

دراسة بعض المتغيرات الفسلجية والجزيئية لعقم النساء في محافظة الأنبار- العراق
A Study of Some Physiological and Molecular Variables for Infertility Women in
Anbar Province-Iraq

سمير مشرف خلف*

احمد عبد الجبار سليمان

عاتكة فحطان قدوري

مركز دراسات الصحراء/ جامعة الانبار
*كلية التربية للعلوم الصرفة / جامعة الأنبار

Atekah Q. Qadury Ahmed A. Suleiman Samir M. Khalif *

Desart Research Center/ Anbar University

*College of pure education/ Anbar University

E-mail: asalafahad@gmail.com

الملخص

يعد العقم مشكلة صحية عالمية وهي من المشاكل الرئيسية في العديد من البلدان بما في ذلك الشرق الاوسط التي اخذت بالازدياد في الآونة الاخيرة اذ شهد العالم ارتفاعاً في معدلات العقم ولاسيما العقم عند النساء لذا صممت الدراسة لمعرفة اسباب العقم. شملت الدراسة الحالية (100) امرأة مصابة بالعقم في محافظة الانبار تراوحت اعمارهن بين 20-45 سنة من المراجعات لمستشفى الرمادي التعليمي للنسائية والأطفال وبعض العيادات الطبية في عدد من مدن واقضية محافظة الانبار للفترة من ايلول/2013 ولغاية كانون الثاني/2014 بالإضافة الى (40) امرأة سليمة ليس لديهن تاريخ إصابة او دلالة سريرية على إصابة محتملة بالعقم ومطابقات عمرياً للمجموعة المرضية , أوضحت نتائج الدراسة الحالية بأن نسبة العقم الأولى في محافظة الانبار أعلى من العقم الثانوي اذ بلغت (40,60%) على التوالي. كما اشتملت الدراسة اجراء بعض الفحوصات الهرمونية لأفراد عينتي الدراسة تضمنت قياس تركيز هرمون (LH) Lotine hormone و (FSH) Follicle Stimulation hormone و (PRL) Prolactin hormone و (Testo) Testosterone Hormone لغرض استبعاد اي عينة تعاني من اضطرابات هرمونية وتبين حدوث ارتفاع معنوي في تراكيز الهرمونات لدى النساء العقيمات مقارنة بمجموعة السيطرة ، اذ وجد انه من بين الـ (100) امرأة عقيمة 59 (59%) امرأة مصابة باضطرابات هرمونية مختلفة. تم اجراء الدراسة الجزيئية لـ (28) امرأة عقيمة (لا تعاني من اي اضطرابات هرمونية) بالإضافة الى (30) امرأة سليمة من عينة السيطرة كمجموعة مقارنة للكشف عن تعدد الاشكال والاضطرابات التي قد تطرأ على الجين اروماتيز CYP19A1 باستخدام زوج من البادئات المتخصصة المصممة اثناء الدراسة للجين المذكور لغرض تحديد علاقته بالعقم غير المفسر عند النساء وتبين حدوث الاضطرابات في 25 (89.3%) عينة من النساء العقيمات تراوحت بين غياب حزم البادئ او ظهورها بحجم يختلف عن الحجم المتوقع في حين لم تظهر مجموعة السيطرة اي اضطرابات للجين المذكور.

الكلمات الدالة: العقم، الهرمون، جين CYP19A1، PCR

Abstract

Infertility is a global health problem and one of the major problems in many countries, including Middle East, this phenomenon grow in recent years, as the world has seen a rise in the rates of infertility, especially women infertility, so this study conducted to find some reasons of unexplained women infertility. The current study included (100) infertile women in Anbar province, the ages ranged from 20-45 years of revisions to Al-Ramadi Education Hospital for women and pediatric and some medical clinics in a number of cities and districts of Anbar province, through the period from September / 2013 to January / 2014, in addition to (40) healthy women who did not have any history or clinical signs of infertility and their ages matches of the study group, the results of the current study showed that the proportion of primary infertility in Anbar province, the highest of secondary infertility, amounting to 60% and 40% respectively. The study also included some hormonal tests to members of study and control samples included measurement of Luteal hormone concentration (LH), Follicle Stimulation hormone (FSH), Prolactin hormone (PRL) and Testosterone Hormone (Testo) to excluding any sample suffer from hormonal disorders the study showed a significant increase $P \leq 0.05$ in the concentrations of infertile women hormones as compared with the control group, and it was found among the (100) infertile women that 59 (59%) women have different hormonal disorders. A molecular study of 28 infertile woman (do not suffer from any hormonal disorders) in addition to (30) healthy women from the control samples for the detection of polymorphism and disorders that may occur to the aromatase gene CYP19A1 using a pair of specific primers designed throughout this study to determining its relationship with unexplained infertility in women, and showing that there disorders in 25 (89.3%) sample of infertile women ranged from the absence of the primers bands or appearance differs from the expected size while the control group did not show any disturbance.

