ارتباط تعدد اشكال الجينCYP17 مع متلازمة تكيس المبايض PCOS لدى نساء محافظة صلاح الدين/ العراق

Plymorphism of CYP17 for Polycystic Ovarian Syndrome in Women of Salah Al-Din Provence/ Iraq

هديل عبد الهادي عمير عادل فوزي شهاب* عقيل حسين العاصي*
كلية العلوم/ جامعة الموصل
كلية العلوم/ جامعة تكريت*
Hadeel Abdulhadi Omear Adil fauzy Shehab* Akeel Husain Al-Assie*
Collage of Science/ Mosul University
Collage of Science/ Tikrit University*

المستخلص

يعتبر جين CYP17 المفتاح في المسار الايضي للستيرويدات الجنسية اذ يشفر للانزيميين 17-الفا هيدروكسليز و 17،20 لاييز واللذين يلعبان دوراً مهماً في انتاج الهرمونات الستيرويدية الجنسية . تضمنت الدراسة الحالية معرفة علاقة هذا الجين مع متلازمة تكيس المبايض PCOS للنساء في سن الانجاب والناتج من خلل هرموني . تم جمع عينات الدم من مجموعتين من النساء المجموعة الاولى تتكون من 98 إمرأة مصابة بمتلازمة تكيس المبايض والمجموعة الثانية تتكون من 25 إمرأة سليمة للكشف عن وجود الطفرة ضمن هذا الجين و من ثم حساب التكرار الاليلي للا ليل الطافر والبري لهذا الجين و تكرار الانماط الوراثية لدى المصابات ومقارنتها مع السليمات ، كما تم حساب معامل كتلة الجسم BMI للمجوعتين و قياس مستوى الهرمونات الجنسية (LH, FSH, Prolactin, Testosterone) لدى المجموعتين وقد اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بين المريضات والسليمات في BMI ومستوى هرموني (LH, Prolactine) عند مستوى معنوية 0.05 بينما لم تظهر اي فروق معنوية لهرموني (FSH, Testostern) بين المجوعتين عند نفس المستوى . كما تم الحصول على ثلاثة انماط وراثية هي متماثل الزيجة بري TT، مختلف الزيجة TC و متماثل الزيجة الطافر CC وقد بلغ التكرار الاليلي للاليل T لدى النساء المريضات o.55 وهو اقل بكثير من التكرار لنفس الاليل لدى النساء السليمات 0.82 في حين كان التكرار الاليلي C لدى النساء المريضات 0.44 وهو اكثر من ضعف ما في النساء السليمات 0.18 . كما اشارت النتائج الحالية الى عدم ظهور النمط الوراثي CC عند النساء السليمات وظهوره فقط عند النساء المصابات هذا يدل على وجود ارتباط واضح بين هذا الجين ومتلازمة تكيس المبايض اذ يمكن اعتبار الطفرة (C ← T) فيه كمؤشر للمرض .

الكلمات المفتاحية : تعدد اشكال الجين ، PCOS ، CYP17

Abstract

CYP17 gene is the key in the metabolic pathway of sexual steroids, it codes for two enzymes 17–alpha hydroxylase and 17, 20 lyase who play an important role in the production of sex steroid hormones. The current study included study of the relationship of this gene with PCOS women in reproductive age. Blood samples were collected from two groups of women: first group consists of 98 women infected with polycystic ovaries syndrome, the second consists of 25 healthy women to detect the presence of mutation within the gene, then calculate allele frequency of mutant and wild allele for this gene, then repeat genotypes in infected women and compared with healthy once, were calculated body mass index BMI of two groups and measure the level of sex hormones (LH, FSH, Prolactin, Testosterone) in both groups, were the results showed significant differences between patients and healthy women in BMI and the level of hormones (LH, Prolactine) while there is no significant differences in the (FSH, Testosterone) hormone. Three pattern of genotype were obtained: TT, homozygous wild, (TC) much lower than the frequency in the healthy 0.82 while the frequency of allele C among patients 0.44, which is more than double than in healthy 0.18. The current results showed absence CC genotype in healthy women and appeared only in women with PCOS. This monitor the presence of link between this gene and PCOS as may be considered the mutation -34 (T→ C) in the promoter of gene CYP17 marker of the disease.

