



الجمهورية العربية السورية

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة

دراسة مستويات عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين عند مريضات متلازمة
المبيض متعدد الكيسات

Study of Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) and Leptin Levels in Polycystic Ovary Syndrome Patients

أطروحة قدمت إلى جامعة دمشق لنيل درجة الماجستير في الكيمياء الحيوية السريرية

إعداد: ماري بشار قدسي

مشاركة

إشراف

الأستاذ الدكتور مروان الحلبي

الأستاذة الدكتورة فايزة القبيلي

1436هـ / 2015 م

قرار مجلس البحث العلمي والدراسات العليا رقم /٣٤٢٦/ المتخذ

بالجلسة رقم /٢٥/ تاريخ ٢٠١٥/٨/١٧

اطلع مجلس البحث العلمي والدراسات العليا على قرار مجلس كلية الصيدلة رقم /٤٥٢/ تاريخ

٢٠١٥/٨/٥

وبعد الرجوع إلى اللائحة التنفيذية لقانون تنظيم الجامعات الصادرة بالمرسوم /٢٥٠/ لعام ٢٠٠٦ .

قرار مجلس جامعة دمشق رقم /٦٦٦٣/ ص تاريخ ٢٠١٢/٧/١ بشأن الموافقة على تسجيل رسالة

الطالبة

تستفيد الطالبة من المرسوم رقم /٣٣٥/ تاريخ ٢٠١٤/١٠/٢٩ وتمنح سنة إضافية اعتباراً من

٢٠١٥/٧/١ لغاية ٢٠١٦/٧/١

وبنتيجة المذكرة قرر مجلس البحث العلمي والدراسات العليا :

الموافقة على تأليف لجنة الحكم على رسالة الماجستير في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة التي

أعدتها الطالبة ماري قدسي بعنوان : ((دراسة مستويات عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين عند

مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات)) بكلية الصيدلة من السادة الأساتذة :

د. عماد الدين التنوخي الأستاذ في قسم التوليد وأمراض النساء كلية الطب البشري

جامعة دمشق الاختصاص: توليد ونسائية عضواً

د. فايزة القبيلي الأستاذ في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة كلية الصيدلة

جامعة دمشق الاختصاص : كيمياء حيوية سريرية عضواً مشرفاً

د. شادن حداد الأستاذ المساعد في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة كلية الصيدلة

جامعة دمشق الاختصاص: الكيمياء الحيوية الجزيئية عضواً

وذلك وفق ما هو وارد في قرار مجلس الكلية آنف الذكر،،،

ملاحظة: يرجى إرسال نسخة عن الإعلان الخاص بتحديد موعد المناقشة فور صدوره إلى مكتب

نائب رئيس الجامعة لشؤون البحث العلمي والدراسات العليا.

استغرق إنجاز هذا البحث مدة زمنية من 2012/10/15 إلى 2014/9/15

تم إنجاز هذا البحث في: كلية الصيدلة – جامعة دمشق

جمعت العينات في مستشفى الشرق للعقم وطفل الأنبوب

أجريت المقاييسات في بنك الدم – جامعة دمشق

تاريخ المناقشة: 2015/11/22

أعضاء لجنة الحكم:

رئيس اللجنة: أ.د. عماد الدين التنوخي

الأستاذ المشرف: أ.د. فائزة القبيلي

الفاحص: أ.م.د. شادن حداد

الإهداء

إلى من كرّس حياته لأجلنا.... إلى من أفخر به ما حييت

أبي الغالي

إلى اليد الحنونة الدافئة.... إلى مصدر نجاحنا وسعادتنا

أمي الغالية

إلى القلوب الرقيقة.... إلى شركائي في الفرح والحزن

ميرنا وجبران

الشكر

الشكر لله الذي أنعم علي ووفقني لإتمام هذا البحث.

خالص شكري وامتناني للأستاذة الدكتورة فايزة القبيلي التي تفضلت بالإشراف على هذا البحث، والتي منحتني الكثير من وقتها وجهدها ولم تبخل علي بتوجيهاتها ونصائحها من أجل إنجاز هذا العمل وإخراجه بالصورة المطلوبة.

خالص شكري وامتناني للأستاذ الدكتور مروان الحلبي لتفضله بالمشاركة في الإشراف على هذا البحث ولكل ما بذله من وقت وجهد ودعم علمي في سبيل إنجاز هذا البحث.

كل الشكر للأستاذة الدكتورة شادن حداد لتفضلها بالمشاركة في لجنة الحكم وإغناء البحث بملاحظاتها القيمة، ولكل ما قدمته لي خلال سنوات الدراسة من وقت وجهد.

كل الشكر للأستاذ الدكتور عماد الدين التتوخي لتفضله بالمشاركة في لجنة الحكم وإغناء البحث بملاحظاته القيمة.

كل الشكر والإمتنان إلى جميع أساتذتي في قسم الكيمياء الحيوية والأحياء الدقيقة.

كل الشكر لأسرة كلية الصيدلة بكادرها التعليمي والإداري ممثلة بالسيد العميد الأستاذ الدكتور عبد الحكيم نتوف ونائبه للشؤون الإدارية الأستاذة الدكتورة جمانة الصالح وللشؤون العلمية الأستاذ الدكتور مصطفى عموري.

الشكر الجزيل للكادر الطبي والإداري في مستشفى الشرق على الجهود التي بذلوها في مساعدتي طوال فترة الدراسة.

كل الشكر للكادر الطبي والإداري في بنك الدم- جامعة دمشق.

لمحة عن الباحث

ولدت في 1986/9/29، حصلت على الشهادة الثانوية عام 2004 وبدرجة قدرها 240/231، تخرجت من كلية الصيدلة – جامعة دمشق عام 2009 بمرتبة امتياز وبمعدل قدره 81.059 %، أصبحت طالبة ماجستير في الكيمياء الحيوية السريرية عام 2009.

شاركت بالحضور في عدد من المؤتمرات الطبية أهمها: المؤتمر الدولي الأول للأمراض السارية الطارئة في دمشق عام 2009، مؤتمر الأمراض القلبية الوعائية والواصمات الالتهابية في دمشق 2009، المؤتمر التاسع لهيئة مخابر التحاليل الطبية في دمشق عام 2010.

تصريح

الاسم الكامل: ماري بشار قدسي

مكان وتاريخ الولادة: دمشق 1986

عنوان البحث: دراسة مستويات عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين عند مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات

لا يوجد أي جزء من هذه الأطروحة تم اقتباسه بالكامل من عمل علمي آخر أو أنجز للحصول على شهادة أخرى في جامعة دمشق أو أي معهد تعليمي داخل أو خارج القطر.

لم يتم قبض أي مبلغ مادي أو مكافأة عينية سواء بشكل مباشر أو غير مباشر مقابل القيام بعمل يمس جوهر هذه الأطروحة أو نتائجها.

أتعهد بأنني لم أقل إلا الحقيقة ولم أخف شيئاً تحت طائلة المعاقبة والمحاسبة القانونية وعليه أوقع.

ماري بشار قدسي

2015/8/9

مقدمة عن البحث:

إن متلازمة المبيض متعدد الكيسات هي واحدة من الاضطرابات الصماوية الأكثر شيوعاً لدى النساء في سن الإنجاب والتي ما تزال إمراضيتها غير واضحة تماماً حتى الآن، تعد أيضاً هذه المتلازمة من أهم أسباب ضعف الخصوبة الناجم عن غياب الإباضة، وأظهرت العديد من الدراسات أن هذه المتلازمة تؤثر على نتائج عملية الإخصاب في المختبر وأنها قد تسبب انخفاضاً في نسب الحمل لدى المريضات الخاضعات لهذه العملية، ولقد برزت مؤخراً أهمية كل من عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين في إمراضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات وفي التأثير على نتائج عملية الإخصاب في المختبر لدى مريضات هذه المتلازمة، لذا تناول هذا البحث دراسة مستويات كل من عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين في المصل والسائل الجريبي لمريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات الخاضعات لعملية الإخصاب في المختبر وذلك بهدف التحري عن دور هذين العاملين في إمراضية هذه المتلازمة وتأثير كل منهما على نتائج عملية الإخصاب في المختبر.

قائمة المحتويات

11 القسم النظري	1
12 متلازمة المبيض متعدد الكيسات PCOS	1-1
12 مقدمة	1-1-1
12 لمحة تشريحية عن المبيض	1-2-1
14 تطور الجريبات خلال دورة الحيض	1-3-1
14 التبدلات الهرمونية خلال دورة الحيض	1-4-1
16 أسباب متلازمة المبيض متعدد الكيسات	1-5-1
16 الأمراض	1-6-1
16 العوامل خارج المبيضية	1-6-1-1
18 العوامل داخل المبيضية	1-6-1-2
19 التظاهرات السريرية لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات	1-7-1
22 التشخيص	1-8-1
26 علاج متلازمة المبيض متعدد الكيسات	1-9-1
29 الإخصاب في المختبر IVF	2
29 تعريف	2-1-1
30 مراحل دورة الإخصاب المساعد	2-2-1
33 مضاعفات تقنيات الإخصاب المساعد	2-3-1
36 عامل النمو البطاني الوعائي VEGF	3
36 مقدمة	3-1-1
37 التوضع الجيني وتنظيم التعبير عن جين الـ VEGF	3-2-1
38 آلية تأثير الـ VEGF	3-3-1
40 الدور الفيزيولوجي للـ VEGF	3-4-1
41 دور الـ VEGF في المبيض	3-5-1
43 دور الـ VEGF في الحالات المرضية	3-6-1
46 الـ VEGF والاستخدامات العلاجية	3-7-1
47 الليبتين	4

47	1-4- مقدمة
47	2-4- آلية تأثير الليبتين
48	3-4- الأدوار الفيزيولوجية لليبتين
51	4-4- استخدامات الليبتين العلاجية
52	5-4- الليبتين ومتلازمة المبيض متعدد الكيسات
53	5- هدف الدراسة
55	II. القسم العملي
56	1- المواد الطرق Materials & Methods
56	1-1- مجموعات الدراسة
57	2-1- بروتوكول فرط تنبيه المبيض المراقب
58	3-1- الاعتيان
59	4-1- الطرق
59	1-4-1-1- مقايسة مستويات الـ VEGF
59	2-4-1-2- مقايسة مستويات الليبتين
60	3-4-1-3- حساب منسب كتلة الجسم BMI
60	2- الدراسة الإحصائية Statistical Study
61	3- النتائج Results
61	3-1-1- تعيين مستويات الـ VEGF المصلية
62	3-2-2- تعيين مستويات الـ VEGF الجريبية
63	3-3-3- تعيين مستويات الليبتين المصلية
63	4-3-4- تعيين مستويات الليبتين الجريبية
64	3-5-5- مقارنة قيم منسب كتلة الجسم BMI بين مجموعتي الدراسة
65	3-6-6- مقارنة مستويات الـ VEGF المصلية بين مجموعتي الدراسة
65	3-7-7- مقارنة مستويات الـ VEGF الجريبية بين مجموعتي الدراسة
66	3-8-8- مقارنة مستويات الليبتين المصلية بين مجموعتي الدراسة
67	3-9-9- مقارنة مستويات الليبتين الجريبية بين مجموعتي الدراسة
		3-10-10- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية ومنسب كتلة

68 الجسم BMI
	11-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين الجريبية ومنسب كتلة
69 الجسم BMI
69 12-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين ودرجة البدانة
70 13-3- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF المصلية والجريبية والعمر ...
71 14-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية والجريبية والعمر
	15-3- دراسة تأثير خصائص المجموعة المدروسة على نتائج الإخصاب
71 في المختبر
72 16-3- دراسة تأثير خصائص المجموعة المدروسة على حدوث الحمل
73 17-3- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF ونتائج الإخصاب في المختبر.
75 18-3- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF وحدوث الحمل
	19-3- دراسة إمكانية التنبؤ بحدوث الحمل اعتماداً على قيم تركيز
75 الـ VEGF في السائل الجريبي
78 20-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين ونتائج الإخصاب في المختبر
79 21-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين وحدوث الحمل
79 22-3- دراسة حدوث متلازمة فرط تنبيه المبيض OHSS
80 23-3- دراسة شدة الإصابة بمتلازمة فرط تنبيه المبيض OHSS
	24-3- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF المصلية وحدوث متلازمة
81 الـ OHSS
	25-3- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF الجريبية وحدوث متلازمة
82 الـ OHSS
84 4- المناقشة Discussion
91 5- الاستنتاج Conclusion
92 6- التوصيات والمقترحات Recommendations & Suggestions
92 7- الملخص Summery
99 8- الملحق Appendix
103 9- المراجع References

قائمة الجداول

64	قيم منسب كتلة الجسم BMI لدى المجموعات المدروسة	الجدول 1
	العلاقة بين مستويات الليبتين ودرجة البدانة لدى مريضات الـ	الجدول 2
70	PCOS والمجموعة الشاهدة	
	العلاقة بين مستويات الـ VEGF في المصل والسائل الجريبي	الجدول 3
71	وعمر المريضة	
	العلاقة بين مستويات الليبتين في المصل والسائل الجريبي وعمر	الجدول 4
71	المريضة	
	الفروقات بين نتائج الإخصاب في المختبر لدى مجموعة	الجدول 5
72	مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة	
	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حدوث	الجدول 6
73	الحمل بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة ..	
	العلاقة بين مستويات الـ VEGF ونتائج الإخصاب في المختبر	الجدول 7
74	لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة	
	العلاقة بين مستويات الـ VEGF في السائل الجريبي وحدث	الجدول 8
77	الحمل لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة	
	قيم الحساسية والنوعية لحدث الحمل لدى عدد من القيم الحدية	الجدول 9
77	لتراكيز الـ VEGF في السائل الجريبي	
	العلاقة بين مستويات الليبتين ونتائج الإخصاب في المختبر لدى	الجدول 10
78	مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة	
	نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حدوث	الجدول 11
	متلازمة الـ OHSS بين مجموعة مريضات الـ PCOS	
80	والمجموعة الشاهدة	
	نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في	الجدول 12
	تكرارات شدة الإصابة بمتلازمة الـ OHSS بين مجموعة	
81	مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة	