Keywords: Infertility, hormone, CYP19A1, PCR

المقدمة

يعرف العقم Infertility استناداً الى منظمة الصحة العالمية (WHO) World Health Organization بأنه مرض يصيب الجهاز التناسلي يتميز بعدم قدرة الزوجين على احداث الحمل بعد سنة واحدة على الاقل من الزواج المستمر وبدون استخدام موانع الحمل [1] كما يعرف العقم عند النساء بعدم قدرة المرأة على الحمل بشكل طبيعي بعد مرور سنة كاملة على الزواج دون استخدام اي وسيلة من وسائل منع الحمل [2]، كذلك تعد بعض النساء عقيمات كاللواتي يستطعن الحمل ولكن غير قادرات على إبقاء الحمل والذي يحدث غالباً للنساء بأعمار 35 سنة فما فوق [3]. وهناك نوعان من العقم: العقم الأولي Primary Infertility: وهو العقم الذي يصيب المرأة منذ بدأ حياتها الزوجية، بمعنى عدم حدوث الحمل لدى المرأة مطلقاً، أما النوع الآخر: فهو العقم الثانوي Secondary Infertility وهو العقم الذي يصيب المرأة بعد انجاب طفل واحد او اكثر [2]، وهناك العقم غير المفسر Unexplained infertility الذي يعد أكثر غموضاً من أي نوع اخر للعقم ويقصد بالعقم غير المفسر عدم القدرة على حدوث الحمل على الرغم من استمرار العلاقة الزوجية المنتظمة ودون العثور على سبب واضح ومحدد للعقم [4] وهو المصطلح الذي يطلق على الأزواج الذين لا يمتلكون القدرة على الإنجاب بعد إتمام كافة فحوصات العقم الأساسية الخاصة بالزوج والزوجة والتأكد من سلامتها بما في ذلك تحليل السائل المنوي للزوج وفحص احتياطي المبيض وامراض الحوض للزوجة وغيرها من الفحوصات الخاصة لتشخيص حالات العقم [5] وربما تكمن أسبابه في الاضطرابات الفسلجية الهرمونية او أسباب وراثية او مناعية [6].

تعد الهرمونات من العوامل التي تؤثر في تنظيم وظيفة الجهاز التناسلي الانثوي ومن هذه الهرمونات هرمون الحليب Prolactin الذي يعمل في الاناث خلال مرحلة النشاط الفسيولوجي والهرمون المحفز للجريبات (Follicle stimulating hormone) FSH الذي يحفز نمو وتطور الجريبات المبيضية والهرمون اللوتيني LH (Luteinizing hormone) الذي يقوم بفعاليات حيوية متميزة اذ يعتقد بأنه يحفز تصنيع الستيرويدات الجنسية ويسبب زيادة جريان الدم في المبيض وزيادة وزنه مؤدياً الى إحداهن الاباضة لذلك فإنه يسمى هرمون الاباضة [7] وكذلك هرمون الشحمون الخصوي Testosterone المسؤول عن اظهار الصفات الجنسية الذكرية [8]. يعد العامل الوراثي من أهم العوامل المسببة للعقم ولكن المعلومات المتعلقة بالجينات لازالت غير معروفة، اذ يؤدي التغير الذي يحدث في الجينات إلى خلل أو نقص في البلوغ يؤدي إلى حدوث العقم [9]. ومن أهم الأمراض الوراثية التي تصيب المرأة وتسبب لها العقم هي فشل المبيض المبكر (POF) premature ovarian failure، متلازمة تكيس المبايض Polycystic Ovarian Syndrome (PCOS) وانتباذ البطانة الرحمية endometriosis [10] كذلك انقطاع الطمث في وقت مبكر عند نساء في سن الانجاب مما يؤدي الى حدوث العقم [11].