Key words: PCOS, CYP17, Polymorphism

المقدمة:

تعد متلازمة تكيس المبايض Polycystic Ovarian Syndrom (PCOS) واحدة من اهم امراض الخلل الهرموني التي تصيب 7% من النساء في سن الانجاب [1]. قد اقترحت المنظمة الاوربية لعلم الاجنة والتكاثر البشري European Society of Human Reproduction and Embryology (ESHRE) في اخر لقاء لها مع المنظمة الامريكية للطب والتكاثر American Society for Reproductive Medicine(ASRM) في عام 2003 معايير لتشخيص متلازمة تكيس المبايض وهي وجود اثنان على الاقل من الاعراض التالية في المرأة:

I. قلة او عدم الاباضة
II. علامات سريرية و/او بايوكيميائية لارتفاع الاندروجينات
III. رؤية التكيسات باستخدام جهاز التصوير بالموجات الفوق الصوتية [2] .

تتصف العلامات السريرية المرافقة لمتلازمة تكيس المبايض بالشعرانية hirsutism وحب الشباب Ace واضطرابات الدورة الشهرية Irregular cycle وانعدام الاباضة an ovulation كذلك فان النساء المصابات يعانين من السمنة obesity وخاصة في منطقتي الخصر والبطن بسبب ارتفاع الهرمونات الذكرية 3androgens.

ان الاعراض السريرية والمؤشرات الكيمياحيوية لهذه المتلازمة متباينة فهنالك صعوبة في تحديد المسبب المرضي للمتلازمة . مسارات حيوية متعددة ممكن ان تكون المسبب المرضي لمتلازمة تكيس المبايض وهي تتضمن المسارات الحيوية الايضية والتنظيمية لبناء الهرمونات الستيرويدية [4] والمسارات الحيوية لافراز الانسولين [5] ومسارات تنظيم وزن الجسم [6] ويبدو وبشكل مثير ان اغلب المصابات تعاني من ارتفاع في مستوى افراز الاندروجينات . ولكون الخلل في تنظيم الانزيمات المصنعة للستيرويدات P450c17α والتي تتكون من الانزيمان 17-الفا هيدروكسيليز α- 17 hydroxylase و 20,17 لاييز 17,20-lyaseيلعب دوراً مهماً في ارتفاع الاندروجينات عند النساء المصابات بالـ PCOS 7 لذلك فقد تم دراسة تعدد اشكال جين CYP17 الذي يشفر لهذين الانزيمين حيث ان هذا الجين يقع على الذراع الطويل للكروموسوم رقم 10 في المنطقة 24.3 ويتألف من 8 مناطق تشفير (Exons) [8] ويعبر عن هذا الجين في الغدة الكظرية وخلايا غمد المبيض بالاضافة الى النسيج الخصوي هذا بالاضافة الى اهمية هذا الجين في انتاج الانزيمات التي تكون الاستروجينات حيث تلعب دوراً في تحويل البروجستيرون والبروكننينولين الى اندروجين[9].

ان الطفرة في جين CYP17 T→C عند الموقع -34bpاكتشفت لاول مرة من قبل [10] كطفرة في قاعدة نتروجينية واحدة تظهر تعدد اشكال لهذا الجين SNP تقع في منطقة البادىء Promoter المستنسخة و الغير مترجمة للجين (UTR) وقد اقترح ان هذه الطفرة تسبب زيادة في تعبيرية الجين من خلال زيادة عملية الاستنساخ للجين وبالتالي زيادة الهرمونات الستيرويدة في الدم وظهور اعراض المرض على المرأة[11].