قائمة الأشكال

أشكال القسم النظري

13	الأجزاء التشريحية للمبيض وتطور الجريبات	الشكل 1
15	التبدلات الهرمونية أثناء دورة الحيض	الشكل 2
39	مستقبلات الـ VEGF في الخلايا البطانية	الشكل 3
42	دور الـ VEGF في تنظيم تولد الأوعية في المبيض	الشكل 4
49	إشارة الليبتين وتثبيطها	الشكل 5

أشكال القسم العملي

57	توزع مجموعات الدراسة	الشكل 1
	منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية للـ VEGF	الشكل 2
61	والكثافة الضوئية المقاسة	
	منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية للـ VEGF	الشكل 3
62	والكثافة الضوئية المقاسة	
	منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية لليبتين والكثافة	الشكل 4
63	الضوئية المقاسة	
	منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية لليبتين والكثافة	الشكل 5
64	الضوئية المقاسة	
	متوسط مستويات الـ VEGF المصلية \pm الخطأ المعياري لدى	الشكل 6
65	مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة	
	متوسط مستويات الـ VEGF الجريبية \pm الخطأ المعياري لدى	الشكل 7
66	مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة	
	متوسط مستويات الليبتين المصلية \pm الخطأ المعياري لدى	الشكل 8
67	مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة	

- الشكل 9 متوسط مستويات الليبتين الجريبية \pm الخطأ المعياري لدى
 68 مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة
- الشكل 10 العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية والـ BMI لدى مجموعة
 68 مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة
- الشكل 11 العلاقة بين مستويات الليبتين الجريبية والـ BMI لدى مجموعة
 69 مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة
- الشكل 12 النسبة المئوية لدرجة البدانة لدى مجموعة مريضات الـ PCOS
 70 ولدى المجموعة الشاهدة
- الشكل 13 النسبة المئوية لحدوث الحمل في عينة البحث وفقاً للمجموعة
 73 المدروسة
- الشكل 14 مقارنة مستويات الـ VEGF الجريبية بين المجموعة التي حدث
 75 لديها حمل وتلك التي لم يحدث لديها حمل
- الشكل 15 حساسية ونوعية مستويات الـ VEGF الجريبية للتنبؤ بحدوث
 76 الحمل لدى مجموعة مريضات الـ PCOS
- الشكل 16 حساسية ونوعية مستويات الـ VEGF الجريبية للتنبؤ بحدوث
 76 الحمل لدى المجموعة الشاهدة
- الشكل 17 النسبة المئوية لحدوث متلازمة الـ OHSS في عينة البحث وفقاً
 80 للمجموعة المدروسة
- الشكل 18 النسبة المئوية لشدة الإصابة بمتلازمة الـ OHSS لدى مجموعة
 81 مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة
- الشكل 19 المتوسط الحسابي \pm الخطأ المعياري لتركيز الـ VEGF في
 المصل (بيكوغرام/مل) في عينة البحث وفقاً لحدوث متلازمة الـ
 82 OHSS والمجموعة المدروسة
- الشكل 20 المتوسط الحسابي \pm الخطأ المعياري لتركيز الـ VEGF في
 السائل الجريبي (بيكوغرام/مل) في عينة البحث وفقاً لحدوث
 83 متلازمة الـ OHSS والمجموعة المدروسة

قائمة الاختصارات

A	
ACTH	Adrenocorticotrophic hormone
AMH	Anti Mullerian Hormone
ART	Assisted Reproductive Technologies
AMD	Age-Related Macular Degeneration
AgRP	Agouti-related peptide
B	
BMI	Body Mass Index
C	
CAH	Congenital Adrenal Hyperplasia
COH	Controlled Ovarian Hyperstimulation
D	
DHEA-S	Dehydroepiandrosterone- sulfate
E	
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EG-VEGF	Endocrine Gland Derived Vascular Endothelial Growth Factor
F	
FSH	Follicle-stimulating hormone
FDA	Food and Drug Administration
FGF	Fibroblast Growth Factors
Flt1	Fms-like-tyrosine kinase
FF	Follicular Fluid
G	
GnRH	Gonadotropin Releasing Hormone

GIFT	Gamete Intra-Fallopian Transfer
H	
HCG	Human Chorionic Gonadotropin
HDL-C	High-Density Lipoprotein Cholesterol
I	
IGT	Impaired Glucose Tolerance
IVF	In Vitro Fertilization
ICSI	Intracytoplasmic Sperm Injection
IGF-1	Insulin-Like Growth Factor-1
IL-1- α	Interleukin-1-alpha
IL-6	Interleukin-6
J	
JAK-STAT3	Janus Kinase-Signal Transducers and Activators of Transcription 3
JAK2	Janus Kinase 2
K	
KDR	Kinase Domain Region
L	
LOD	Laparoscopic Ovarian Drilling
LH	Luteinizing hormone
N	
NIH	National Institute of Health
NP	Neuropilin
NP1	Neuropilin 1
NP2	Neuropilin 2
NPY	Neuropeptide Y
O	

17-OHP	17-Hydroxyprogesterone
OHSS	Ovarian hyperstimulation syndrome
P	
PCOS	Polycystic Ovary Syndrome
2PN	2 Pronuclei
PIGF	Placenta Growth Factor
PO ₂	Partial pressure of oxygen
PDGF	Platelet-Derived Growth Factor
PI3K	Phosphoinositide 3-kinase
POMC	Pro-opiomelanocortin
R	
rhFSH	Recombinant Human Follicle-Stimulating Hormone
S	
SHBG	Sex Hormone-Binding Globulin
sFlt-1	Soluble Fms-like tyrosine kinase-1
sVEGFR-1	Soluble Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1
SOCS-3	Suppressor of Cytokine Signaling 3
STAT-3	Signal Transducer And Activator Of Transcription 3
T	
TNF- α	Tumor Necrosis Factor-alpha
TG	Triglyceride
TSH	Thyroid Stimulating Hormone
TGF- α	Transforming growth factor alpha
TGF- β	Transforming growth factor Beta

V	
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VPF	Vascular Permeability Factor
VEGF-A	Vascular Endothelial Growth Factor-A
VEGF-B	Vascular Endothelial Growth Factor-B
VEGF-C	Vascular Endothelial Growth Factor-C
VEGF-D	Vascular Endothelial Growth Factor-D
VEGFR-1	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-1
VEGFR-2	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2
VEGFR-3	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-3
Z	
ZIFT	Zygote Intra-Fallopian Transfer

ا. القسم النظري

1- متلازمة المبيض متعدد الكيسات PCOS

1-1- مقدمة

تعد متلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) Polycystic ovary syndrome واحدة من الاضطرابات الصماوية الأكثر شيوعاً، كما أنها واحدة من الأسباب الأكثر شيوعاً للعقم الناجم عن غياب الإباضة لدى النساء في سن الإنجاب، حيث يقدر أن 90-95% من النساء المراجعات لعيادات العقم بسبب غياب الإباضة يعانين من الـ PCOS (1). ولقد نالت هذه المتلازمة اهتماماً كبيراً في العقود القليلة الماضية وينعكس هذا من خلال وجود أكثر من 1,500,000 موقع متخصص لهذه المتلازمة على شبكة الانترنت (2).

ازداد معدل انتشار متلازمة المبيض متعدد الكيسات مع استخدام معايير تشخيصية مختلفة، ولقد ثبت أنه يعادل 18% تقريباً وذلك من خلال أول دراسة انتشار مجتمعية مستندة إلى معايير روتردام الحالية للتشخيص (تم ذكرها في الصفحة 22) (3).

جرى وصف هذه المتلازمة لأول مرة من قبل العالمين Stein و Leventhal عام 1935 ولقد بقيت لعقود معروفة باسم متلازمة Stein-Leventhal (4).

تشمل السمات الرئيسية لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) اضطرابات في الإباضة وعلامات فرط الأندروجينية ومظهر مبيض متعدد الكيسات. كما أن الاضطرابات الأيضية مثل مقاومة الأنسولين والبدانة ترتبط كذلك مع هذه المتلازمة (5).

2-1- لمحة تشريحية عن المبيض

المبيضان هما الأعضاء التناسلية الحوضية الأنثوية التي تضم البويضات، كما أنها مسؤولة أيضاً عن إنتاج الهرمونات الجنسية. للمبيض شكل بيضاوي ولون أبيض ويتراوح حجمه بين 2.5-5 سم طولاً و0.7-1.5 سم عرضاً و1.5-3 سم ثخناً وذلك خلال سن الإنجاب (6). ويتكون المبيض من ثلاثة أجزاء رئيسية هي القشرة الخارجية outer cortex واللب المركزي central medulla والشبكة المبيضية rete ovarii (النقير hilum) (الشكل 1).

1-2-1- القشرة الخارجية Outer cortex

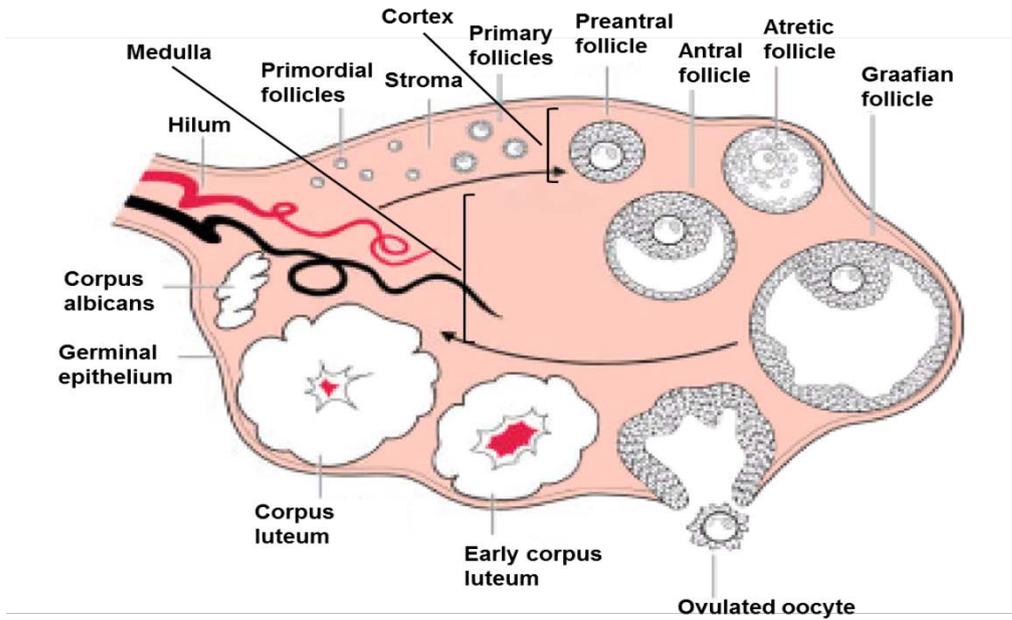
يسمى الجزء الخارجي من القشرة الغلالة البيضاء tunica albuginea يعلوها طبقة مفردة من الخلايا الظهارية المكعبة الشكل (الظهارة المنتشرة). أما الجزء الداخلي من القشرة والذي هو جزء لا يتجزأ من النسيج السدوي stroma فيحوي الخلايا البيضية المحاطة، ضمن تجمعات تدعى الجريبات. يتكون النسيج السدوي من النسيج الضام والخلايا الخلالية والتي لها القدرة على الاستجابة للهرمون الملوتن (LH) Luteinizing hormone أو لموجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (HCG) Human Chorionic Gonadotropin بإنتاج الأندروجين (7).

2-2-1- اللب المركزي Central medulla

يتميز اللب المركزي بغناه بالأوعية الدموية التي تتوزع بين ألياف النسيج الضام (7).

3-2-1- الشبكة المبيضية Rete ovarii (النقير Hilum)

هي نقطة تعلق المبيض مع مسراق المبيض، تحوي على الأعصاب والأوعية الدموية والخلايا النقيرية hilus cells (الشكل 1) والتي تملك القدرة على أن تصبح فعالة في توليد الستيرويدات (7).



الشكل 1: الأجزاء التشريحية للمبيض وتطور الجريبات (7).

3-1- تطور الجريبات خلال دورة الحيض

تتألف دورة الحيض الطبيعية من ثلاثة أطوار هي الطور الجريبي والإباضة والطور الأصفر.

خلال الطور الجريبي تحدث سلسلة منظمة من الأحداث تضمن نمو أحد الجريبات الأولية إلى مرحلة الجريب الناضج (جريب غراف)، حيث تتكاثر خلاياها المحببة وتنمو الخلية البيضية الموجودة بداخلها كما يتميز السدى ليشكل طبقتي القراب الغائر *theca interna* والقراب الظاهر *theca externa* لهذه الجريبات، ويتجمع بين الخلايا المحببة للجريب سائل يدعى السائل الجريبي، الذي يتألف من رشاحة البلازما وعوامل تفرزها الخلايا المحببة ويدفع هذا السائل بالخلية البيضية إلى أحد جوانب الجريب. وعند الإباضة انفجر جريب غراف لتخرج منه الخلية البيضية ويبدأ الطور الأصفر، حيث يزداد حجم الخلايا المحببة ويتراكم بداخلها صباغ أصفر اللون، كما تتشكل الخلايا اللوتينية القرابية *theca lutein cells* من القراب الغائر والسدى فيتشكل الجسم الأصفر، الذي يقوم بإفراز الإستروجين والبروجستيرون وفي حال حدوث الحمل يستمر هذا الإفراز حتى الشهر الثالث، لتتابع بعدها المشيمة هذه المهمة. أما إذا لم يحدث حمل فسوف تتناقص الهرمونات المفترزة من الجسم الأصفر ويضممر متحولاً إلى ندبة ميتة تدعى الجسم الأبيض وبذلك يحدث الحيض (8) (الشكل 1).