أما على المستوى الجزيئي فان تعدد اشكال الجينات المشاركة في مسار التخليق الحيوي للهرمونات الستيرويدية steroid biosynthesis او المشاركة في محور تحت المهاد - النخامية - المبيض Hypothalamus- pituitary- ovarian Axis (HPOA) يعتبر من اهداف الدراسات الوراثية الجزيئية في الوقت الحاضر اذ انها تلعب دوراً رئيسياً في التسبب في بعض اشكال العقم عند النساء ومن بين تلك الجينات جين الاروماتاز Aromatase gene والذي يسمى ايضاً بـ CYP19A1 والذي يعد من اهم الجينات ذات العلاقة بالخصوبة لدى النساء [12] اذ ان هذا الجين هو المسؤول عن التعبير الجيني لأنزيم الاروماتاز Aromatase enzyme الذي يعمل على تحفيز عملية تحويل الاندروجينات التي تحمل 19 ذرة كاربون C19 androgens والتي تشمل التستوستيرون Testosterone والاندروستيبيديون Androstenedione الى الاستروجينات والتي تحمل 18 ذرة كاربون C18 estrogens وتتضمن استراديول Estradiol وايسترون Estrone [13] اذ تعد هذه العملية الخطوة الأكثر أهمية في مسار التخليق الحيوي للهرمونات الستيرويدية عند النساء مما جعل هذه الجين يحتل مكانة بارزة في الدراسات الجينية [12]. صمم هذا العمل لدراسة بعض المتغيرات الفسلجية لعقم النساء غير المفسر في محافظة الانبار لغرض استبعاد العينات التي تعاني من خلل فسلجي ودراسة بعض المتغيرات الوراثية الجزيئية المتعلقة بالجين CYP19A1.

المواد وطرق العمل

تم جمع عينات الدراسة من المراجعات لمستشفى الرمادي التعليمي للنسائية والأطفال و العيادات الطبية الخارجية في محافظة الانبار للمدة من 2013/9/18 الى 2014/12/6 وقد تضمنت المجموعة المرضية: تتكون من 100 امرأة مصابة بالعقم (60 امرأة مصابة بالعقم الأولي و40 امرأة مصابة بالعقم الثانوي) تراوحت اعمارهن ما بين (20-45) سنة ومجموعة السيطرة وتتكون من 40 امرأة من المتطوعات السليمات (لديهن ذرية) وليس لديهن تاريخ إصابة او دلائل سريرية على إصابة محتملة بالعقم مطابقت عمرياً للمجموعة المرضية.

تم قياس تراكيز الهرمونات (LH, FSH, PRL, Testo) لجميع عينات الدراسة باتباع الخطوات المرفقة مع عدة التحليل الجاهزة الخاصة بها وحسب تعليمات الشركة المصنعة Monobind Inc. الأمريكية الخاصة بتقنية الاليزا ELISA باستخدام جهاز ELISA Reader.

تم استخلاص الدنا المجيني من النساء العقيمت الذين لا يعانون من أي اضطرابات هرمونية اذ كانت مستوى الهرمونات التي تم قياسها ضمن المستوى الطبيعي والبالغ عددها 28 عينة بالإضافة الى افراد عينة السيطرة وفق طريقة الاستخلاص بالطقم الجاهز (Kit) والمجهز من قبل شركة (Geneaia) الأمريكية اعتماداً على النشرة الداخلية المرفقة مع الطقم.

اجري تفاعل الـ PCR باستخدام عدة الـ PCR-Premix المجهزة من قبل شركة Bioneer الكورية وبحجم نهائي 25µL، استخدم زوج من البادئات المتخصصة المصممة لهذا الغرض اذ جهزت البادئات بشكل lyophilized من شركة Bioneer الكورية وذوبت في الماء المقطر وتم تحضير تركيز نهائي مقداره 10 بيكومول/ميكروليتر. جدول (1) التالي يمثل البادئات المستخدمة في الدراسة.

جدول (1): البادئات Primers المستخدمة في هذه الدراسة مع تتابعاتها

اسم البادئ	Primer sequence	التتابع	الحجم المتوقع bp
SMAP1	F 5' GCCCTACGAGGGTTCTTCTG R 5' GACTGGCACCTGGGGAATAA		822
SMAP2	F 5' GCCTTTTATTCCCCAGGTGC R 5' TCTCTACTGCGCTTGCTCTG		699

تم مزج مكونات التفاعل (PCR-Premix) جيداً باستخدام جهاز vortex ونبذت لمدة 10 ثواني في جهاز الطرد المركزي الدقيق Microcentrifuge لترسيب قطرات محلول التفاعل الموجودة على جدار أنابيب PCR Micro tubes بحجم 25 مايكروليتر لكل أنبوبة , ثم اضيف لكل أنبوبة 2.5 مايكروليتر من البادئ المتخصص (لكل من Forward و Reverse) وبعدها تم إضافة 3 مايكروليتر من الـ DNA (الهدف) لكل أنبوبة وبعد إتمام عملية الاضافة ادخلت الأنابيب في جهاز البلمر الحراري الحلقي Thermocycler بحذر وعناية لإنجاز التفاعل وباستعمال البرنامج التالي المعد لهذا الغرض.