الهدف من هذه الدراسة هو دراسة ارتباط تعدد اشكال الجين CYP17 مع متلازمة تكيس المبايض لكونه الجين المفتاح في المسار الايضي للاستروجينات.

المواد وطرائق العمل:

تم جمع عينات الدم من 98 امرأة مصابة بمتلازمة تكيس المبايض PCOS و 25 امرأة سليمة في سن الانجاب (16-40) في محافظة صلاح الدين للفترة من 1 حزيران الى 1 ايلول 2011اخذت العينات من النساء اثناء الدورة الشهرية اليوم (2-5) حيث تم سحب 10مل من الدم من كل امرأة ثم تقسيمها الى قسمين 2مل من عينة الدم حفظت في انابيب اختبار حاوية على محلول Acid Citric)ACDS Dextrose Solution) كمانع للتخثر وخزنت تحت التجميد الفائق بدرجة (-86 C) لحين استخلاص الـ DNA منها اما عينة الدم المتبقية فقد تم فصل المصل منه لاستخدامه في الفحص الهرموني كما تم ايجاد Body mass Index (BMI) (kgm/m 2) للمريضات وتسجيل معلومات عن كل امرأة من خلال مليء الاستمارة الخاصة بالبحث.

القياس الهرموني:

تم قياس الهرمونات الجنسية للنساء (LH, FSH, Testosterone, Prolactin) وباستخدام جهاز Minividas وعدة الاختبار المجهزة من شركة Biomerieux الالمانية[12]، وحللت نتائج الهرمونات احصائياً باستخدام اختبار T (T-test) وعلى مستوى معنوية 0.05.

التحليل الوراثي:

تم استخلاص الـDNA من دم النساء باستخدام طريقة [13]وتم الكشف عن الطفرة (T→C) في جين CYP17 وايجاد تعدد اشكال هذا الجين باستخدام المؤشر الوراثي RFLP-PCRوذلك من خلال اجراء تفاعلات PCR على عينات الـ DNA وباستخدام البادىء المتخصص التالي :F:5-CATTCGCACTCTGGAGTC-3´وR:5´-AGGCTCTTTGGGGTACTTG-3´ وكانت مكونات التفاعل كالاتي : 10 mMTris-،250µM dNTPs،1U Taq DNA polymerase،10 pmol Primer،50 ng DNA HCl (pH 9.0)، 30 mM KCL، 1.5 mM $MgCl_2$ (Bioneer- PCR PreMix). ثم يتم ادخالها جهاز PCR وبتطبيق البنامج التالي 94°C لمدة 4 دقائق يتبعها 35 دورة تتضمن 94°C لمدة دقيقة 57°C لمدة دقيقة72°C لمدة دقيقة بعدها مرحلة استطالة نهائية 72°C لمدة 7 دقائق وبعد الحصول على قطعة الـ DNA بحجم 459bp يتم تقطيع ناتج التفاعل PCR Product باستخدام الانزيم MspA1I باضافة 5 وحدات من الانزيم لكل عينة والتحضين على درجة 73°C ولمدة ثلاث ساعات بعدها يتم ترحيل ناتج التقطيع على هلام الاكاروز وبنسبة 2% والتصبيغ بصبغة الاثيديوم برومايد سوف تظهر ثلاث انماط وراثية T, TC,CC حسب نمط التقطيع [14].

النتائج والمناقشة:

1- المستويات الهرمونية ومعامل كتلة الجسم:

اظهرت النتائج المبينة في جدول (1) مستويات الهرمونات الجنسية ومعامل كتلة الجسم BMI لدى المريضات ومقارنتها بالسليمات.