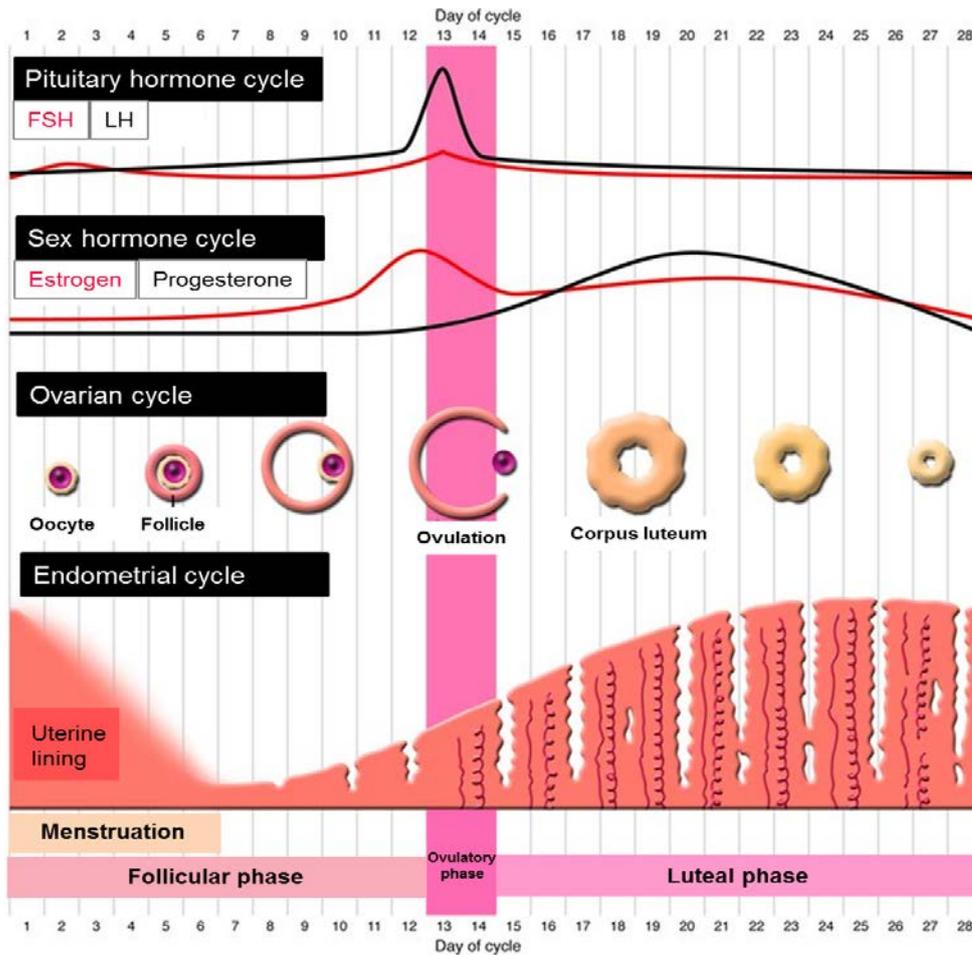
4-1- التبدلات الهرمونية خلال دورة الحيض

يفرز الوطاء نبضات من الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية (GnRH) Gonadotropin releasing hormone إلى الدوران بتواتر ومدى محددين، حيث يحفز الـ GnRH اصطناع وإفراز موجات الغدد التناسلية وهي الهرمون المنبه للجريب (FSH) والهرمون الملوتن (LH) من النخامية الأمامية (9).

تبدأ دورة الحيض عندما تنخفض مستويات الإستروجين نتيجة تدرج الجسم الأصفر، وهذا ينبه الوطاء لإفراز الـ GnRH بتواتر نبضي بطيء والذي بدوره ينبه الغدة النخامية لإفراز الـ FSH. تزداد تراكيز الـ FSH تدريجياً ويكون مسؤولاً عن نمو الجريبات وتنبيه المبيض لإفراز الإستروجين وذلك حتى اليوم 12 من الدورة. وعندما

يبلغ الإستروجين ذروته ينبه الوطاء لتحرير الـ GnRH بتواتر نبضي سريع، مما ينبه الغدة النخامية لخفض مستويات الـ FSH وتحرير دفقة من الهرمون الملوتن LH، تكون هذه الدفقة مسؤولة عن خفض تركيز الإستروجين وزيادة تركيز البروجستيرون، كما تكون مسؤولة عن تمزق جريب غراف graafian follicle وحدث الإباضة (10).

يتحول الجريب الممزق إلى ما يعرف بالجسم الأصفر الذي يعيد تحرير الإستروجين فيرتفع تركيزه أكثر مما كان عليه في الطور الجريبي، كما يقوم بزيادة تراكيز البروجستيرون الذي سيكون مسؤولاً مع الإستروجين عن نمو بطانة الرحم وذلك حتى الشهر الثالث من الحمل. أما إذا لم يحدث حمل فسوف يتدرك الجسم الأصفر بعد 12 يوماً من الإباضة وبالتالي تنخفض مستويات الإستروجين والبروجستيرون، مما ينبه الوطاء لإفراز الـ GnRH وحدث النزيف ودورة الحيض التالية (8).



الشكل 2: التبدلات الهرمونية أثناء دورة الحيض (10).

5-1- أسباب متلازمة المبيض متعدد الكيسات

إن السبب الأساسي لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات غير معروف. ولكن من المتوقع أن يكون لها أساس جيني، حيث سُجل تجمع لهذه المتلازمة ضمن العائلات. ولقد أصبح تحديد الجينات المرتبطة بالـ PCOS مجالاً بحثياً رئيسياً نظراً للفوائد المحتملة لها في كل من تشخيص ومعالجة هذه المتلازمة. اقترحت الدراسات السريرية والدراسات في المختبر In-vitro على الخلايا القراية المبيضية البشرية وجود اضطراب في تنظيم جين CYP11a لدى المريضات المصابات بالـ PCOS، حيث يرمز هذا الجين الإنزيم القاطعة للسلسلة الجانبية للكوليستيرول والذي يشكل الخطوة المحددة لمعدل الاصطناع الحيوي للستيرويدات. تشير الأدلة أيضاً إلى التنظيم صعوداً upstream لإنزيمات أخرى في طريق الاصطناع الحيوي للأندروجينات. كذلك قد يكون جين مستقبل الأنسولين على الصبغي 19p13.2 متورطاً. ومع ذلك فإن هناك حاجة إلى المزيد من البحث من أجل تحديد أدوار هذه المنتجات الجينية في إمرضية الـ PCOS (9).

6-1- الإمرضية

1-6-1- العوامل خارج المبيضية

1-1-6-1- العيوب العصبية الصماوية

يحصل لدى مريضات الـ PCOS اختلال في توازن محور الوطاء- الغدة النخامية- المبيض مؤدياً إلى نمو شاذ للجريبات وبالتالي ندرة أو غياب الإباضة، حيث تعاني مريضات الـ PCOS من فرط في إفراز الهرمون الملوتن (LH) Luteinizing hormone خلال الطور الجريبي لدوراتهن نتيجة لزيادة سعة وتواتر نبضة الـ LH مع إفراز طبيعي أو منخفض من الـ Follicle-stimulating hormone (FSH) يؤدي إلى ارتفاع نسبة LH/FSH (11، 12).

يمكن أن يكون سبب هذا الإفراز الشاذ لموجهاً الغدد التناسلية واحداً من مايلي:

- زيادة حساسية الغدة النخامية لتنبيه الـ Gonadotropin (GnRH) releasing hormone والذي يؤدي لإفراز كميات أكبر من الـ LH (11)، (13).

- زيادة تواتر نبضات إفراز الـ GnRH، حيث أن الـ GnRH يحرض إفراز الـ FSH بتواتره النبضي البطيء، بينما يحرض إفراز الـ LH بتواتره النبضي السريع (11، 13).

- انعدام حساسية مولد نبض الـ GnRH حيث أن مريضات الـ PCOS لديهن إفراز نبضي سريع ومستمر للـ GnRH (12).

تؤدي زيادة الـ LH إلى تعزيز اصطناع الأندروجين من الخلايا القرابية المبيضية، بينما يسبب عوز الـ FSH النسبي ضعفاً في نضج الجريبات (12) وزيادة في تكس الجريبات الغارية التي يتراوح قطرها ما بين 2 و8 مم (14، 15).

1-6-1-2- فرط أندروجين الدم

يعد المبيض المصدر الرئيسي لفرط الأندروجين لدى مريضات الـ PCOS (16)، وذلك بسبب زيادة عدد الخلايا القرابية وقدرتها على توليد الستيرويد، حيث تظهر معظم الجريبات في مبيض مريضات الـ PCOS ضخامة في طبقة القراب الغائر، مما يؤدي إلى زيادة عدد الخلايا المولدة للستيرويد (17)، تعد أيضاً زيادة اصطناع وإفراز الأندروجين نمطاً ظاهرياً ثابتاً للخلايا القرابية في مبيض مريضات الـ PCOS (18) والذي قد يعود إلى فرط نشاط الإنزيمات التي تلعب دوراً رئيسياً في اصطناع الأندروجين (19، 20).

تشير المستويات الدورانية المرتفعة للأندروجينات الكظرية مثل الديهيدرو إيبي أندروستيرون (DHEA-S) لدى مريضات الـ PCOS، إلى دور قشر الكظر في فرط أندروجين الدم لدى هؤلاء المريضات (21)، كما تساهم النسيج الشحمية أيضاً في فرط أندروجين الدم ولكن بدرجة أقل (16).

1-6-1-3- مقاومة الأنسولين وفرط أنسولين الدم

توجد علاقة محيرة بين مقاومة الأنسولين المؤدية إلى فرط أنسولين الدم وبين متلازمة المبيض متعدد الكيسات كون فرط أنسولين الدم قد يكون أحد مسببات الـ PCOS أو أحد نتائجه، وبالنسبة لدور فرط أنسولين الدم في إمرضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات فلقد تبين أن الأنسولين يلعب أدواراً مباشرة وغير مباشرة في حدوث فرط الأندروجين لدى مريضات الـ PCOS، وتتمثل هذه الأدوار في ما يلي:

- يعمل الأنسولين بالتآزر مع الـ LH لتعزيز إنتاج الأندروجين من الخلايا القرابية من خلال تفعيل مسارات إشارة محددة عبر مستقبله (22).
- يثبط الأنسولين الإنتاج الكبدي للغلوبولين الرابط للهرمونات الجنسية مؤدياً إلى زيادة نسبة الأندروجين المتوفر بيولوجياً (23).
- يزيد الأنسولين إنتاج الأندروجين الكظري المتواسط بالـ (ACTH) Adrenocorticotrophic hormone (24).

1-6-1-4- زيادة الفعالية الودية

يمكن أن يلعب تبدل فعالية الجهاز العصبي الودي دوراً في حدوث الـ PCOS (25)، فلقد تبين أن النساء المصابات بالـ PCOS لديهن زيادة في الفعالية الودية، والتي ترتبط بدورها مع ارتفاع مستويات التستوستيرون. ومع ذلك هنالك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتوضيح ما إذا كانت زيادة الفعالية الودية هي سبب لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات أو إحدى نتائجه (26).

1-6-1-2- العوامل داخل المبيضية

يوجد العديد من العوامل داخل المبيضية التي تبين أنها قد تلعب دوراً في إمرضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات، ومن هذه العوامل (27، 28):

- عائلة عوامل النمو البشرية (EGF) Epidermal growth factor family
- عائلة عوامل نمو الأرومة الليفية (FGF) Fibroblast growth factor family

- عائلة عوامل النمو المشابهة للأنسولين (IGF) Insulin-like growth factor family
- عائلة عوامل النمو المحولة بيتا (TGF-β) Transforming growth factor-β family وأهمها الهرمون المولري المضاد (AMH) Anti-Follistatin و الأكتيفين Activin والفوليستاتين Mullerian hormone والإنيبين Inhibin (27-30).
- عائلة عوامل النمو البطانية الوعائية (VEGF) Vascular endothelial growth factor family (28، 31).
- عائلة السيتوكينات Cytokine family ومنها الانترلوكينات وعامل النخر الورمي ألفا (TNF-α) Tumor Necrosis Factor-alpha (28، 32، 33).
- الليبتين Leptin (28، 34).

وسنتحدث عن كل من عامل النمو البطاني الوعائي VEGF والليبتين بشيء من التفصيل لاحقاً.

7-1- التظاهرات السريرية لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات 1-7-1 خلل الوظيفة المبيضية

يظهر خلل وظيفة المبيض عادةً على شكل ندرة طموث أو ضهى amenorrhea واللدان ينتجان عن قلة الإباضة المزمنة أو غياب الإباضة. ومع ذلك، يمكن لغياب الإباضة المطول أن يؤدي إلى نزيف رحمي قد يحاكي الدورات الحيضية المنتظمة.

تعاني غالبية مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات من خلل الوظيفة المبيضية، حيث أن 70% إلى 80% من مريضات الـ PCOS لديهن ندرة طموث أو ضهى (35).

7-1-2 فرط الأندروجينية

تشمل العلامات السريرية لفرط الأندروجينية الشعرانية بالدرجة الأولى بالإضافة إلى حب الشباب والصلع.

إن متلازمة المبيض متعدد الكيسات هي سبب شائع للشعرانية، فهي تحدث في حوالي 60% من الحالات، حيث ينمو الشعر لدى المريضات ويتوزع وفق نمط ذكوري. يظهر أيضاً حب الشباب في ثلث الحالات ولكنه ليس نوعياً للـ PCOS، في حين يظهر فقدان الشعر من النمط الذكوري (الصلع الذكوري) بشكل أقل تواتراً لدى مريضات الـ PCOS لأنه يتطلب عادة أهبة عائلية familial predisposition (1).

3-7-1- مقاومة الأنسولين وشدوذ استقلاب الجلوكوز

تحدث مقاومة الأنسولين لدى حوالي 50% إلى 70% من النساء المصابات بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات (36). أما الآليات التي تساهم في حدوث مقاومة الأنسولين فهي معقدة وتساهم بها عوامل وراثية وبيئية (37).

ويكون لدى النساء المصابات بالـ PCOS اختطاراً زائداً لتطویر ضعف تحمل الجلوكوز IGT والداء السكري نمط-2 (38).

4-7-1- شدوذ شحميات الدم Dyslipidaemia

إن شدوذ شحميات الدم شائع جداً لدى مريضات الـ PCOS وتصل نسبة انتشاره حتى 70%، حيث تعاني مريضات الـ PCOS من ارتفاع ثلاثيات الغليسيريد (TG) وانخفاض كوليستيرول البروتين الشحمي المرتفع الكثافة (HDL-C) (39).