جدول(2): مقارنة المتوسطات الحسابية للمعاملات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)

Steps	Temperature	Time	Number of cycles
Initial denaturation	94 C	5 min	1
Denaturation	94 C	1 min	30
Annealing *	57 C	1 min	
Extension	72 C	1 min	
Final extension	72 C	7 min	1

*متغيرة حسب البادئ

حللت البيانات احصائياً باستخدام البرنامج الاحصائي Statistical Package for Social Science (SPSS) واستخدام اختبار T-test لمقارنة المتوسطات الحسابية للمعاملات على مستوى معنوية ($P \leq 0.05$)

النتائج

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع معنوي $P \leq 0.05$ في تراكيز الهرمونات (Testo) , PRL , LH , FSH لدى النساء العقيمات مقارنة بمجموعة السيطرة ، اذ وجد انه من بين الـ(100) امرأة العقيمة 59 (59%) امرأة مصابة باضطرابات هرمونية مختلفة. كما موضح في جدول (3) ادناه.

جدول (3) مستوى تركيز الهرمونات في دم المصابات بالعقم الاولي والثانوي ومجموعة السيطرة والقيم الطبيعية لكل هرمون .

المعاملات	عدد افراد العينة	تركيز هرمون FSH mIU/ml	تركيز هرمون LH mIU/ml	تركيز هرمون Prolactin ng/ml	تركيز هرمون Testosterone ng/ml
العقم الاولي	60	$\pm 1.95^{**}$ 13.01	$15.9 \pm 1.66^{**}$	$19.11 \pm 1.13^*$	$1.58 \pm 2.09^{**}$
العقم الثانوي	40	$\pm 1.33^{**}$ 16.47	$14.65 \pm 1.64^{**}$	$36 \pm 1.9^{**}$	$1.95 \pm 1.11^{**}$
السيطرة	40	6.98 ± 0.27	6.49 ± 0.45	14.3 ± 0.78	0.45 ± 0.03
القيمة الطبيعية للهرمونات		4.5 □ 11	1.7 □ 13.3	4.1 □ 28.9	0.2-0.95

* وجود فروق معنوي $P < 0.01$ ** وجود فروق معنوي $P \leq 0.05$

الدراسة الجزيئية

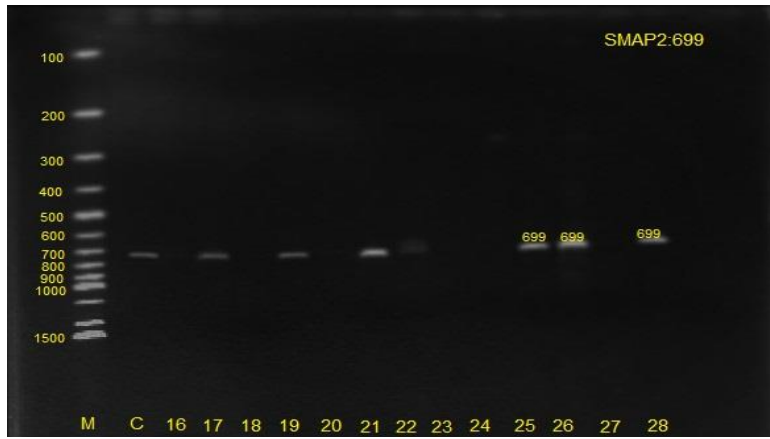
اظهرت نتائج تقنية الـ PCR لأفراد عينة الدراسة التي أجريت باستخدام زوج من البادئات المتخصصة للجين CYP19A1 ان من بين 28 امرأة مصابة بالعقم هناك (25.89%) امرأة مصابة باضطرابات جينية مختلفة تراوحت بين غياب الحزم المتوقع ظهورها او ظهور الحزم في مواقع غير متوقعة (الحذف او الاضافة في القواعد النيتروجينية) في حين لم يظهر افراد عينة السيطرة أي اضطراب جيني كما موضح في جدول (4) وشكل (1،2) ادناه .