جدول (1): المتوسط الحسابي لمستويات الهرمونات ومعامل كتلة الجسم للمصابات بالـPCOSومجموعة السيطرة

parameters	Mean±(SE) PCOS	Mean± (SE) Control
BMI(kg/m^2)	28.6 (0.5)	24.86 (5.02)
FSH (mIU/ml)	6.34 (0.7)	5.69 (0.19)
LH(mIU/ml)	5 (0.6)	3.34 (0.15)
Prolactin(ng/ml)	22.6 (1.7)	16.12 (0.7)
Testosteron(ng/ml)	0.42 (0.17)	0.16 (0.013)

حيث وجد هناك ارتفاعاً في معامل كتلة الجسم لدى المريضات (28.6) مقارنة بالسليمات (24) حيث تركزت السمنة في المناطق المحيطة بالخصر والبطن وقد اشارت المصادر ان ارتفاع الاندروجينات ومنها هرمون الشحمون الخصوي الـ Testosterone يكون له دوراً مهماً في زيادة الوزن نتيجة لزيادة تكوينه من قبل خلايا القراب من المبيض وبالنتيجة احداث السمنة حول منطقة الخصر [3].

كما اظهرت النتائج ارتفاع في مستوى الهرمون اللوتيني LH (5) لدى المريضات مقارنة بالسليمات (مجموعة السيطرة) (3.34) ان ارتفاع مستوى هرمون LH في المريضات كان نتيجة انخفاض مستويات Estrogen , Progesterone حيث ان هذا الهرمون يثبط بوساطة ارتفاع مستويات هذه الهرمونات من خلال الية التغذية الرجعية[15].

اما مستوى هرمون الحفز للجريبات FSH فانه لم يظهر اختلافاً واضحاً بين تركيزه لدى المريضات 6.34 مع مجموعة السيطرة 5.69 حيث انه لم يكن هناك فرقاً معنويا في مستوى هذا الهرمون بين المجموعتين.

اما بالنسبة لهرمون الحليب Prolactine فقد كان مستواه عالياً لدى النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض 22.6 مقارنة بالنساء السليمات 16.12 وقد تكون هذه الزيادة بسبب زيادة تحفيز الخلايا المسؤولة عن انتاجه في الفص الامامي للغدة النخامية وتدعى Lactotrophes مما قد يؤدي الى زيادة افرازه [16].

كما بينت النتائج وجود ارتفاع في مستوى هرمون الشحمون الخصوي لدى النساء المريضات 0.42 مقارنةً بالسليمات 0.16 لكن لم تكن هناك فروقات معنوية بين المجموعتين بالنسبة لمستوى هذا الهرمون.

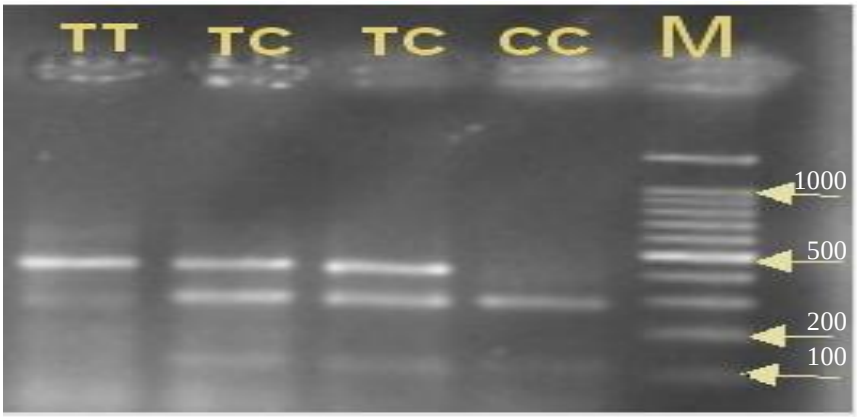
من خلال الدراسة الهرمونية تبين ان هناك فروقات معنوية في BMI ومستوى الهرمونين LH،Prolactine بين المريضات والسليمات ولا توجد فروقات معنوية في مستوى هرموني FSH , Testosterone بين المجموعتين عند مستوى معنوية (0.05).