5-7-1- البدانة

تكون النساء المصابات بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات أكثر عرضة للبدانة obesity (40)، حيث يكون لديهن ارتفاع في منسب كتلة الجسم (BMI) Body Mass Index ونسبة الخصر إلى الورك (W/H ratio) مقارنة مع الشواهد (41). وتعكس هذه النسبة النمط المركزي من البدانة والتي تعد عامل اختطار للإصابة بالأمراض القلبية الوعائية (9).

6-7-1- المتلازمة الاستقلابية والأمراض القلبية الوعائية

تتظاهر المتلازمة الاستقلابية بمقاومة الأنسولين والبدانة وشدوذ شحميات الدم، وفرط الضغط (42)، ويصل معدل انتشار هذه المتلازمة إلى ما يقرب من 45% لدى النساء

المصابات بالـ PCOS (43)، كما ترتبط هذه المتلازمة مع زيادة اختطار الإصابة بالأمراض القلبية الوعائية والداء السكري نمط-2 (42).

7-7-1- الشواك الأسود Acanthosis nigricans

تتسم هذه الحالة الجلدية بظهور لويحات مخملية سميكة ذات لون بني- رمادي في مناطق الثنيات مثل الجزء الخلفي من الرقبة والإبطيين والثنية تحت الثدي وأعلى الفخذ، وهو علامة جلدية لمقاومة الأنسولين. وينتشر الشواك الأسود بشكل أكبر بكثير لدى النساء البدينات المصابات بالـ PCOS (نسبة حدوثه 50%) مقارنة مع النساء طبيعيات الوزن المصابات بالـ PCOS (5-10%) (9).

8-7-1- انقطاع النفس الانسدادي النومي

إن انقطاع النفس الانسدادي النومي شائع لدى مريضات الـ PCOS ومرتبطة بالبدانة المركزية ومقاومة الأنسولين (44). ولقد أظهر الباحثون أن اختطار انقطاع النفس النومي يكون أعلى بحوالي 30-40 ضعفاً لدى النساء المصابات بالـ PCOS مقارنة مع الشواهد المطابقات بالوزن (9).

9-7-1- تكون الورم البطاني الرحمي

يزداد اختطار الإصابة بالسرطان البطاني الرحمي حوالي ثلاثة أضعاف لدى النساء المصابات بالـ PCOS، حيث يعد فرط التنسج البطاني الرحمي والسرطان البطاني الرحمي من المخاطر طويلة الأمد لغياب الإباضة المزمن (9).

10-7-1- العقم

تعد متلازمة المبيض متعدد الكيسات السبب الأكثر شيوعاً للعقم الناجم عن غياب الإباضة، فحوالي 90-95% من النساء المراجعات لعيادات العقم بسبب غياب الإباضة يعانين من الـ PCOS (9).

1-7-11- الإجهاض

تعاني مريضات الـ PCOS من زيادة معدلات الإجهاض المبكر والذي تصل نسبته لديهن إلى 30-50% مقارنة مع 15% لدى النساء عموماً. وإن سببية حدوث الإجهاض المبكر لدى النساء المصابات بالـ PCOS غير واضحة (45، 46).

1-7-12- المضاعفات خلال الحمل

تبين أن اختطار كل من السكري الحلمي وفرط الضغط المحرض بالحمل والولادة المبكرة والوفيات في الفترة المحيطة بالولادة يكون أعلى بضعفين إلى ثلاثة أضعاف لدى النساء المصابات بالـ PCOS (47).

1-8- التشخيص

في عام 1990، أكدت المعايير التي نشرها المعهد الوطني للصحة (NIH) National Institute of Health أن متلازمة المبيض متعدد الكيسات هي اضطراب استقلابي/ تناسلي وأنه يلزم لتشخيصها وجود غياب إباضة مترافق مع فرط الأندروجينية الكيميائي الحيوي أو السريري (48). ولكن وبسبب الاعتقاد السائد بأن المورفولوجيا المتعددة الكيسات هي سمة مميزة لدى هؤلاء النساء فقد تمت صياغة معايير تشخيصية جديدة في مؤتمر روتردام عام 2003 والتي تعتمد على وجود اثنين على الأقل من المعايير الثلاثة التالية:

- ندرة أو غياب الإباضة
- علامات فرط الأندروجينية (علامات سريرية أو مخبرية كيميائية حيوية)
- مظهر مبيض متعدد الكيسات بالأموح فوق الصوتية.

مع استبعاد وجود اعتلال صماوي آخر (49).

وتعد معايير روتردام حالياً هي المعايير التشخيصية المتفق عليها دولياً لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات (1).

1-8-1- ندرة أو غياب الإباضة

يحدث عدم انتظام الحيض لدى النساء المصابات بالـ PCOS بسبب غياب الإباضة، وتتواجد عادة الاضطرابات الحوضية على هيئة ندرة طموث (أقل من 8 نزوف حوضية في السنة أو حدوث الحيض بفواصل زمنية تزيد على 35 يوماً) (50).

1-8-2- علامات فرط الأندروجينية

تشمل العلامات السريرية لفرط الأندروجينية الشعرانية وحب الشباب والصلع. ويجب تحديد الشعرانية وفقاً لمعايير فيرمان-غالوي، والتي يتم فيها تقييم التوزع غير الطبيعي للشعر في تسع مناطق من الجسم بدرجات تتراوح ما بين 0-4 في كل منطقة، حيث أن زيادة الدرجات الرقمية يتوافق مع قدر أكبر من كثافة الشعر. وتُحدّد الشعرانية عندما تكون الدرجة تساوي 8 أو أكثر (9).

أما مخبرياً فإن فرط الأندروجينية موجود لدى معظم مريضات الـ PCOS. ولكن القياس الكيميائي الحيوي للأندروجين لدى مريضات الـ PCOS محدود بسبب ضعف دقة ونتائج المقاييسات، التي صممت لمستويات أعلى بكثير من الأندروجين الذكري. ويوصى عموماً بقياسات مؤشر الأندروجين الحر، والمستمدة في المختبر من قياس الغلوبولين الرابط للهرمونات الجنسية (SHBG) Sex Hormone-Binding Globulin والتستوستيرون الكلي (1، 51).

1-8-3- مظهر مبيض متعدد الكيسات

يتطلب إثبات وجود المبيض متعدد الكيسات إما وجود 12 جريب أو أكثر، يتراوح قطرها ما بين 2-9 ملم أو حجم مبيض أكبر من 10 سم³، حيث يدل كل منهما على مظهر مبيض متعدد كيسات حتى لو تم تحديدها في مبيض واحد فقط (52).

1-8-4- التشخيص التفريقي

1-4-8-1 فرط تنسج القراب المبيضي Ovarian hyperthecosis

يشير فرط تنسج القراب المبيضي إلى حالة تكاثرية غير اعتيادية يصبح فيها المبيض محتوياً على تجمعات من الخلايا القرابية الملوتنة المبعثرة في سدى Stroma

المبييض. يكون المبييض متضخماً ولكن غياب تشكل الجريبات يعد علامة مورفولوجية واضحة تميزه عن المبييض في الـ PCOS. وبسبب وجود تراكيز أندروجين مصلية مرتفعة تعاني مريضات هذه الحالة من شعرانية شديدة وتظهر لدى نسبة كبيرة من المريضات علامات الاسترجال (53).

1-8-4-2- فرط تنسج الكظر الخلقي

Congenital adrenal hyperplasia (CAH)

يتضمن هذا الاضطراب العديد من العيوب الإنزيمية وأكثرها شيوعاً عوز إنزيم 21-هيدروكسيلاز. إن النمط غير الكلاسيكي من هذا الاضطراب والذي يبدأ في سن البلوغ يحاكي مظاهر الـ PCOS، حيث تعكس أعراضه تكديس 17-هيدروكسي بروجستيرون (17-OHP) 17-Hydroxyprogesterone (17-OHP)، ولأن 17-OHP هو طليعة للأندروجين فإن هذا العيب يترافق مع زيادة إنتاج الأندروستيديون والتستوستيرون مؤدياً إلى فرط أندروجينية. وعلى الرغم من أن هذا الاضطراب متشابه سريرياً مع الـ PCOS فإن هنالك بعض المظاهر التي تساعد في تشخيصه وهي الشعرانية الشديدة والطموث المنتظمة والاستعداد العائلي وقصر القامة (53).

1-8-4-3- متلازمة كوشينغ Cushing's syndrome

تنجم المظاهر السريرية لمتلازمة كوشينغ عن الإنتاج المفرط للأندروجين من الورم الكظري أو عن الإنتاج المفرط للهرمون الموجه لقشر الكظر (ACTH)، الذي ينجم غالباً عن ورم الغدة النخامية. وتشمل الأعراض الشائعة لهذه المتلازمة البدانة والشعرانية وحب الشباب وعدم انتظام الحيض. وهذا ما يوحي بتشخيص الـ PCOS. ولكن تتميز متلازمة كوشينغ بالوجه البدري وحذبة بوفالو وفرط الضغط والهزال العضلي وتخلخل العظم، بالإضافة إلى وجود زيادة في إطراح الكورتيزول الحر في البول (53).

1-8-4-4- الأورام المفرزة للأندروجين

Androgen producing neoplasms

تنشأ هذه الأورام النادرة المفرزة للأندروجين في المبيض والغدة الكظرية. وعلى الرغم من شدة التظاهرات الأندروجينية فإن المراحل المبكرة لهذه الأورام تحاكي ال-PCOS، ولكن البدء السريع للأعراض يعد دليلاً هاماً لتشخيص هذه الأورام (53).

1-8-4-5- التقييم المخبري

يجب أن يدعم التقييم المخبري الدليل على وجود متلازمة المبيض متعدد الكيسات وأن ينفي الاضطرابات الأخرى المذكورة سابقاً، حيث يجب أن تخضع كل مريضة للاختبارات التالية:

- اختبار الحمل.
- TSH (لنفي قصور الدرقية)
- البرولاكتين (لنفي فرط برولاكتين الدم)
- 17-هيدروكسي بروجستيرون (لنفي فرط تنسج الكظر الخلقي ذو البداية المتأخرة والمسبب بعوز إنزيم 21- هيدروكسيلاز) فإذا كانت قيمته > 200 نانوغرام/دل (> 6 نانومول/ل) خلال الطور الجريبي فهذا ينفي فرط تنسج الكظر.
- التستوستيرون الكلي (لنفي الورم المبيضي وفرط تنسج القراب) فإذا كانت قيمته ≤ 200 نانوغرام/دل (≤ 6.9 نانومول/ل) فهذا يدل على وجود ورم مبيضي أو كظري.
- سلفات ديهيدرو إيبي أندروستيرون (DHEA-S) Dehydro-epiandrosterone- sulfate (لنفي الورم الكظري)، فإذا كانت قيمته ≤ 800 مكغ/مل فهذا دليل على وجود ورم كظري.

إذا كان هنالك اشتباه بمتلازمة كوشينغ، تُقاس مستويات الكورتيزول الحر في بول 24 ساعة، فإذا كانت القيمة أكبر من ثلاثة أضعاف الحد السوي فهذا يؤكد التشخيص (53)، (54).

9-1- علاج متلازمة المبيض متعدد الكيسات

1-9-1- التحكم بالحيض غير المنتظم

1-1-9-1- مانعات الحمل الفموية

تعد مانعات الحمل الفموية المشتركة الخط العلاجي الأول لعدم انتظام الحيض، حيث أنها تثبط إطلاق موجهة الغدد التناسلية والتي تؤدي إلى نقصان إنتاج الأندروجين المبيضي. أيضاً يزيد محتوى الإستروجين من مستويات الغلوبولين الرابط للهرمونات الجنسية SHBG، أما محتوى البروجستيرون فإنه يناهض تأثير الإستروجين في تكاثر بطانة الرحم فينقص اختطار فرط تنسج بطانة الرحم العائد للإستروجين (9).

2-1-9-1- تبدل نمط الحياة/ إنقاص الوزن

يعد تبدل نمط الحياة الذي يعتمد على اتباع نظام غذائي وممارسة التمارين الرياضية ذو أهمية قصوى في معالجة مريضات الـ PCOS البدينات (9). حيث يؤدي فقدان نسبة قليلة (حوالي 10%) من وزن الجسم إلى تحسين مستويات الهرمونات وتنظيم الطمث واستعادة دورات الإباضة الطبيعية (55).

3-1-9-1- الأدوية المحسنة للأنسولين

على الرغم من أن استخدام الأدوية المحسنة للأنسولين إلا أنه لم تجر الموافقة عليها من قبل إدارة الأغذية والأدوية (FDA) Food and Drug Administration، فلقد تبين أنها مفيدة لكل من عملية الاستقلاب وللجهاز التناسلي (9). ومن هذه الأدوية:

الميتفورمين Metformin

يحسن الميتفورمين من الحساسية المحيطية للأنسولين عن طريق الحد من إنتاج الجلوكوز الكبدي، وزيادة حساسية الأنسجة الهدف للأنسولين، كما أنه ينقص الأندروجين لدى كل من النساء النحيلات والبدينات عن طريق تثبيط إنتاج الأندروجين من الخلايا القرابية في المبيض، مما يؤدي إلى زيادة معدلات الإباضة العفوية (9)، علماً أن الدراسات الحديثة أثبتت أن معدلات الحمل بقيت نفسها تقريباً بالمقارنة بين النساء اللاتي استخدمن الميتفورمين والنساء الشواهد (56).

1-9-2- معالجة الشعرانية

1-2-9-1- مانعات الحمل الفموية المشتركة

إن مانعات الحمل الفموية المشتركة فعالة في خفض إنتاج الأندروجين المبيضي. ويؤدي الإستروجين الموجود في هذه الحبوب إلى زيادة مستويات الغلوبولين الرابط للهرمونات الجنسية (SHBG) Sex Hormone-Binding Globulin والتي تؤدي إلى ربط كميات أكبر من التستوستيرون الحر، وبالتالي يصبح غير متوفر بيولوجيا لبصيلات الشعر (9).

1-2-9-2- مناهضات مستقبلات الأندروجين

على الرغم من أن هذه العوامل فعالة في علاج الشعرانية، إلا أن لها العديد من الآثار الجانبية، مثل النزيف الرحمي والاختطار النظري للخنوثة الكاذبة لدى الأجنة الذكور، وذلك عند استخدامها في مرحلة مبكرة من الحمل. لذا فإن هذه الأدوية تستخدم عادة بالتزامن مع مانعات الحمل الفموية. لم توافق إدارة الأغذية والأدوية (FDA) Food and Drug Administration على استخدام أي من مضادات الأندروجين لعلاج فرط الأندروجينية ومع ذلك تستخدم بعض هذه الأدوية مثل السبيرونولولاكتون (9) Spironolactone.

