.; Sell, J. L. and Beck, M. M. (2001). Effects of vitamin E and C supplementation on performance, in vitro lymphocyte proliferation, and antioxidant status of laying hens during heat stress. J. Poult. Sci., 80: 1190-1200.

Puvadolpirod, S.; and Thaxton, J. P. (2000). Model of physiological stress in chickens 2. Dosimetry of adrenocorticotropin. J. Poult. Sci. 79: 370-376.

Qin, J.Z., et al., 2013. *Obstetric complications in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis.* Reprod Biol Endocrinol,. 11: p. 56.

Quinkler, M.; Sinha, B.; Tomlinson, JW.; Bujalska, IJ.; Stewart, PM.; Arlt, W. 2004.Androgen generation in adipose tissue in women with simple obesity - a site- specific role for 17β- hydroxysteroid dehydrogenase type 5. J Endocrinol; 183:331- 342

R. Afoakwah; E. Aubyn; J. Prah; E. K. Nwaefuna; and J. N. Boampong, 2016 ."Relative susceptibilities of ABO blood groups to Plasmodium falciparum malaria in Ghana," Advances in Hematology, vol., Article ID 536979, 4 pages, 2016. View at Publisher • View at Google Scholar • View at Scopus

Raha, S.; and B. H. Robinson. 2001. Mitochondria, oxygen free radicals, and apoptosis. Am. J. Med. Genet. 106:62-70. CrossRefMedlineGoogle Scholar

Rahman, K.(2007). Studies on free radicals, antioxidants and co-factors. Clin. Interv. Aging. 2(2): 219–236.

Raison, CL.; Capuron, L.; Miller, AH. 2006. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression. Trends Immunol;27:24-31.

Rahul Pal1. *Pratik Kumar Chatterjee2, Poulomi Chatterjee3, Vinodini NA2, Prasanna Mithra4, Sourjya Banerjee5, Suman VB2, Sheila R. Pai2

R. Aly; A. Yousef; and O. Elbably. 2014. "Association of ABO blood group and risk of breast cancer," Journal of Blood Disoders and Transfusion, vol. 5, no. 9, pp. 1–4, 2014. View at Google Scholar Int J Med Res Health Sci.;3(3):604-609

R. M. Touyz. 2005. "Molecular and cellular mechanisms in vascular injury in hypertension: role of angiotensin II," Current Opinion in Nephrology and Hypertension, vol. 14, no. 2, pp. 125–131, View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus

Rasoul, G.; Ghoreishian, M.; Movahedian, B.; Roozbehi, A. 2008. The association between blood groups and maxillofacialmdeformities. Indian J Plast Surg, 41(2): 1 38 -1 40.

Ratnam, D. V. ; Ankola, D. D. ; Bhardwaj, V. ; Sahana, D. K. and Kumar, N.M.V.R.(2006). Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: a pharmaceutical perspective. J. Control Release, 113(3): 189–207.

Recabarren, S.E., et al., 2008.Metabolic profile in sons of women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab, 93(5): p. 18206

Reid, ME.; Bird, GW. 1990. Associations between human red cell blood group antigens and disease. Transfusion Medicine Reviews, 4: 47–55.

Fertility and Sterility, 2004. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. 81(1): p. 19-25

Fertil Steril. 2004 Rotterdam, ESHRE/ASRM-Sponsored, PCOS, Consensus, Workshop, Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. Jan;81(1):19-25

Roland, A.V.; and S.M. Moenter. 2011. Prenatal androgenization of female mice programs an increase in firing activity of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neurons that is reversed by metformin treatment in adulthood. Endocrinology,. 152(2): p. 618-28.

Rosenfield,RL. 1997.Current concepts of polycystic ovary syndrome. Baillieres Clin Obstet Gynaecol; 11(2): 307-33.

royano, A.; P. Sancho; C. Fernandez; E. de Blas; P. Bernardi; and P. Aller. 2003. The selection between apoptosis and necrosis is differentially regulated in hydrogen peroxide-treated and glutathione-depleted human promonocytic cells. Cell Death Differ. 10:889-898. CrossRefMedlineGoogle Scholar

Sabuncu, T.; Vural, H.; Harma, M.; Harma, M. 2001. Oxidative stress in polycystic ovary syndrome and its contribution to the risk of cardiovascular disease. Clin Biochem.;34:407-13