وان الزيادة المعنوية في مستويات الهرمون اللوتيني مع انعدام وجود فروقات معنوية في الهرمون المحفز للجريب Follicular Stimulation Hormon (FSH) يمكن ان يفسر على اساس وجود اخلال في محور النخامية – تحت المهاد Axis pituitary-hypothalamusمما يؤدي الى زيادة التحرر النبضي للهرمون اللوتيني من تحت المهاد[17].

2- تحديد اشكال الجين CYP17:

ان طفرة الاستبدال C→T التي حصلت في جين CYP17 عند الموقع 34- bp استحدثت موقع قطع للانزيم القاطع *MspA1I* هذا ادى الى كسر قطعة الدنا المتضاعفة بالـPCR والتي حجمها 459bp الى قطعتين 335bp و [14,18,19124bp].

وبما انه هذا الجين يتكون من اليلين لهذا اذا كان الشخص متماثل الزيجة Homozygous غير طافر سوف تظهر حزمة واحدة بعد التقطيع459bp وهو يمثل الطراز الوراثي TTوذلك لانه لاتوجد طفرة تحدث مكان يتعرف عليه الانزيم كي يقطعه شكل (1) اما اذا كان الشخص متباين الزيجة Heterozygous اي يحمل اليل طافر واخر غير طافر سوف تظهر لدينا 3 حزم bp(, 335 , 124 459) ويمثل بالطراز الوراثي TC حيث انه الحزمة 459bp هي للاليل الغير طاف اما الحزمتين bp(335 , 124) هما للاليل الطافر لحدوث قطع بالانزيم اما في حالة كون الشخص يحمل اليلين طافرين فسوف تظهر حزمتين bp (335 , 124) فقط لان الاليلين حدث لهما قطع ويتمثل بالطراز الوراثي CC.



شكل (1): يوضح الطرز الوراثية للطفرة 34bp- للجين CYP17

M: الدليل الحجمي 100bp DNA Ladder

TT: الطراز الوراثي المتماثل الغير طافر، الطراز الوراثي الغير متماثل، CC:الطراز الوراثي المتماثل الطافر

وقد اظهرت نتائج هذا البحث وكما مبينة في جدول (2) ان النسبة المئوية للطراز الوراثي TT للمصابات بالـPCOS 28% بينما في مجموعة السيطرة 64% اما الطراز الوراثي TC فقد بلغت نسبته بالمصابات 54% اما في مجموعة السيطرة فقد بلغت 36% بينما الطراز الوراثي الطافر في الاليلينCC انعدم ظهوره ضمن مجموعة السيطرة وكانت نسبته ضمن مجموعة المصابات 17%.

جدول (2): يوضح العدد والنسب المئوية للطرز الوراثية الثلاث للمصابات بالـPCOS ومجموعة السيطرة

النمط الوراثي	PCO		Control	
	No	%	No	%
TT	28	29	16	64
TC	53	54	9	36
CC	17	17	0	0
Total	98	100	25	100

ان اختفاء الطراز الوراثي المتماثل الطافر من مجوعة السيطرة يدل على اهمية هذا الجين في احداث المرض حيث ان اجتماع اليلين طافرين عند نفس المرأة يؤدي الى الاصابة بالمرض هذا بالاضافة الى انه زيادة نسبة التركيب الوراثي المتماثل الغير الطافر TT لدى السليمات مقارنةً بالمصابات بالتكيس كما اظهرت النتائج ان التردد الاليلي للاليل الغير طافر T كانت لدى المصابات بالتكيس مساوية 0.55 وهي اقل بكثير من ما موجود لدى السليمات 0.82 اما الاليل الطافر C فقد كان تردده لدى المصابات 0.44 وهو اكثر من ضعف تردده لدى ا لنساء السليمات 0.18 هذا يدل على ارتباط الطفرة في هذا الجين بمتلازمة تكيس المبايض وذلك لانه طفرة الاستبدال في الموقع 34- في منطقة الـ Promoter في الجين من الممكن ان تحدث خلل في التنظيم الجيني من خلال تحفيز عملية الاستنساخ للجين او تثبيطها وبالتالي التغير في التعبير الجيني مما يؤثر على الناتج البروتني الانزيمي والذي بدوره يكون احد الانزيمات المهمة في المسار الحيوي التنظيمي للهرمونات الجنسية مما يؤدي الى الاصابة بمتلازمة تكيس المبايض [14]