1-2-9-3- مثبطات 5 ألفاريدوكتاز

يمكن إنقاص تحول التستوستيرون إلى ديهيدروتستوستيرون بشكل فعال باستخدام الفيناسترايد finasteride وهو مثبط لل-5-ألفاريدوكتاز. ولقد أظهرت معظم الدراسات أن الفيناسترايد فعال بشكل متواضع في علاج الشعرانية (9).

1-2-9-4- إيفلورنيتين هيدروكلورايد

إيفلورنيتين هيدروكلورايد مثبط غير عكوس للأورنيتين نازعة الكربوكسيل Ornithine decarboxylase التي تعد إنزيماً ضرورية لانقسام ووظيفة خلايا جريب الشعرة، ويؤدي تثبيطها إلى إبطاء نمو الشعر. يكون هذا الدواء على شكل كريم يتم تطبيقه موضعياً على مناطق الشعرانية في الوجه، إلا أنه لا يزيل الشعر بشكل دائم،

وبالتالي هنالك حاجة لمواصلة الأساليب الروتينية لإزالة الشعر أثناء استخدام هذا الدواء (9).

1-3-9-3- معالجة ضعف الخصوبة

1-3-9-1- سترات الكلوميدين

تُستخدم سترات الكلوميدين كخط أول في تحريض الإباضة منذ أكثر من 40 عاماً (56). وهي تعمل انتقائياً على مستقبلات الإستروجين، فتحفز إنتاج وإفراز الـ FSH داخلي المنشأ عن طريق إيقاف التغذية الرجعية للإستروجين عن كل من الوطاء والغدة النخامية. حوالي 60-85% من المريضات سوف تحصل لديهن إباضة باستخدام سترات الكلوميدين (57). ويمكن أن يعطى الميتفورمين بالإضافة إلى سترات الكلوميدين لدى النساء المقاومات للكلوميدين اللاتي أكبر سناً واللاتي لديهن بدانة حشوية (58).

1-3-9-2- موجهات الغدد التناسلية

تعد موجهات الغدد التناسلية الخط العلاجي الثاني لدى مريضات الـ PCOS غائبات الإباضة، حيث تستخدم عندما تفشل مريضات الـ PCOS في الإباضة أو الحمل باستخدام أدوية تحريض الإباضة الفموية. يعد الـ FSH البشري المأشوب هو المستحضر الأساسي منها، ويمكن أن يستخدم من قبل المريضة نفسها كونه يعطى تحت الجلد.

ويتطلب العلاج بموجهات الغدد التناسلية مراقبة المريضات مخبرياً وبالتصوير فائق الصوت. أما سلبيات هذه المعالجة فهي ارتفاع تكاليفها ومخاطر الحمل المتعدد ومتلازمة فرط تنبيه المبيض (56).

1-3-9-3- تثقيب المبيض

يستخدم تثقيب المبيض بالمنظار (Laparoscopic ovarian drilling (LOD) إما الكي أو الليزر لخلق عدة ثقوب في المبيض، فحوالي 80% من مريضات الـ PCOS يصبح لديهن إباضة بعد تثقيب المبيض، ولكن تأثيراته في تشكيل التصاقات بعد العملية الجراحية لا تزال مصدر قلق. ويستخدم تثقيب المبيض بالمنظار لدى مريضات الـ

PCOS المقاومات للكلوميفين، وخاصة عندما تكون هنالك استجابات أخرى لتنظيف البطن (56).

1-3-9-4- مثبطات الأروماتاز

تمنع مثبطات الأروماتاز تحول التستوستيرون والأندروستنديون إلى استراديول وإيسترون، على الترتيب. وبالتالي فهي تثبط الارتجاع السلبي للإستروجين estrogen-negative feedback على المحور الوطائي النخامي، وهذا يؤدي إلى زيادة إفراز موجهات الغدد التناسلية والتي تؤدي بدورها إلى نمو الجريبات وتطورها (59).

1-3-9-5- الإخصاب في المختبر In Vitro Fertilization

الإخصاب في المختبر (IVF) In Vitro Fertilization هو الخيار العلاجي لمريضات الـ PCOS اللاتي فشل لديهن الحمل باستخدام موجهات الغدد التناسلية أو في حال كانت هنالك استجابات أخرى لعملية الإخصاب في المختبر (56). وسنتحدث عنه بشيء من التفصيل في الفقرة التالية.

2- الإخصاب في المختبر IVF

2-1- تعريف

الإخصاب في المختبر هو أحد تقنيات الإخصاب المساعد (ART) Assisted Reproductive Technologies والتي هي بالتعريف تطبيق تقنيات مخبرية أو سريرية على الأعراس و/ أو الأجنة بغرض الإنجاب (60).

تشمل تقنيات الإخصاب المساعد:

- الإخصاب في المختبر (IVF) In Vitro Fertilization هو التقنية التي يجري فيها جمع البويض مع الحيوانات المنوية خارج الجسم، حيث يجري الإخصاب والحصول على أجنة، تنقل بعدها إلى الرحم (60).
- حقن النطفة داخل الهيولى (ICSI) Intracytoplasmic Sperm Injection

ويجري فيه انتقاء نطفة ناضجة واحدة وحقنها مباشرة في كل بيضة من أجل تخصيبها. يستطب الـ ICSI بشكل رئيسي في حالات العقم الذكري الشديدة أو في حال فشل الـ IVF (61).

- نقل الأعراس إلى داخل البوق (GIFT) Gamete Intra-Fallopian Transfer

ويجري فيه وضع البويض الناضجة والحيوانات المنوية مباشرة في قنوات فالوب وهو المكان الذي يجري فيه الإخصاب الطبيعي (61).

- نقل الخلية اللاقحة إلى داخل البوق Zygote Intra-Fallopian Transfer (ZIFT)

يجمع هذا الإجراء بين الـ IVF والـ GIFT، حيث يتم إخصاب البويض في المختبر ثم توضع الأجنة في قنوات فالوب (61).

2-2- مراحل دورة الإخصاب المساعد

تشمل دورة الإخصاب المساعد النموجية المراحل التالية:

2-2-1- التنظيم النزلي downstream لمستقبلات الـ GnRH باستخدام نواهض الـ GnRH

تمنع نواهض الـ GnRH agonists الإباضة العفوية وتقلل مضاعفات العلاج، وتتيح التحكم بالإباضة لتكون معتمدة حصراً على إعطاء الأدوية الخارجية.

عندما تستخدم نواهض الـ GnRH فإنها تسبب تأثيراً ناهضاً أولاً يترافق مع التنظيم صعوداً upstream لمستقبلات الـ GnRH في الغدة النخامية، وقد يتظاهر هذا النشاط الأولي بزيادة تأثيرات موجهة الغدد التناسلية (وهذا ما يسمى الاستجابة بالوهيج flare response). ولكن الإعطاء المستمر لنواهض الـ GnRH يؤدي إلى التنظيم النزلي لمستقبلات الـ GnRH، مما يؤدي إلى الحد الأدنى من الإنتاج القاعدي للـ LH والـ FSH وعدم تنبيه الجريبات المبيضية. لذلك تؤدي نواهض الـ GnRH إلى ركود محور الوطاء- الغدة النخامية-المبيض وإلى حالة تشبه انقطاع الطمث وتتميز بمستويات منخفضة من الاستراديول.

يعد بروتوكول التنظيم النزلي الطويل أو الأصفر البروتوكول الأكثر شيوعاً لتحقيق فرط الإباضة في الـ ART. في هذا البروتوكول، يبدأ استخدام ناهض الـ GnRH في طور الأصفر (اليوم 21) من الدورة السابقة، مما يقلل من تأثير الوهيج ويمنع توظيف الجريبات التي يعتقد أنها تبدأ في طور الأصفر.

عادة ما يتحقق تثبيط المبيض بعد حوالي 10 أيام من العلاج بناهض الـ GnRH. بمجرد تأكيد تثبيط المبيض، يمكن البدء بفرط تنبيه المبيض المراقب باستخدام موجبات الغدد التناسلية (62).

2-2-2- فرط تنبيه المبيض المراقب

Controlled Ovarian Hyperstimulation (COH)

تعمل الأدوية المستخدمة في فرط تنبيه المبيض المراقب من خلال رفع تراكيز الـ FSH والمحافظة عليها مرتفعة، للسماح بتطور العديد من الجريبات الناضجة بدلاً من جريب سائد واحد في الحالة السوية، ويسمح ذلك بالحصول على عدة خلايا بيضية تسمح بالحصول على مجموعة من الأجنة عند تطبيق تقنية الإخصاب في المختبر، وبالتالي إمكانية انتقاء الأجنة التي تملك احتمالاً أكبر للانغراس في الرحم. وتتم مراقبة نمو الجريبات باستخدام مستويات الاستراديول المصلية والتصوير المهبلي فائق الصوت. عندما تصل الجريبات إلى حجم كاف، والذي يكون عادة بعد 9-11 يوماً، يجري إعطاء موجبة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (hCG) (60).

2-2-3- حقن موجبة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية

يؤدي حقن الـ hCG إلى تحريض النضج النهائي للخلايا البيضية قبل استرجاعها. وجرعة الـ hCG المستخدمة عادة هي 10000 وحدة دولية تعطى في العضل (62).

2-2-4- استرجاع الخلايا البيضية

يجري استرجاع الخلايا البيضية عادة بعد 35 ساعة من حقن الـ hCG. ويتم ذلك باستخدام المنظار الموجه بالتصوير المهبلي فائق الصوت. وتجري هذه العملية عادة تحت التخدير العام (62).

2-2-5- استرجاع الحيوانات المنوية

يتم استرجاع الحيوانات المنوية الطازجة من السائل المنوي للشريك الذكر في اليوم نفسه لاسترجاع الخلايا البيضية. ويمكن أيضاً استخدام الحيوانات المنوية المجمدة المذابة. أما إذا كان الشريك فاقداً للطف *azoospermic*، فيتم استرجاع الحيوانات المنوية من الخصيتين أو البربخ عن طريق الجلد أو باستخدام تقنيات الخزعة المفتوحة (60).

ثم تجري معالجة الحيوانات المنوية وتركيزها وحضنها في وسط معزز بالبروتين لمدة 3 - 4 ساعات قبل استخدامها للإخصاب. ويسمح هذا الحضن النهائي بالقدرة التلقحية للحيوانات المنوية (62).

2-2-6- الإخصاب في المختبر

قبل الإخصاب، توضع الخلايا البيضية المسترجعة في وسط معزز بالبروتين لمدة 6 - 8 ساعات. ومن أجل الإخصاب يوضع 50000 إلى 100000 حيوان منوي مع خلية بيضية واحدة في المستنبت، وبعد 16 إلى 18 ساعة، يجري إثبات الإخصاب عن طريق وجود طليعتي نواة (2PN) *pronuclei* 2 ضمن الزيجوت (62).

2-2-7- دعم الطور الأصفر

قد تؤثر عملية استرجاع الخلايا البيضية والخلايا المحببة المرتبطة بها سلباً على وظيفة الجسم الأصفر، فهناك اختطار محتمل لعدم كفاية البروجستيرون. ولذلك، فإن هناك حاجة لدعم الطور الأصفر باستخدام البروجستيرون (62).

2-2-8- نقل الأجنة

يسمح للأجنة بأن تنمو في الأوساط الزرعية حتى حوالي 72 ساعة (أو 3 أيام بعد استرجاع الخلايا البيضية)، ثم يجري نقلها إلى جوف الرحم (62).

9-2-2- اختبار الحمل ومتابعة الحمل المبكر

يمكن القيام بتحديد مستويات الـ hCG المصلية بدءاً من اليوم 16 بعد استرجاع الخلايا البيضية، حيث ترتبط مستويات الـ hCG المصلية التي تكون أقل من 50 وحدة دولية / ل مع فرصة 35٪ لمتابعة الحمل داخل الرحم؛ في حين تنتبأ المستويات الأعلى من 500 وحدة دولية / ل بنجاح الحمل في أكثر من 95٪ من الحالات (63).

وعادة ما يتابع المرضى من خلال مستويات الـ hCG المصلية التسلسلية في وقت مبكر من الحمل، يليها التصوير المهبلي فائق الصوت في الأسبوع 5-6 من الحمل للتأكد من توضع الحمل داخل الرحم وعدد الأكياس الحملية (62).

3-2- مضاعفات تقنيات الإخصاب المساعد

1-3-2- متلازمة فرط تنبيه المبيض OHSS

1-1-3-2- تعريف

متلازمة فرط تنبيه المبيض (OHSS) Ovarian hyperstimulation syndrome هي الأثر الضائر الأكثر شيوعاً وخطراً لفرط تنبيه المبيض المراقب، حيث تحدث لدى النساء اللاتي يعانين من استجابة مفرطة للمعالجة الدوائية والتي تؤدي إلى زيادة مستويات الاستروجين وحجم المبيض، وزيادة نفوذية الشعيرات الدموية واختلال توازن السوائل (60).

ولقد جرى التمييز بين الـ OHSS ذو البداية المبكرة والـ OHSS ذو البداية المتأخرة، حيث يحدث الـ OHSS المبكر في غضون 9 أيام من استرجاع الخلايا البيضية، ويرتبط مع ارتفاع مستويات الاستراديول المصلية وأعداد الجريبات خلال فرط تنبيه المبيض المراقب. بالمقابل، فإن الـ OHSS المتأخر لا يرتبط مع قياسات الاستجابة الجريبية ولكن بدلاً من ذلك يرتبط مع الحمل المتعدد. ولقد اقترح أن الـ OHSS المبكر قد ينتج عن تنبيه المبيض بالـ hCG خارجي المنشأ، الذي يتم إعطاؤه لتحريض الإباضة، في حين قد يرتبط الـ OHSS المتأخر بشكل وثيق مع الـ hCG داخلي المنشأ الذي يتم إنتاجه بعد حدوث الحمل (64).