جدول (4): البادئات المستخدمة في الدراسة ,حجم البادئ المتوقع ,وعدد مرات ظهور او غياب الحزمة ونسبتها المنوية لأفراد عينة الدراسة السيطرة.

ت	اسم البادئ	الحجم bp	عدد مرات ظهور الحزمة	النسبة المنوية	عدد مرات غياب الحزمة	النسبة المنوية	عينة السيطرة (30)	عينة الدراسة (28)
1	SMAP1	822	4	14.2%	24	85.8%	عدد مرات ظهور الحزمة العدد	عدد مرات غياب الحزمة العدد
2	SMAP2	699	8	28.6%	20	71.4%	النسبة المنوية	النسبة المنوية



شكل (1) ترحيل الكهربائي لنتائج تقنية الـPCR للبادئ رقم 1(SMAP1) لعينات من (16-28)



شكل (2) الترحيل الكهربائي لنتائج تقنية الـPCR للبادئ رقم 2(SMAP2) لعينات من (16-28)

*الشكل (2،1) الترحيل الكهربائي لنواتج تقنية الـPCR بهلام الاكاروز 1% ، (M) تمثل الدليل الحجمي لنتائج الـPCR (100bp) DNA ladder , (C) DNA عينة سيطرة.

المناقشة

ان نتائج الدراسة الحالية توضح ان عامل الاضطراب الهرموني هو المسبب الأكبر للإصابة بالعقم بكلتا نوعيه عند النساء العقيمات اللواتي يراجعن المستشفى التعليمي في محافظة الانبار وهذه النتائج تتفق مع نتائج الدراسة التي قام بها [14] اذ كان السبب الرئيسي لإصابة بالعقم هو حدوث اضطرابات هرمونية عند النساء العقيمات في محافظة اربيل. في حين اظهرت نتائج الدراسة التي قام بها [15] ان ضعف الاباضة هو السبب الأكثر شيوعا للإصابة بالعقم عند النساء في محافظة صلاح الدين يليها عامل الاضطراب الهرموني. تعد الاضطرابات الهرمونية من العوامل الرئيسية للإصابة بالعقم عند النساء والتي قد تنجم من حدوث خلل في وظيفة محور النخامية - تحت المهاد- الأدرينالية (Hypothalamic Pituitary Adrenal axis) والتي تؤدي الى اختلال التوازن الهرموني عند النساء وبالتالي تؤثر على قدرتها على الإنجاب, اذ تكون المبايض غير قادرة على القيام بوظائفها بشكل طبيعي مما يؤثر على عملية نضج الجريبات المبيضية [2], فقد وجد ان 36.2% من حالات فشل الاباضة تعود لأسباب هرمونية [16].

اوضحت نتائج الدراسة الحالية كما موضح في جدول [3] ارتفاعاً معنوياً في تراكيز الهرمونات (LH,PRL,Testo,FSH) عند النساء المصابات بالعقم الاولي والثانوي مقارنة مع تراكيز الهرمونات عند مجموعة السيطرة, وهذه النتائج تتفق مع نتائج الدراسة التي قام بها [15] في حين تختلف عن نتائج الدراسة التي قام بها [17] التي اشارت الى انخفاض تركيز هرموني FSH و LH عند النساء العقيمات .

إن ارتفاع تركيز FSH كما أوضحت نتائج دراستنا الحالية قد يؤثر الى انخفاض مخزون المبايض Poor Ovarian reserve اذ ان ارتفاع الهرمون عند النساء في سن الإنجاب يرتبط بفشل نضج المبيض المبكر وانقطاع الطمث قبل الوصول الى سن اليأس وانخفاض اعداد البويض داخل المبيض وبالتالي تصبح المرأة اقل خصوبة تدريجياً وأكثر عرضة للإصابة بالعقم [18]. كما اثبت [19] ان ارتفاع هرمون FSH لدى النساء العقيمات ادى الى حدوث فقدان الحمل.