Sakon, S.; X. Xue; M. Takekawa; T. Sasazuki; T. Okazaki; Y. Kojima; J. H. Piao; H. Yagita; K. Okumura; T. Doi; and H. Nakano. 2003. NF-kappaB inhibits TNF-induced accumulation of ROS that mediate prolonged MAPK activation and necrotic cell death. EMBO J. 22:3898-3909. *Abstract*

Sarma, H. N.; Manikkam, M.; Herkimer, C.; Dell'orco, J.; Welch, K.B.; Foster, D. L.; & Padmanabhan, V. 2005. Fetal programming: excess prenatal testosterone reduces postnatal luteinizing hormone, but not follicle-stimulating hormone responsiveness, to estradiol negative feedback in the female. Endocrinology, 146**,** 4281-91.

Shapiro, M.; Bressler, L. 2014.Blood type correlates with egg reserve in infertile women, October 18,. Available *from www.2minutemedicine.com/blood-type-correlates-with-egg-reserve-in-infertile-women/ (Last accessed April 15, 2016)*

Shaw, LJ.; Bairey; Merz, CN.; Azziz ,R.; Stanczyk, FZ.; Sopko, G.; Braunstein, GD.; Kelsey, SF.; Kip, KE.; Cooper-Dehoff, RM.; Johnson, BD.; Vaccarino, V.; Reis, SE.; Bittner, V.; Hodgson, TK.; Rogers, W.; & Pepine, CJ. (2008). Postmenopausal women with a history of irregular menses and elevated androgen measurements at high risk for worsening cardiovascular event-free survival: results from the National Institutes of Health--National Heart, Lung, and Blood Institute sponsored Women's Ischemia Syndrome Evaluation. J Clin Endocrinol Metab 93(4): 1276-1284.

Schoonbroodt, S.; and J. Piette. 2000. Oxidative stress interference with the nuclear factor-kappa B activation pathways. Biochem. Pharmacol. 60:1075-1083. *CrossRefMedlineGoogle Scholar*

Schuring, AN.; Schulte, N.; Sonntag, B.; Kiesel, L. 2008. Androgens and insulin--two key players in polycystic ovary syndrome. recent concepts in the pathophysiology and genetics of polycystic ovary syndrome. Gynakol Geburtshilfliche Rundsch; 48(1): 9-15.

Schwitalla, S.; Fingerle, AA.; Cammareri, P.; Nebelsiek, T.; Goktuna, SI.; Ziegler, PK.; et al. 2013. Intestinal tumorigenesis initiated by dedifferentiation and acquisition of stem-cell-like properties. Cell. ;152(1–2):25–38. Epub 2013/01/01. *[PubMed]*

Sekhon, LH.; Sajal, G.; Yesul, K.; Ashok, A. 2010. Female Infertility and Antioxidants. Curr Women's Health Rev. ;6:84–95

Shechter, A.; Boivin, DB. 2010. Sleep, Hormones, and Circadian Rhythms throughout the Menstrual Cycle in Healthy Women and Women with Premenstrual Dysphoric Disorder. Int J Endocrinol:259345

Shoham, Z. (2002). The clinical therapeutic window for luteinizing hormone in controlled ovarian stimulation. Fertility and sterility, 77(6), 1170. Retrieved from *http://ac.els-cdn.com/S0015028202031576/1-s2.0-S0015028202031576-mai* pdf_tid=9fd61e18-9c9b-11e2-9991-00000aab0f6c&acdnat=1365020479_6b01b850eaaea290a1fdb0ad00f868c0

Slatter, D. A. ; Botton, C. H. and Bailey, A. J.(2000). The importance of lipid-derived malondialdchyde in diabetes mellitus. Diabetologia, 43(5): 550-557.

Slayden, SM.; Moran, C.; Sams, WM. Jr. ; Boots, LR.; Azziz, R.2001. Hyperandrogenemia in patients presenting with acne. Fertil Steril; 75(5): 889-92.

Siti H. N.; Kamisah, Y.; Kamsiah, J. 2015.The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review) Vascular Pharmacology. ;71:40–56. doi: 10.1016/j.vph.2015.03.005.[*PubMed] [CrossRef*]

Sir-Petermann, T.; et al., 2009. Metabolic and reproductive features before and during puberty in daughters of women with polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab, 94(6): p. 1923-30

Stein, I.; Leventhal, M. 1935. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. Am J Obstet Gynecol.;29:181-91.