2-1-3-2- الفيزيولوجيا المرضية للـ OHSS

على الرغم من أن الفيزيولوجيا المرضية للـ OHSS ليست مفهومة بشكل جيد، يمكن أن تعزى علامات وأعراض هذه المتلازمة إلى الزيادة الموسمية والجهازية لنفوذية الشعيرات الدموية والتي تؤدي بدورها إلى تسرب السائل الغني بالبروتين من الفضاء داخل الوعائي إلى الفضاء الثالث وبشكل رئيسي جوف البطن (65).

ومن العوامل التي يمكن أن تلعب دوراً في إمرضية هذه المتلازمة:

- زيادة إنتاج المواد الفعالة وعائياً من قبل المبيض مفرط التنبيه مثل طليعة الرينين prorenin والرينين والإنزيم المحول للأنجيوتنسين والأنجيوتنسين-1 والأنجيوتنسين-2 ومولد الأنجيوتنسين (66).
- الاستجابات الالتهابية مع أدوار محتملة للسيتوكينات والهيستامين والبروستاغلاندين في التسبب بالمرض (62).
- عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) والذي سنتحدث عنه لاحقاً بشيء من التفصيل (67).

2-1-3-3- عوامل الاختطار

يوجد العديد من عوامل الاختطار لحدوث متلازمة فرط تنبيه المبيض، وتقسم هذه العوامل إلى:

عوامل اختطار أولية (متعلقة بالمریضة)

- صغر السن (> 33 عام) (68-70).

- النحول الشديد (68).

- متلازمة المبيض متعدد الكيسات (69، 70).

- إصابة سابقة بالـ OHSS (69، 70).

عوامل اختطار ثانوية (متعلقة بالاستجابة المبيضية)

- زيادة عدد الجريبات المنبهة والخلايا البيضية المسترجعة

- مستويات استراديول مصلية مرتفعة (69، 71).

2-3-1-4- أعراض الـ OHSS

تملك الـ OHSS مجموعة متنوعة من الأعراض السريرية. ولقد جرى تصنيف هذه المتلازمة حسب شدة الأعراض إلى خفيفة ومتوسطة وشديدة. في الـ OHSS الخفيف، تشكو المريضات غالباً من ألم وانتفاخ خفيف في البطن وغيثان وإقياء ويمكن أن يصل حجم المبيض إلى 5-12 سم. وتتميز المرحلة المتوسطة لهذه المتلازمة بوجود استسقاء بطني عند الفحص بالموجات فوق الصوتية. في حين يتم تشخيص المرحلة الشديدة عندما تكون هنالك علامات سريرية للاستسقاء الشديد وموه الصدر hydrothorax وضيق النفس وتركز الدم وفرط الخثرية أو أي مضاعفات للـ OHSS، مثل الفشل الكلوي أو الانصمام الخثاري أو متلازمة الضائقة التنفسية الحادة (62، 65).

2-3-1-5- الوقاية من متلازمة فرط تنبيه المبيض OHSS

اقترحت استراتيجيات عدة للوقاية من الـ OHSS ومنها: إنضاج الخلايا الببضية في المختبر (72)، وتقنية الفطام coasting وفيها يتم الامتناع عن إعطاء موجهة الغدد التناسلية وتأخير إعطاء الـ hCG حتى انخفاض مستويات الاستراديول المصلية أو حتى يصبح القطر الجريبي أكبر أو يساوي 18 مم (62، 73)، وإنقاص جرعة التنبيه للـ hCG، والتنبيه باستخدام ناهضات الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية. ولكن وعلى الرغم من الاستخدام الواسع لهذه التقنيات الوقائية إلا أن الأدلة الداعمة لها محدودة (65).

2-3-2- الحمل المتعدد Multiple pregnancy

الحمل المتعدد هو مضاعفة شائعة لتقنيات الإخصاب المساعد نتيجة لنقل أكثر من جنين واحد، وهو يحدث في حوالي 24.7% من دورات الـ IVF (60).

2-3-3- التشوهات الخلقية Congenital malformations

يظهر الأزواج المتقدمون للـ ART ارتفاعاً في معدلات إعادة الترتيب الصبغي chromosomal rearrangement (74)، وقد أثار هذا مخاوف من أن تؤدي الـ ART إلى ارتفاع معدلات التشوهات الخلقية. في حين أظهرت تقارير أخرى أن الأدلة بشأن السلامة النسبية للـ ART كانت مطمئنة ولم تؤكد ارتفاع معدل التشوهات الخلقية

في الأطفال المولودين بتقنية الـ ART مقابل الحمل العفوي، ولكن حتى الآن لا توجد تجارب كافية لتقييم هذه القضايا (60).

4-3-2- الحمل المنتبذ والحمل المشترك Ectopic and Heterotopic Pregnancies

إن نسبة حدوث الحمل المنتبذ عند عامة الناس هي 2٪، ويزداد احتمال الإصابة به في الـ IVF ويمكن أن تصل إلى 4٪ (75)، وعوامل الاختطار الرئيسية للحمل المنتبذ في الـ IVF هي العقم بسبب عامل أنبوبي واستئصال الورم العضلي السابق. أما نسبة حدوث الحمل المشترك (نادر عادة ويحدث فيه حمل منتبذ وحمل داخل الرحم معاً) فترتفع لتصبح 1٪ بعد علاج الـ IVF، ويعتقد أن السبب هو الحمل المتعدد والمستويات الهرمونية المرتفعة خلال فرط تنبيه المبيض المراقب (62).

5-3-2- السرطان

تمت الإشارة إلى احتمال أن تعزز أدوية تحريض الإباضة نمو سرطانات الجهاز التناسلي لأول مرة من قبل Whittemore وزملائه في أوائل التسعينات، وتحديدًا في ما يتعلق بسرطان المبيض (76). ولكن حتى الآن تقتصر الكثير من الأدلة على دراسات صغيرة قصيرة المتابعة مع الإبلاغ القليل عن نوع واستجابات الأدوية المستخدمة. وبالتالي، هنالك حاجة إلى مزيد من البحث لإجراء تحقيق شامل في الروابط المحتملة بين نظم الـ COH واختطار الإصابة بالسرطان (60).

3- عامل النمو البطاني الوعائي VEGF

1-3- مقدمة

عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) Vascular Endothelial Growth Factor بروتين سكري مثنوي متماثل رابط للهيبارين وزنه الجزيئي 45 كيلودالتون. يطلق عليه أيضاً اسم عامل نفوذية الأوعية الدموية Vascular permeability factor (VPF) وهو المنظم الرئيسي لتولد الأوعية الفيزيولوجي والمرضي، كما أنه محدث قوي للانقسام الفتيلي للخلايا البطانية للأوعية الدموية (77، 78).

ينتمي الـ VEGF (والذي يطلق عليه أيضاً الـ VEGF-A) إلى عائلة الجينات التي تضم عامل النمو المشيمي Placenta Growth Factor (PlGF) والـ VEGF-B والـ VEGF-C والـ VEGF-D، وتملك هذه العائلة الجينية دوراً فريداً في التحكم بنمو وتمايز العديد من المكونات التشريحية للجهاز الوعائي (79).

2-3- التوضع الجيني وتنظيم التعبير عن جين الـ VEGF

يتوضع جين الـ VEGF البشري على الصبغي 6 (80)، ويتألف من 8 إكسونات منفصلة بواسطة 7 إنترونات (81، 82). يؤدي التضفير البديل لجين Alternative Splicing الـ VEGF المفرد إلى تولد خمسة أشكال إسوية isoforms هي VEGF₁₂₁ وVEGF₁₄₅ وVEGF₁₆₅ وVEGF₁₈₉ وVEGF₂₀₆. ويعد الـ VEGF₁₆₅ هو الشكل الإسوي السائد ويفتقر للثلاثات المرزمة بالإكسون رقم 6 (77).

يتم تنظيم التعبير عن جين الـ VEGF عن طريق مجموعة من العوامل:

- توتر الأكسجين

يجري تحريض التعبير عن الرنا المرسال للـ VEGF عن طريق التعرض لضغط أوكسجين جزئي PO_2 منخفض في مجموعة من الحالات الفيزيولوجية المرضية (83، 84). ولقد تم تحديد متواليات من 28 أساس في المعزاز 5` promoter لجين الـ VEGF تتوسط الانتساخ المحرض بنقص التأكسج (85).

- عوامل النمو والهرمونات والجينات الورمية

تزيد العديد من عوامل النمو متضمنة عامل نمو البشرة epidermal growth factor وعامل النمو المحول α (TGF- α) Transforming growth factor- α وعامل النمو المحول β (TGF- β) وعامل نمو الخلية الكيراتينية keratinocyte growth factor وعامل النمو المشابه للأنسولين-1 (IGF-1) و Insulin-like growth factor 1 وعامل نمو الأرومة الليفية (FGF) و Fibroblast growth factor وعامل النمو المشتق من الصفائح (PDGF) و Platelet-derived growth factor من التعبير عن الرنا المرسال للـ VEGF (86-88) مشيرة إلى أن الإطلاق نظير الصماوي أو الصماوي الذاتي

autocrine لهذه العوامل يتعاون مع نقص التأكسج الموضعي في تنظيم إطلاق الـ VEGF في البيئة المكروية (79).

كما تحرض السيتوكينات الالتهابية مثل الـ IL-6 و IL-1- α التعبير عن الـ VEGF في العديد من الأنماط الخلوية، ما يتوافق مع فرضية أن الـ VEGF قد يكون وسيطاً لتولد الأوعية والنفوذية الوعائية في الاضطرابات الالتهابية (89)، (90).

كذلك تعد الهرمونات منظمات هامة للتعبير عن جين الـ VEGF، فلقد تبين أن الـ TSH يحرض التعبير عن الـ VEGF في العديد من الخطوط الخلوية السرطانية الدرقية (91). أيضاً أظهر Shifren وزملاؤه أن الـ ACTH قادر على تحريض التعبير عن الـ VEGF في الخلايا القشرية الكظرية الجنينية المزروعة، مقترحاً أن الـ VEGF قد يكون منظماً موضعياً لتولد الأوعية القشرية الكظرية ووسيطاً هاماً للفعل الموجه للهرمون الموجه لقشر الكظر ACTH (92).

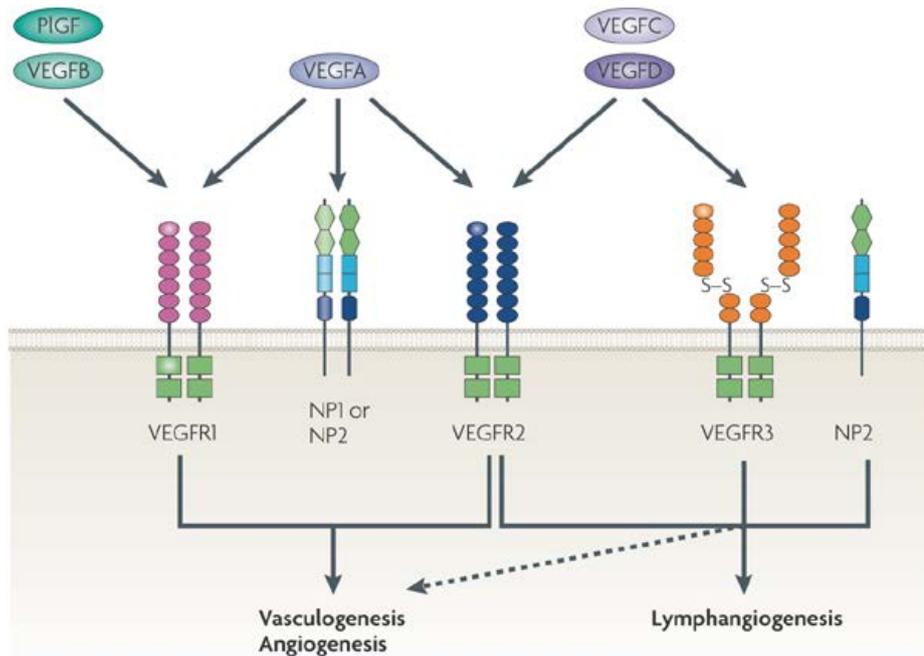
تبين أيضاً أن موجهاً الغدد التناسلية هي محرضات قوية لانتساخ الـ VEGF في المبيض، وأن موجهاً الغدد التناسلية المشيمائية البشرية hCG تؤدي إلى زيادة انتساخ الرنا المرسال للـ VEGF (93، 94). ولقد اقترحت العديد من الدراسات الستيرويدات الجنسية كمنبهات هامة لتنظيم الـ VEGF في الأنسجة الحساسة للهرمونات، حيث أظهر Mueller وزملاؤه أن الاستراديول هو مفعّل مباشر لانتساخ الـ VEGF (95). وتبين أيضاً أن البروجستين يحرض انتساخ جين الـ VEGF في خلايا سرطانة بطانة الرحم (96).

كذلك تؤدي الطفرات المكونة للورم إلى التنظيم صعوداً الـ up-regulation للـ VEGF (97).

3-3- آلية تأثير الـ VEGF

يعمل الـ VEGF من خلال ارتباطه إلى مستقبلتي تيروزين كيناز هما VEGFR-1 ويسمى أيضاً Flt1 (fms-like-tyrosine kinase) والـ VEGFR-2 والذي يسمى أيضاً KDR (kinase domain region) واللذان يتم التعبير عنهما على السطح الخلوي لمعظم الخلايا البطانية الدموية (98، 99). يعد الـ VEGFR-2 الوسيط الرئيسي للانقسام الفتيلي mitosis ولبقاء ونبوذية الأوعية الدقيقة للخلايا البطانية، بينما على العكس

من ذلك يلعب الـ VEGFR-1 دوراً مثبطاً عن طريق احتجاز الـ VEGF ومنع تفاعله مع الـ VEGFR-2، كذلك فإن الشكل الذائب من هذا المستقبل الـ sVEGFR-1 (sFlt-1) والذي ينتج عن التضفير البديل يثبط فعالية الـ VEGF. كما وجد الـ VEGFR-3 الذي يجري التعبير عنه في الخلايا البطانية اللمفية وهو من عائلة مستقبلات التيروسين كيناز نفسها ولكنه ليس مستقبلاً للـ VEGF. وهو يربط الـ VEGF-C والـ VEGF-D (79) (الشكل 3). يتفاعل الـ VEGF أيضاً مع عائلة من المستقبلات المساعدة coreceptors تدعى الـ neuropilins (NP) وهي الـ NP1 والـ NP2. يقدم الـ NP1 الـ VEGF₁₆₅ إلى المستقبل VEGFR-2 بطريقة تعزز من فعالية تنبيغ الإشارة المتواسطة بالـ VEGF-R2. وأظهرت الدراسات الحديثة ارتباط الـ NP2 مع تطور الأوعية اللمفية (100)، (101).