ان نتائج الدراسة الحالية اتفقت مع الدراسة التي اجراها[18]على المجتمع الهيناني من حيث اختفاء الطراز الوراثي المتماثل الطافر CC من مجموعة السيطرة لكنها لم تتفق معه بنسبة هذا الطراز الوراثي ضمن مجموعة المرضى حيث كانت النسبة في مجتمعنا مساوية 17% وهي اعلى بكثير من ما في المجتمع اليوناني المصاب بالمتلازمة 8%, اما المجتمع الكوري فان نسبة الطراز الوراثي CC فيه كانت 23% ضمن مجموعة السيطرة، اما مجموعة المرضى فقد كانت نسبة هذا الطراز فيه 33% [19] وقد اثبتت الدراسة الحالية ان الاليل الطافر C كان تردده ضمن مجموعة PCOS اعلى من ما في مجموعة السيطرة وهو لا يتفق مع [20] والذي وجد انه لايوجد تغاير كبير في تردد الاليل C بين المرضى والسليمات ، اما [21] والذي اجرى الدراسة على المجتمع الامريكي فقد وجد انه لا يوجد فرق في التردد الاليلي بين المجموعتين.

المصادر

1. Azziz, R., Woods, K.S., Reyna, R., Key, T.S., Knochemhauer, E.S. and Yildiz, B.O. (2004).The prevalence and features of the polycystic ovary syndrome in an unselected population, J.of Clinical Endocrinology and Metabolism.Vol.89: (6). pp. 2745-2749.
2. Unluturk, U., Harmanci, A., Kocaefe, C. and Yildiz, B.O. (2007). The genetic basis of the polycystic ovary syndrome: A literature review including discussion of *PPARγ*. Hindawi Puplishing Corporation. Vol. 207. Pp1-23.
3. الجابري، كاظم محمد سبع . (2010). العلاقة بين بعض الاعراض السريرية وبعض معايير الدم الفسيولوجية والهرمونية والكيموحيوية لدى النساء المصابات بمتلازمة تكيس المبايض. اطروحة دكتوراه. كلية العلوم. جامعة الكوفة.
4. Norman, R.J., Davies, M.J., Lord, J. and Moran, I.J. (2002). The role oflifestyle modification in polycystic ovary syndrome.TrendsEndocrinol. Metab. 13: 251-257
5. Dunaif, A., Xia, J., Book, C. B., Schenker, E. and Tang, Z. (1995). Excessive insulin receptor serine phosphorylation in cultured fibroblasts and in skeletal muscle.A potential mechanism for insulin resistance in the polycystic ovary syndrome. J. Clin. Invest. 96: 801-810.
6. Kiddy, D.S., Hamilton-Fairley, D., Bush, A., Short, F., Anyaoku, V., Reed, M.J. and Franks, S. (1992). Improvement in endocrine and ovarian function during dietary treatment of obese women with polycystic ovary syndrome. Clin. Endocrinol. (Oxf). 36: 105-111.
7. Ehrmann, D.A., Rosenfield, R.L., Barnes, R.B., Brigell, D.F. and Sheikh, Z. (1992). Detection of functional ovarian hyperandrogenism in women with androgen excess New Engl. J. Med. 327: 157-162.
8. Souiden,Y., Mahdouani, M., Chaieb, K., ELhamel, R. and Mahdouani, K. (2011). Cyp 17 gene polymorphism and prostate cancer susceptibility in a Tunisian population.Elsevier .35: 480-484.
9. Sharp, L., Cardy, A.H., Cotton, S.C. and Little, J. (2004). CYP17genepolymorphisms: Prevalence andassociation with hormone levels and related factore. AHuGEreview. AM J. Epidemiol. 160: 729-740.
10. Carey, A.H., Waterworth, D., Patel, K.,White, D., Little, J., Novelli, P., Franks, S. and Williamson, R. (1994). Polycystic ovaries and premature male pattern baldness are associated with one allele of the steroid metabolism gene CYP17. Hum. Mol. Genet. 3: 1873-1876.
11. Sarma, A.V., Dunn, R.L., Lange, L.A., Ray, A., Wang, Y. Lange, E.M. (2008). Geneticpolymorphisms in CYP17, CYP3A4, CYP19A1, SRD5A2, IGF-1, and IGFBp-3 and prostate cancer risk in african – American men: the flint men's health study prostate. 68: 296-305.
12. Morimoto, Y, Oku, Y., Sonoda, M., Haruki, A., Ito, K., Hashimoto, S. and Fukuda, A. (2007). High oxygen atmosphere improves human follicle development in organ cultures of ovarian cortical tissues in vitro. Human Reproduction. 22(12): 3170-3177.
13. Bartlett, J.M. and White, A. (2007). Extraction of DNA from whole blood. Methods in Molecular Biology.vol. 226.p29-33.
14. Yilmaz, M.B., Pazarbasi, A., Guzel, A.I., Kocaturk,-sel, S., Kasap, H., Kasap, M., Demirhan, O. (2011). Association of serum sex steroid levels and bone mineral density with CYP17 and CYP19 gene polymorphisms in postmenopausal women Turkey, Genetics and Molecular research. 10 (3) 1999-2008.
15. Warren, M.N. (1999). Clinical reviews: Evaluationof secondary amenorrhea. J. of Clinical Endocrinology & Metabolism. 81 (2), 437-442.