Storry ,JR.; Olsson, ML. 2009.The ABO blood group system revisited: a review and update. Immunohematology. ;25:48–59. [*PubMed*]

Taylor, AE.; McCourt, B.; Martin, KA.; Anderson, EJ.; Adams, JM.; Schoenfeld, D.; Hall, JE. *1997* Determinants of Abnormal Gonadotropin Secretion in Clinically Defined Women with *Polycystic Ovary Syndrome. J Clin Endocrinol Metab; 82:2248- 2256*

Teede, H.; Hutchison, S.; Zoungas, S.; Meyer, C. 2006. Insulin resistance, the metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease risk in women with PCOS. Endocrine; 30: 45- 53.

Timberlake, KS.; Foley, KL.; Hurst, BS.; Matthews, ML.; Usadi, RS.; Marshburn, PB. 2013. Association of blood type and patient characteristics with ovarian reserve. Fertil Steril. Dec; 100(6):1735-9. PMID: 24055049 DOI: 10.1016/j.fertnstert.2013.08.027

Tosi, F.; Negri, C.; Perrone, F.; et al. 2012. Hyperinsulinemia amplifies GnRH agonist stimulated ovarian steroid secretion in women with polycystic ovary

syndrome. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. ;97:1712–1719. [PubMed]

Urakawa, H.; Katsuki, A.; Sumida, Y.; et al. 2003. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. J Clin Endocrinol Metab; 88(10): 4673-6.
.

Valko, M. ; Izakovic, M. ; Mazur, M. ; Rhodes, C. J. and Telser, J.(2004). Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. Mol. Cell. Biochem. 266(1-2): 37–56.

Verit, FF.; Erel, O. 2008. Oxidative stress in non-obese women with polycystic ovary syndrome: correlations with endocrine and screening parameters. Gynecol Obstet Invest.; 65:233-9.

Vrbikova, J.; et al., 2008.Incretin levels in polycystic ovary syndrome. Eur J Endocrinol,. 159(2): p. 121-7.

Wallace, IR.; McKinley, MC.; Bell, PM.; & Hunter SJ (2013) Sex hormone binding globulin and insulin resistance. Clin Endocrinol (Oxf) 78(3): 321-329.

Wang, ZW.; Hamilton-Brehm, SD.; Lochner, A.; Elkins, JG.; Morrell-Falvey, JL. (2011). Mathematical modeling of hydrolysate diffusion and utilization in cellulolytic biofilms of the extreme thermophile *Caldicellulosiruptor obsidiansis*. Bioresour Technol 102: 3155-3162

Wild *BJ, Green BN, Cooper EK, Lalloz MR, Erten S, Stephens AD, Layton* DM.*Blood Cells Mol Dis. 2001 Rapid identification of hemoglobin variants by electrospray ionization mass spectrometry May-Jun;27(3):691-704. PMID: 11482884*

Williams ,SM.; Addy, JH.; Phillips, JA.; Dai, M.; Kpodonu, J.; Afful, J.; Jackson, H.; Joseph, K. 2000. Combinations of variation in multiple genes are associated with hypertension. Hypertension, 36: 2-11.

Wiksten-Almstromer, M.; Hirschberg, AL.; & Hagenfeldt, K. (2008). Prospective follow-up of menstrual disorders in adolescence and prognostic factors. Acta Obstet Gynecol Scand 87(11): 1162-1168.

Williams, SA.; Stanley, P. 2009. Oocyte-specific deletion of complex and hybrid N-glycans leads to defects in preovulatory follicle and cumulus mass development. Reproduction;137:321–331.

Yamamoto, F. 2003. Review: ABO blood group system--ABH oligosaccharide antigens, anti-A and anti-B, A and B glycosyltransferases, and ABO genes. Immunohematology/American Red Cross.;20(1):3-22.

Yang, Y.; Qiao J.; Li R.; Li M.-Z. 2011. Is interleukin-18 associated with polycystic ovary syndrome? *Reproductive Biology and Endocrinology*. ;9(1, article 7) doi: 10.1186/1477-7827-9-7. [*PMC free article][PubMed] [CrossRef*]

Yilmaz, N.; Hancerliogullari, N.;Coskun, B.; Inal, HA.; Fenkci, V. 2015. Is there any relationship between ABO and Rh blood group type on ovarian reserve and assisted reproductive technique outcomes in Turkish women? Poster presented at the 21st Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility (COGI) Congress; Guilin, China, May 7-10.