الشكل 3: مستقبلات الـ VEGF في الخلايا البطانية. يرتبط الـ VEGF-A مع VEGFR-1 و VEGFR-2، حيث أن الـ VEGFR-2 هو الوسيط الرئيسي لتكاثر وهجرة وبقاء وتولد أوعية الخلايا البطانية أما الـ VEGFR-1 فله دور الشريك decoy حيث يثبط دور الـ VEGF عن طريق احتجازه ومنع تفاعله مع الـ VEGFR-2 (102).

3-4-4- الدور الفيزيولوجي لـ VEGF

3-4-4-1- التطور الجنيني والتطور ما بعد الولادة

اكتُشف التعبير عن الـ VEGF أثناء التطور الجنيني لأول مرة خلال الأيام الأولى من الانغراس في الخلايا العملاقة للأرومة الغاذية، مما يشير إلى دوره في تولد الأوعية الدموية في الغشاء الساقط والمشيمة والأغشية. وتبين أيضاً أنه يجري التعبير عن الرنا المرسال لـ VEGF في الأنسجة المدروسة للجنين البشري جميعها (البنكرياس والدماغ والأمعاء والرئة والعضلات والجلد والخصية، والكظر والكلى والكبد والطحال والغدة الصعترية والقلب) (103). أما بالنسبة للحياة المبكرة ما بعد الولادة فلقد تبين أن التنشيط الجزئي لـ VEGF يؤدي إلى زيادة الوفيات وإلى إعاقات في النمو وشذوذ تطور الأعضاء، مما يشير إلى دوره الهام في الحياة ما بعد الولادة (79).

3-4-4-2- النمو الهيكلي وتشكل العظم الغضروفي

إن تشكل العظم الغضروفي هو آلية أساسية للنمو الطولي للعظام. والغضروف هو عبارة عن نسيج لا وعائي يتم استبداله بالعظم في عملية تسمى التعظم الغضروفي (endochondral ossification). يتم التعبير عن الرنا المرسال لـ VEGF بواسطة الخلايا الغضروفية المتضخمة في لوحة النمو المشاشي مشيرة إلى أن مدروج الـ VEGF ضروري للنمو الاتجاهي واختراق الغضروف من قبل الأوعية الدموية المشاشية (79). أيضاً تبين أن الـ VEGF يملك تأثيرات جذب كيميائي مباشر على بانيات العظم وناقضات العظم (104، 105).

3-4-4-3- تولد الأوعية في الغدد الصم

يلعب الـ VEGF دوراً هاماً في المبيض، فلقد تبين أن تولد الأوعية هو مظهر رئيسي للوظيفة المبيضية الدورية الطبيعية (103). كذلك تم الاستقصاء عن دور الـ VEGF في تطور جزيرات البنكرياس، فلقد تبين أن الشبكة الشعيرية المحرصة بالـ VEGF ضرورية من أجل تنظيم الضبط الدقيق لغلوكوز الدم (106). وسنتكلم بشكل مفصل عن دور الـ VEGF في المبيض.

3-5- دور الـ VEGF في المبيض

3-5-1- تولد الأوعية الدموية في المبيض

إن تكون الأوعية الدموية في المبيض هو عملية دورية. ولقد جرى تحديد هذه العملية مكانياً وزمانياً (106)، فالجريبات الابتدائية primordial الصغيرة لا تملك شبكة شعيرية مستقلة وتعتمد على قربها من الأوعية السدوية للحصول على المغذيات. بينما تطور الجريبات الأولية primary إمدادات وعائية أولية تتكون من واحد أو اثنين من الشريينات التي تنتهي بشبكة تشبه الجديلة، تزداد تعقيدا مع استمرار الجريب في النمو. وبعد فترة وجيزة من ظهور الغار، يصبح للجريب جديلة وعائية في طبقة القراب تتألف من اثنين من الشبكات الوعائية المترابطة في القراب الغائر والقراب الظاهر، ولا تدخل الشعيرات الدموية الطبقة المحببة. يتزامن توسع هذه الجديلة الوعائية، وخاصة في منطقة القراب الغائر مع فترة النمو السريع والتمايز للجريب. وفي الواقع قد يعتمد انتقاء الجريب السائد على التشكل التبايني لهذا الإمداد الوعائي الغني والذي يفسر التراكم التفضيلي لموجهات الغدد التناسلية داخل الجريب المسيطر، حيث أن هنالك دليلاً على أن الجريبات المنتقاة تملك شبكة وعائية دقيقة أكثر تطوراً من تلك التي تملكها الجريبات الأخرى (103، 108).

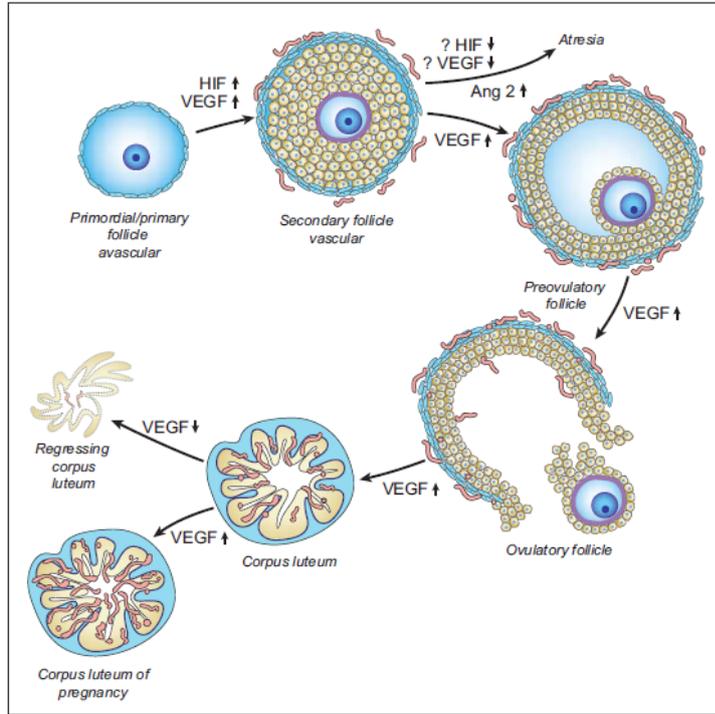
قبل الإباضة بوقت قصير، يتفكك الغشاء القاعدي الذي يفصل القراب الموعى بشكل كبير عن طبقة الخلايا المحببة اللاوعائية نسبياً، مما يؤدي إلى اختراق طبقة الخلايا المحببة الملوتنة من قبل الأوعية الدقيقة الغازية الناشئة من طبقة القراب (103، 107). وبعد الإباضة يترافق الطور الأصفر المبكر مع تولد وعائي كثيف، وبالوصول إلى منتصف الطور الأصفر تكون قد تشكلت جملة وعائية ناضجة في الجسم الأصفر تساهم بشكل رئيسي في نقل الكوليستيرول إلى الخلايا الأصفرية من أجل الاصطناع الحيوي للبروجستيرون والذي يلعب دوراً هاماً في خلق بيئة رحيمة مناسبة لانغراس ونمو الجنين في الحمل المبكر. أما في حال لم يحصل حمل يحدث انحلال للجسم الأصفر والذي يترافق مع تنكس في الجملة الوعائية ليشكل في النهاية ندبة تدعى الجسم الأبيض (79، 107).

وقد أظهرت الدراسات أن الـ VEGF هو المنظم الرئيسي لتولد الأوعية الجريبية والأصفرية في المبيض (107).

3-5-2- دور الـ VEGF في تولد الأوعية المبيضية

إن الجريبات الابتدائية والأولية في مبيض النساء في سن الإنجاب لم تظهر تلوناً كيميائياً هيستولوجياً مناعياً للـ VEGF، في حين لوحظ تلون مناعي إيجابي لبروتين الـ VEGF في هيولى الخلايا المحببة والقرايية للجريبات الغارية والجريبات السابقة للإباضة. ولقد كان هذا التلون ضعيفاً في الخلايا المحببة مقارنة بما كان عليه في القراب الغائر للجريب النامي. أما في الجسم الأصفر، فلقد أظهرت كل من الخلايا المحببة الملوتنة والخلايا القرايية تلوناً للـ VEGF. ولم يكن هنالك تعبير عن بروتين الـ VEGF في الجريبات الرتقية أو في الجسم الأصفر المتنكس. أما في المرحلة المبكرة من الحمل، فقد كانت كثافة التلون في الجسم الأصفر الحلمي أقوى مما كانت عليه في الطور الأصفري (103).

لقد أظهرت الدراسات أن التعبير عن الرنا المرسال للـ VEGF متعلق زمانياً ومكانياً بتكاثر الأوعية الدموية في المبيض (109)، وأن الـ VEGF هو المنظم الأساسي لتولد الأوعية المبيضية، وحصر سبيل الـ VEGF كاف لتعطيل تولد الأوعية، مما يشير إلى الدور الهام الذي يلعبه الـ VEGF في نمو وصيانة الجريبات المبيضية والجسم الأصفر (79، 108) (الشكل 4).



الشكل (4): دور الـ VEGF في تنظيم تولد الأوعية في المبيض (107).

3-5-3- تنظيم التعبير عن الـ VEGF في المبيض

أشارت العديد من الدراسات إلى أن كلاً من الهرمون الملوتن LH وموجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (hCG) يعدلان التعبير عن الـ VEGF (93,94). وعند تحليل الخلايا اللوتينية المحببة المستتبنة التي تم الحصول عليها وقت استرجاع الخلايا البيضية في عملية الإخصاب في المختبر (IVF) ، تبين أن كلاً من الـ hCG والهرمون المنبه للجريب البشري المأشوب (rhFSH) والبروستاغلاندين E2 يحفز التعبير عن الرنا المرسال للـ VEGF بطريقة معتمدة على التركيز (110). لذلك فإن كلا المسارين المفعلين بمستقبلات الـ FSH والـ LH/hCG قادرين على تحريض مستويات الرنا المرسال للـ VEGF في الخلايا البشرية المحببة (108).

3-6- دور الـ VEGF في الحالات المرضية

3-6-1- الأورام الصلبة

أظهرت دراسات التهجين في الموقع أنه يجري التعبير عن الرنا المرسال للـ VEGF في الغالبية العظمى من الأورام البشرية المدروسة حتى الآن، بما فيها سرطانة الرئة والثدي والسبيل الهضمي والكلية والمثانة والمبيض وبطانة الرحم والعديد من الأورام داخل القحفية وأورام الغدد الصم. ولقد تبين أنه يتم تثبيط العديد من الخطوط الخلوية الورمية في الأحياء باستخدام أصداد الـ VEGF وحيدة النسيلة (79).

3-6-2- الخباثات الدموية

يجري التعبير عن الـ VEGF في مجموعة واسعة من الخطوط الخلوية المشتقة من الخباثات الدموية متضمنة لمفومة الخلايا التائية و ابيضاض الأرومات اللمفاوية الحاد و الللمفومة المنسجة و ابيضاض السلانف النقية وغيرها (111). ولقد جرى كشف التعبير عن كل من مستقبلي الـ VEGF (VEGFR-1 و VEGFR-2) في بعض خطوط خلايا ابيضاض الدم. وتشير نتائج الدراسات إلى أن تثبيط إشارة الـ VEGF أو الـ VEGFR قد يكون فعالاً في معالجة الخباثات الدموية (112).

3-6-3- متلازمات باطن العين مستحدثة التوعية

قد يترافق كل من الداء السكري أو انسداد وريد الشبكية المركزي مع إقفار الشبكية وتوعي حديث في باطن العين والذي يمكن أن يؤدي إلى نزوف في الجسم الزجاجي وانفصال الشبكية وزرق التوعية المستحدثة والعمه (تعذر الإدراك) blindness (79). ولقد تم وصف ارتفاع مستويات الـ VEGF في الخلط المائي والزجاجي في العيون البشرية التي تعاني من اعتلال شبكية تكاثري تال للداء السكري (113، 114). وأظهرت الدراسات أيضاً دور الـ VEGF في تولد الأوعية الحديثة في الأغشية المشيمية لمرضى التنكس البقعي المرتبط بالعمر (Age-Related Macular Degeneration (AMD) (115)، وفي تولد الأوعية القرنوي المرافق لعدوى الهربس البسيط herpes simplex والتي تعد سبب هام للعمه (تعذر الإدراك) blindness عند الإنسان (116).

3-6-4- الاضطرابات الالتهابية والوذمات الدماغية

تورط التنظيم صعداً للـ VEGF في العديد من الاضطرابات الالتهابية، حيث يجري التعبير عن الـ VEGF بقوة في الخلايا الكيراتينية البشرية في حالات التنام الجروح والصدفية والتي تتميز بزيادة نفوذية الأوعية الدقيقة وتولد الأوعية (117). تورط الـ VEGF أيضاً في إمرضية التهاب المفاصل الروماتويدي والذي هو مرض التهابي يلعب فيه تولد الأوعية دوراً هاماً (118). كذلك تورط التنظيم صعداً للـ VEGF في تطور الوذمة الدماغية والتي تعد محدد رئيسي للمرضة لدى المرضى الذين يعانون من نقص التروية الدماغية (79).