اما ارتفاع هرمون LH يدل على حدوث خلل في وظيفة الغدة النخامية [20], يصاحبه انخفاض لتراكيز كل من هرمون البروجسترون والاسروجين فمن المعروف ان عملية تثبيط هرمون LH تحصل عندما ترتفع تراكيز هرموني البروجسترون والاسروجين بواسطة الية التغذية الاسترجاعية السالبة , ان استمرار ارتفاع هرمون LH يؤدي الى قلة تركيز هرمون FSH نسبة الى تركيز هرمون LH. ويسبب ارتفاع النسبة LH/FSH في الدم وبالتالي سينخفض افراز الستيروجين ويزداد افراز الاندروجينات كالهرمون الذكري مما يسبب فشل المبيض في تحفيز نمو ونضج الجريبات المبيضية وعدم تكوين جريبات ناضجة وبالتالي ندرة حصول الإباضة وعدم انتظام الدورة الحبيضية وتأخير الحمل او الإنجاب [21].

بينت الدراسة ارتفاع في تركيز هرمون الحليب في الدم للنساء المصابات بالعقم الثانوي تسبب حالة مرضية يطلق عليها بفرط هرمون الحليب في الدم Hyperprolactinaemia وهي حالة شائعة تسبب قلة الخصوبة في كلا الجنسين وان العلامة المبكرة لهذا الارتفاع عند النساء هي انحباس الطمث وزيادة في انتاج الحليب، اذ ان المستوى العالي لهرمون الحليب يؤدي الى ايقاف دورة الاباضة وذلك بواسطة تثبيط افراز كل من هرمون GnRH وهرمون FSH [22].

يسبب ارتفاع تركيز الهرمون الذكري عند النساء ظهور مجموعة من الاعراض منها تضخم الصوت وزيادة في نمو الشعر في الجسم، ولكن في اغلب الحالات ارتبط ارتفاع الهرمون الذكري مع الاصابة بتكيس المبايض [23].

اظهرت نتائج تقنية PCR ان 89.3% من النساء العقيمت (غير المصابات باضطرابات هرمونية) اظهرن تغيراً على مستوى جين CYP19A1 وهذا يؤكد الدور المحتمل للتغيرات التي تحدث في الجين في الاصابة بالعقم عند النساء، فقد شخصت طفرات متعددة على مستوى القواعد النيتروجينية وعلى مستوى النيكلوتيدة الواحدة ضمن هذا الجين لها ارتباط بفاعلية انزيم الاروماتيز، حيث ان حدوث اي خلل في عملية البناء الحيوي لانزيم الاروماتيز عادة ما يكون مسبوقاً بتغيرات في عملية استنساخ جين CYP19A1 ومستوى mRNA اذ ان الطفرات التي تحدث للجين تتعكس سلباً على فاعلية انزيم الاروماتيز [24]. وان اي قصور في فاعلية انزيم الاروماتيز تؤدي الى الاصابة بالعديد من الأمراض المعتمدة على الاستروجين ومنها الاصابة بالعقم غير المفسر، اذ تعتبر الاستروجينات من الهرمونات الستيرويدية الاساسية لقيام الجهاز التناسلي الانثوي بوظيفته بصورة طبيعية وهي تشمل إيسترون (E1)، استراديول (E2)، والإيستريول (E3) ويعتبر الاستراديول الهرمون الأكثر أهمية للنساء في سن الإنجاب [25].

كما اوضحت نتائج الدراسة الحالية كما نلاحظ من شكل (2،1) ظهور حزم البادئ SMAP1&SMAP2 لبعض عينات الدراسة دون الحجم المتوقع وهذا يدل على حدوث طفرة في الجين ارتبطت بحدوث عملية حذف بالقواعد النتروجينية مما ادى الى ظهور حزم البادئ ولكن بوزن جزئي اقل وكذلك اظهرت نتائج الدراسة غياب عدد من الحزم الذي يدل على حدوث حذف في منطقة معينة للجين. ان هذا التغير الذي ظهر في الجين قد انعكس سلباً على فاعلية انزيم الاروماتيز وأثر بشكل سلبي على قدرة النساء على الإنجاب، وهذا يتفق مع الدراسة التي قامت بها [12] وجماعتها التي اجريت لدراسة التأثيرات الوراثية الناتجة من حدوث عملية الحذف/الادخال (Ins/Del) insertion/deletion في تعدد الاشكال الثلاثي النيكلوتيدة TCT trinucleotide والتردد الرباعي النيكلوتيدة (TTTA)n للجين على نتائج تحفيز المبيض والمسببات المرضية للعقم على النساء العقيمت اللاتي يخضعن لتنشيط المبيض اثناء عملة التلقيح الاصطناعي. اذ وجد النساء اللواتي يعانين من حذف الاليل انخفاضاً في حساسية المبيض لهرمون FSH اثناء عملية تنشيط المبيض والتي تعكس التغيرات الذي حدث في عملية التعبير الجيني والتي تؤثر فاعلية انزيم الاروماتيز في مرحلة مبكرة من عملية تطور الجريبات المبيضية، كما وجد ان هناك علاقة بين عملية حذف الاليل وقصر التردد (TTTA) وصغر حجم المبايض وقلة عدد الجريبات المبيضية وهذه النتائج تعزز دور التغيرات الذي حدث في جين CYP19A1 كعامل وراثي يشكل مسبب في حالات العقم غير المفسر بجانب زيادة الخطر للإصابة بانتباز البطانة الرحمية.