Yong, Su.; Gui-Lian Kong; Ya-Li, Su.; Yan Zhou; Li-Fang, Lv.; Qiong; Wang; Bao-Ping Huang; Rui-Zhi Zheng; Quan-Zhong, Li.; Hui-Juan Yuan; And Zhi-Gang Zhao. 2015. Experimental And Therapeutic Medicine 9: 2325-2330,

Zhang, D.; Luo, WY.; Liao, H.; Wang, CF.; Sun, Y. 2008. The effects of oxidative stress to PCOS. Sichuan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban; 39(3): 421-3.

Zhao, ZJ.; Ren, HY,; Yang, F.; et al2015. Expression, correlation, and prognostic val¬ue of TRAF2 and TRAF4 expression in malignant plural effusion cells in hu¬man breast cancer. Diagn Cytopathol,; 43: 897–903

ملحق1

استمارة معلومات للمصابات

الاسم.....

العمر.....

الطول.....

الوزن.....

انتظام الدورة الطمثية.....

الشعرانية.....

الخصوبة و الحبوب.....

Abstract

The present study has been carried out at the Department of biology Science , biology college , Al-Qadisiyah University and the Women's and Educational Children's Hospital in the city of Diwaniyah to determine the The relationship between genes TRAF2 and NR5A for ABO and some hormonal and biochemical parameters in women with polycystic ovaries(PCOS). Collected (57) from Women with PCOS were followed by observation of some clinical signs , In addition to confirming the results of ultrasonic ultrasound tests, the group of women infected with PCOS was divided into four subgroups according to the type of blood type , The group consisted of (8) Blood A and (21) sample Of the blood group B, (7) of the AB blood group and 21 of the blood group O. 30 samples of the non-polycystic ovarian syndrome were selected. They did not suffer from chronic diseases and were considered a control group to measure the level the activity of Catalase enzyme (CAT) and concentration levels of malondialdehyde MDA by using the Spectrophotometer , the level of the follicle stimulating hormone and the Luteinizing hormone using the Mini vidas, and evaluated the genetic expression of TRAF2 and NR5A1 genes by using RT-qPCR technology and compared with the non-polycystic ovarian syndrome group.

The current results showed an increase in the percentage of polycystic ovary disease in both O and B compared with A and AB, while AB and O showed significant increases in the menstrual irregularity, the hirsutism and the acne

The results of the oxidative stress indicators showed a significant decrease in the efficacy of catalase and a significant increase in the level of the MDA in women with PCOS compared to women in the control group ,and a decrease in the activity of the enzyme CAT and an increase in the level of MDA were more in the blood group O compared with the other blood group.

The study also showed a decrease in the level of FSH in women with PCOS compared to women in the control group and the increase of of LH level was more in AB blood group of women with PCOS compared with the other blood groups.

On the other hand, the results of the molecular study showed a significant increase in the expression of gene TRAF2 and NR5A in women with polycystic ovary syndrome compared to the control group. The significant increase in the level of gene expression of TRAF2 in women with PCOS was higher in O group of women with PCOS than that of other blood groups .While the significant

increase in gene expression of NR5A was in AB blood group of women with PCOS compared with other blood groups

The statistical analysis reported negative linear relationship between level of gene expression of TRAF2 and NR5A with both the activity of the catalase enzyme and the level of FSH hormone. The results showed a significant positive correlation between the level of gene expression of TRAF2 and NR5A with both the MDA and LH levels.

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education & Scientific Research
University of Al-Qadisiya
College of Science
Department of Biology

Investigation of the relationship between genes nuclear receptor 5a1 and tumor necrosis factor receptor associated factor2 of abo group and some hormonal and biochemical parameters in women with polycystic ovarian syndrome

A Thesis

Submitted to council of the College of Science

University of AL-Qadisiya In partial fulfillment of the Requirements for the degree of Master science

In

Biology / Zoology

By

Rajwan Jawad Hassan Al - Obeidi

B.S.c. 2015

University of Al-Qadisiya- College of Science

Supervised by

Assistant professor

Dr. Alaa Mohammad Hasson

1440/ Jumada II **2019/ February**