16. Ferrari, E., Bossolo, P.A., Foppa, S., Dalzano, M., Comis, S.,Morell, M.P., Pereri,V. and Mengozz, A. (2009). Prolactin secretin in polycystic ovary syndrome circadian rhythmically and dynamic aspects. GynecolEndocrinal. 12(2): 101-111.

17. Walddsteriecher, J., Santavo, N.F., Hall, J.E., Filicari, MandCrowley, W.F. (2003). Hyperfunction of hypothalamic-pituitary axis in women with polycystic ovarybsyndrome. JCMB: 165.

18. Diamanti-Kandarakis, E., Bartzis, M.I., Zapanti, E.D., Spina, G.G., Filandra, F. A.,Tsianateli, T. C., Bergiele, A.T. and Kouli, C.R. (1999). Polymorphism T C (-34bp) of gene CYP17 promoter in Greek patients with polycystic ovary syndrome. Fertil.Steril. 71: 431-435.

19. Lim, S., Kim, M., Lee, S. and Baek, K. (2002). Polymorphism of CYP17 and CYP11α for polycystic ovary syndrome in Korean population. Korean J. Genetics. 24 (4): 343-348.

20. Marszalek, B., Lacinski, M., Babych, N., Capla, E., Biernacka-Lukanty, J., Warenik-Szymankiewicz, A. and Treciak, W. H. (2001). Investigation on the genetic polymorphism in the region of CYP17 gene encoding 5′-UTR in patients with polycystic ovarian syndrome. Gynecol. Endocrinol. 15: 123-128.

21. Daneshmand, S., Weitsman, S.R., Navab, A., Jakimiuk, A.J. and Magoffin, D.A. (2002). Overexpression of theca-cell messenger RNA in polycystic ovary syndrome does not correlate with polymorphisms in the cholesterol side-chain cleavage and 17 alpha-hydroxylase /C (17-20) lyase promoter. Fertil. Steril. 77:274-280.