كما نلاحظ من شكل (2،1) ايضا ظهور حزم البادئ لبعض عينات الدراسة بوزن جزئي اعلى من الحجم المتوقع والتي قد تكون ناجمة من حدوث طفرة للجين ادت الي حدوث عملية ادخال insertion او تضاعف Duplication للقواعد النتروجينية ضمن تتابعات الجين المدروس، ان التعبير المفرط لجين CYP19A1 في الانسان الناتج من حدوث طفرة للجين ادت الي حدوث عملية تضاعف duplication لتسلسل معين ضمن الجين يؤدي الى اضطراب جسمي وراثي نادر يسمى بمتلازمة زيادة الاروماتيز Aromatase excess syndrome (AEXS) وتظهر الاناث المصابات بهذه المتلازمة عدة خصائص مظهرية تتمثل بالوصول الى مرحلة البلوغ بوقت مبكر وعدم انتظام الدورة الحيضية وتضخم الثدي والعقم (26،27). كما اثبتت الدراسة التي قام بها [28] ارتباط التعبير المفرط للجين مع حدوث ورم في العضلات الملساء للرحم والذي يطلق عليه Leiomyoma والذي يعتبر اكثر الاورام انتشاراً عند النساء في السن الإنجاب ومن الممكن ان يسبب العقم، اذ ان التعبير المفرط للجين يؤدي الى زيادة فاعلية انزيم الاروماتيز وبالتالي زيادة في تحويل الاندروجينات الي استروجينات وارتفاع نسبتها في الدم والتي تؤدي الى الاصابة بالمرض.

المصادر

1. Mascarenhas, M.N., Flaxman, S.R., Boerma, T., Vanderpoel, S. and Stevens, G.A. (2012). National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med.* 9(12):e1001356.
2. Olooto, W.E., Amballi, A.A. and Banjo, T.A. (2012). A review of female infertility: important etiological factors and management. *J. Microbiol Biotech Res.* 2(3):379–385.
3. Sasikumar, S., Shyam, J. S., Madhankumar, E.K., Amburu, P., Kalaiselvi, S., Gopinath, P.M., Dakshayani, D., Krithika, D.J., Chitra, S. and Uma, R. (2014). A study on significant biochemical changes in the serum of infertile women. *Int.J.Curr.Res.Aca.Rev.* 2 (2):96-115.
4. Rita, I. (2002). Unexplained infertility. Studies on aetiology, treatment options and obstetric outcome. Department of Obstetrics and Gynaecology, Helsinki University Central Hospital.
5. Hatasaka, H. (2011). New perspectives for unexplained infertility. *ClinObstet Gynecol.* (54):727–733.
6. Edward, L. M. (2008). Unexplained Infertility. *Fertility Centers of Illinois.*
7. Abdennebi, L., Chu, E.Y., Jammes, H., Wei, D. and Remy, J.J. (2003). Maintenance of sexual immaturity in male mice and Bucks by immunization against N-Terminal peptides of the follicle-stimulating Hormone receptor. *Biology of reproduction.* 68: 323-327.
8. DiFede, G., Mansueto, P., Pepe, I., Rini, G. B. and Carmina, E. (2010). High prevalence of polycystic ovary syndrome in women with mild hirsutism and no other significant clinical symptoms. *Fertility and Sterility.* 94 (1): 194–197.

9. Layman, C. (2002). Human gene mutation causing infertility. *J.Med.Genet.* 39:153-161.
10. Michelle, Z. and Alexander, N.Y. (2013). The Genetics of Infertility: Current Status of the Field. *Curr Genet Med Rep.* 1:247-260.
11. Matthews, T.J., and Hamilton, B.E. (2009). Delayed childbearing: more women are having their first child later in life. *NCHS Data Brief.* (21):1-8.
12. Signe, A., Kadri, H., Maire, P., Merli, S., Outi, H., Anneli, S., Agne, V., Helle, K., Andres, M. and Andres, S. (2009). Aromatase gene (CYP19A1) variants, female infertility and ovarian stimulation outcome: a preliminary report. *Reproductive BioMedicine Online.* (18) 5. 651-657.
13. Sebastian, S. and Bulun, SE. (2001). A highly complex organization of the regulatory region of the human CYP19 (aromatase) gene revealed by the Human Genome Project. *J Clin Endocrinol Metab.* (86):4600-2.
14. Taha, A.B. and Rashid, K.H. (2013). Etiology of infertility in couples attending maternity hospital in Erbil. *Zanco J. Med. Sci.* 17 (1).
15. عبد الله، امه احمد طابيس. (2011). دراسة فسلجية، كيموحوية لدى النساء العقيمت والسليمات في محافظة صلاح الدين. رسالة ماجستير، كلية التربية/ جامعة تكريت.
16. Beaker, K.L. (2001). Principle and practice of endocrinology and Metabolism, 3rd edition, Lippincott Williams and Wikins, Philadelphia. 918-1015.
17. عباس، مادلين قاسم. (2008). التأثير الفسلجي لمستويات عدد من الهرمونات ومكونات الدم في النساء العقيمت من المراجعات لمستشفى تكريت التعليمي، رسالة ماجستير. كلية التربية للبنات/ جامعة تكريت.
18. Li, Q.z. (2009). TCM Treatment of Female Infertility Caused by High FSH. *Journal of the Association of Traditional Chinese Medicine (UK).* 16:(1).
19. Bhavnani, BR and Stanczyk, FZ. (2012). Misconception and concerns about bioidentical hormones used for custom-compounded hormone therapy. *J ClinEndocrinol Metab.* 97(3):756-759.
20. Warren, M.P and Stichl, A.I. (1999). Execrcis and female adolscents: effects on the reproductive and skeletal system. *J. of American Medical Womens association.* 54(3): 115-120.
21. Altuntas, C.Z., Johnson, J.M. and Tuohy, V.K. (2006). Autoimmune targeted disruption of the pituitary-ovarian axis causes premature ovarian failure *J. Immunol.* 177(3):1988-6.
22. Khalil, H.A., Hanafy, A.M., Saleh ,Y. and Medan, M. (2009). Comparative Changes in Serum Concentrations of Inhibin-B, Gonadotropins and Steroid Hormones at Different Reproductive States in Domestic Turkey Hens. *Journal of Reproduction and Development.* 55:523-528.
23. Karakurt, F., Sahin, I., Güler, S et al. (2008). Comparison of the clinical efficacy of flutamide and spironolactone plus ethinyloestradiol/cyproterone acetate in the treatment of hirsutism: a randomised controlled study *AdvTher.* 25 (4): 321-8.
24. Hajar, S., Zivar, S. and Saiedeh, S. (2013). Analysis of aromatase (CYP19) gene in Iranian women with endometriosis. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics.* (14): 165-169.
25. Gruber, C.J., Tschugguel, W., Schneeberger, C. and Huber, J.C. (2002). Production and Actions of Estrogens. *N Engl J Med.* (346):340-52.
26. Demura, M., Martin, RM., Shozu, M., Sebastian, S., Takayama, K., Hsu, WT., Schultz, RA., Neely, K., Bryant, M., Mendonca, BB., Hanaki , K., Kanzaki ,S., Rhoads, DB., Misra, M. and Bulun ,SE . (2007). Regional rearrangements in chromosome 15q21 cause formation of cryptic promoters for the CYP19 (aromatase) gene. *Hum MolGenet.* (16):2529 -2541.
27. Binder, G., Iliev, D.I., Dufke, A., Wabitsch, M., Schweizer , R., Ranke, MB. and Schmidt, M. (2005). Dominant transmission of prepubertal gynecomastiadue to serum estrone excess: hormonal, biochemical, and genetic analysis in large kindred. *J. ClinEndocrinol Metab.* (90):484-492.
28. Shozu, M., Sumitani, H., Segawa, T., Yang, H., Murakami, K., Kasai, T. and Inoue, M. (2002). Over expression of Aromatase P450 in Leiomyoma Tissue Is Driven Primarily through Promoter I.4 of the Aromatase P450 Gene (CYP19). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 87(6): 2540-2548.