3-6-5- مرضيات السبيل التناسلي الأنثوي

3-6-5-1- دور الـ VEGF في متلازمة المبيض متعدد الكيسات

أشارت العديد من الدراسات إلى وجود نمط وعائي مميز يتسم بزيادة تدفق الدم في المنطقة السدوية للمبيض لدى مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) (108)، فتولد الأوعية هو ملمح بارز لهذه المتلازمة حتى أنه يستخدم تقييم مخطط الصدى للمنطقة السدوية ولجريان الدم كاختبار تشخيصي لهذه المتلازمة (79). وقد يعود تكون الأوعية بشكل كبير في المبيض متعدد الكيسات إلى فعل عوامل النمو مثل الـ VEGF، حيث لوحظ وجود زيادة في التعبير عن الرنا المرسال للـ VEGF في المبيض متعدد

الكيسات (119). كما أظهرت العديد من الدراسات وجود ارتفاع في مستويات ال-VEGF في المصل والسائل الجريبي لدى مريضات ال-PCOS واقترحت أن زيادة التعبير عن ال-VEGF المبيضي والذي يؤدي إلى زيادة المستويات المصلية يلعب دوراً أساسياً في إمرضية ال-PCOS (120، 121). أيضاً أظهرت دراسات أخرى ارتفاع سرعات جريان الدم الدوبلري داخل الأوعية السدوية المبيضية بالتوازي مع ارتفاع مستويات ال-VEGF في المصل لدى مريضات ال-PCOS (122، 123). مما يشير إلى أن ال-VEGF قد يلعب دوراً محورياً في زيادة الأوعية الدموية في المبيض لدى مريضات ال-PCOS (108).

كما أشارت العديد من الدراسات إلى أن ارتفاع مستويات ال-VEGF في السائل الجريبي لمريضات ال-PCOS قد يؤثر على نضج الخلايا البيضية وعلى معدلات الإخصاب (120، 124)، وأنه يمكن استخدام مستويات ال-VEGF في ال-FF كمشعر حيوي للتنبؤ بنضج الخلايا البيضية ونجاح الإخصاب وتطور الجنين لدى مريضات ال-PCOS (125، 126).

Ovarian hyperstimulation syndrome في متلازمة فرط تنبيه المبيض Ovarian

اقترحت الدراسات السابقة تورط ال-VEGF في إمرضية متلازمة فرط تنبيه المبيض Ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS) (67، 127) وهي حالة تتميز بتضخم المبيض وزيادة النفوذية الوعائية (65). فقد يؤدي تحريض الإباضة لمستويات عالية من التعبير عن ال-VEGF في عدد كبير من الجريبات والأجسام الصفراء والذي يتم بواسطة عن طريق زيادة مستويات موجهات الغدد التناسلية و/ أو الاستراديول، مما يؤدي إلى فرط في النفوذية الوعائية وتسرب السائل الغني بالبروتين من الفضاء داخل الوعائي، وهذا يفسر تقريباً كل مظاهر المتلازمة (103).

في حين ألفت دراسات أخرى الشك على فرضية أن ال-VEGF قد يكون العامل المسبب للنفوذية الوعائية المرافقة لل-OHSS، واقترحت أن نظام الكالكرين قد يكون ذو أهمية أكبر (128)، في حين أشارت بعض الدراسات إلى مشاركة عوامل أخرى مثل ال-EG-VEGF (129).

3-5-6-3 دور الـ VEGF في أورام المبيض الحميدة

كشفت الدراسات الكيميائية الهيستولوجية المناعية لمبيض النساء بعد سن اليأس وجود تلون لـ VEGF في الكيسات الاشتمالية الظهرية وفي الأورام الغدية الكيسية المصلية. وقد ظهر بروتين الـ VEGF في الطبقات الظهرية للكيسات وفي الخلايا الحوطية للأوعية النغرية المبيضية، مما يوحي بأن الـ VEGF قد يكون مسؤولاً عن تراكم السوائل بآلية رشحية في الأورام المصلية الحميدة (103).

3-5-6-4 دور الـ VEGF في الانتباز البطاني الرحمي Endometriosis

إن تولد الأوعية الدموية عامل هام في إمرضية الانتباز البطاني الرحمي والذي هو عبارة عن حالة تتميز بانغراسات بطانية رحمية منتبذة في جوف الصفاق. وقد تم قياس مستويات مرتفعة من الـ VEGF في السائل الصفاقي لمريضات الانتباز البطاني الرحمي (79).

3-7-7 الـ VEGF والاستخدامات العلاجية

تبين أن تثبيط الـ VEGF يوقف تولد الأوعية المرضي في مجموعة واسعة من النماذج، بما في ذلك النماذج الوراثية للسرطان، مما أدى إلى التطوير السريري لمجموعة متنوعة من مثبطات الـ VEGF. وقد كان البيفاسيزوماب Bevacizumab هو العامل الأول المضاد لتولد الأوعية الذي تمت الموافقة عليه من قبل إدارة الأغذية والأدوية (FDA) Food and Drug Administration كعلاج للسرطان (79). ولا تقتصر الفائدة السريرية المحتملة لتثبيط الـ VEGF على السرطان، فالأدلة الأولية تشير إلى أن تثبيط الـ VEGF قد يكون فعالاً في علاج التنكس البقعي المرتبط بالعمر (AMD) Age-Related Macular Degeneration، أيضاً يمكن أن نستفيد من هذه المقاربة العلاجية في الأمراض النسائية مثل متلازمة المبيض متعدد الكيسات أو الانتباز البطاني الرحمي (79).

أيضاً قد يتم الاستفادة من الـ VEGF في تطوير العلاجات الدوائية للاضطرابات التي تتميز بعدم كفاية التروية النسيجية كما هو الحال في الأمراض القلبية، وقد يكون الـ VEGF مفيد لتعزيز إعادة التوعي وشفاء الكسور وغيرها من الحالات المتعلقة بالهيكل العظمي (79).

4- الليبتين

1-4- مقدمة

الليبتين عبارة عن بروتين مؤلف من 167 حمضاً أمينياً، وزنه الجزيئي 16 كيلو دالتون، يشفره جين البدانة ob gene (130).

تم اكتشاف الليبتين عام 1994، عند التنسيل الموضعي لفئران ob/ob وهي نموذج فأري للبدانة وجد مصادفة في مختبرات جاكسون، وقد تبين أن هذه الفئران لديها طفرة متماثلة الزيجوت في جين الليبتين أدت إلى عوز كامل في الليبتين والذي تجلى بفرط في الأكل والبدانة الشديدة ومرض السكري وشذوذات عصبية صماوية وعقم (130). يتم إنتاج الليبتين بشكل رئيسي من الأنسجة الشحمية البيضاء، وترتبط مستوياته إيجابياً مع كمية الدهون في الجسم (131). أيضاً يتم التعبير عن الليبتين في العديد من الأنسجة الأخرى بما في ذلك المشيمة والمبيض والظهارة الثديية ونقي العظام والأنسجة اللمفية (132).

2-4- آلية تأثير الليبتين

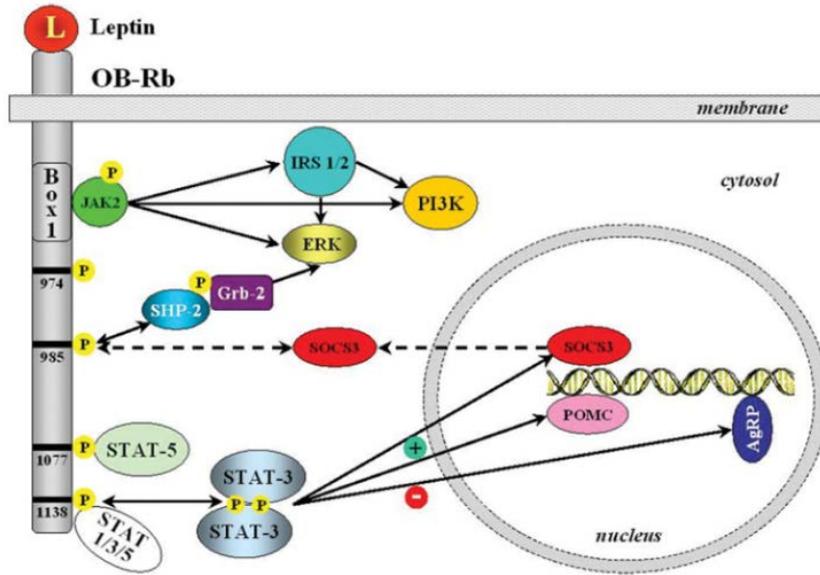
يتواسط الليبتين تأثيراته عن طريق ارتباطه إلى مستقبلات ليبتين نوعية (ObRs) يتم التعبير عنها في الدماغ وفي الأنسجة المحيطة (133). يولد التضفير البديل العديد من الأشكال الإسوية لمستقبلات الليبتين، ويعتقد أن الشكل الإسوي ObRa (الشكل الإسوي القصير لمستقبل الليبتين) يلعب دوراً هاماً في نقل الليبتين عبر الحاجز الدموي الدماغي (134)، في حين يتواسط الشكل الإسوي ObRb (الشكل الإسوي الطويل لمستقبل الليبتين) تنبيغ (تحاسن) الإشارة signal transduction ويعبر عنه بقوة في منطقة الوطاء ويلعب دوراً هاماً في تنظيم استتباب الطاقة وفي الوظيفة العصبية الصماوية (135)- (137). يفعل ارتباط الليبتين مع مستقبله ObRb عدة مسارات لتنبيغ الإشارة بما في ذلك محول إشارة ومفعّل انتساخ-3 جانوس كيناز (JAK-STAT3) والذي يلعب دوراً هاماً في تنظيم استتباب الطاقة (138)، والفسفاتيديل إينوزيتول 3 كيناز (PI3K) الهام لتنظيم مدخول الطعام واستتباب الغلوكوز (139).

3-4- الأذوار الفيزيولوجية لليبتين

1-3-4- دور الليبتين في تنظيم استتباب الطاقة

يخدم مستوى الليبتين الدوراني كمقياس لاحتياطات الطاقة ويوجه الجهاز العصبي المركزي لضبط مدخول الطعام وإنفاق الطاقة. يمارس الليبتين تأثيرات مباشرة من خلال العمل على الدماغ لتنظيم الشهية، حيث يفعل الليبتين عند ارتباطه بالمستقبل ObRb في منطقة الوطاء دائرة عصبية معقدة مؤلفة من ببتيدات عصبية مفقودة للشهية (البروأوبيوميلانوكورتين POMC) وببتيدات عصبية مشهية (الببتيد العصبي Y (NPY)) وبذلك فإنه يتحكم بمدخول الطعام. ويتفاعل الليبتين خارج منطقة الوطاء مع كل من جملة الدوبامين الحوفية المتوسطة (mesolimbic) والتي تساهم في تحفيز الإطعام ونواة السبيل المفرد لجذع الدماغ الذي يساهم في الإحساس بالشبع (140). ولا يعطي الليبتين فقط إشارة إلى الجهاز العصبي المركزي من أجل إنقاص مدخول الطعام ولكنه قد يزيد أيضاً من إنفاق الطاقة (133). تم وصف طفرات متعلقة بزيجوت متماثل الألائل لجين الليبتين تؤدي إلى عوز كامل في الليبتين في حالات نادرة جداً من الأشخاص الذين يعانون من البدانة، حيث أن الغالبية العظمى من الأشخاص الذين يعانون من البدانة لديهم مستويات ليبتين دورانية مرتفعة (131) وهم إما لديهم مقاومة له أو تحمل لتأثيراته الخافضة للوزن (141). وتشمل الآليات الوطانية المقترحة الكامنة وراء مقاومة الليبتين:

- عيوب في إشارة مستقبل الليبتين ObRb (141).
- التبدلات في نقل الليبتين عبر الحاجز الدموي الدماغي (141).
- تحريض مثبطات إشارة الليبتين (مثل الكابت لإشارة السيٲوكين-3 (SOCS-3) (142) (الشكل 5).



الشكل 5: إشارة الليبتين وتثبيطها، حيث يفعل ارتباط الليبتين إلى مستقبله **Ob-Rb** التيروسين كيناز **Jak2** الذي يخضع لفسفرة ذاتية كما يقوم بفسفرة ثملات التيروسين الموجودة على الذيل داخل الخلية للمستقبل وأهمها **Tyr₁₁₃₈** الذي يفعل الـ **STAT-3** فيشكل مثوي ينتقل إلى النواة فيحفز التعبير عن الـ **POMC** والـ **SOCS3** ويثبط التعبير عن الـ **AgRP/NPY**. يملك الـ **SOCS3** تأثير ارتجاع سلبي على إشارة الليبتين (143).

2-3-4- دور الليبتين في الوظيفة العصبية الصماوية

تنخفض مستويات الليبتين بسرعة استجابة للصيام وذلك قبل أن تحصل أي تبدلات في الكتلة الدهنية (144)، محدثةً استجابة عصبية صماوية من أجل التكيف مع الحرمان الحاد في الطاقة (145)، وتشمل هذه الاستجابة:

- انخفاض مستويات الهرمون التناسلي وبالتالي قلة الخصوبة ومنع الحمل (وهو عملية متطلبة للطاقة).
- انخفاض مستويات الهرمون الدرقي والذي يبطن معدل الاستقلاب.
- انخفاض مستويات عامل النمو المشابه للأنسولين-1 (**IGF-1**) والذي يبطن عمليات النمو المتعلقة به.
- زيادة مستويات هرمون النمو وبالتالي تحريك مخازن الطاقة.
- زيادة مستويات الهرمون الموجه لقشر الكظر (**ACTH**) والكورتيزول (146).

ولكن التآثرات بين الليبتين وهرمون النمو والمحور الكظري هي على ما يبدو أقل أهمية في البشر منها في الحيوانات لأن المرضى الذين لديهم عوز لليبتين خلقي يكون لديهم نمو خطي طبيعي ووظيفة كظرية طبيعية على عكس الفئران (147، 148).

3-3-4- دور الليبتين في تنظيم الحساسية للأنسولين

قد يؤثر الليبتين على حساسية الأنسولين إما من خلال آليات متواسطة مركزياً أو من خلال التأثيرات المحيطة المباشرة لليبتين على الأنسجة الحساسة للأنسولين. وبالتالي فإن الليبتين قد ينظم استقلاب الجلوكوز من خلال مسارات محيطية و/ أو مركزية (149، 150). فلقد تبين أن الليبتين من المحتمل أن يعمل من خلال آلية مركزية تثبط إنتاج الجلوكوز الكبدي والذي قد يعود للتنظيم هبوطاً للتعبير عن جينات استحداث الجلوكوز في الكبد (150). أما محيطياً، فقد تفعل المعالجة بالليبتين سبل الإشارة والتي تشبه إن لم تكن متطابقة مع تلك المفعلة بواسطة الأنسولين ويمكن أن تخفف من زيادة الجلوكاغون وهرمون النمو في البلازما والذي يساهم في تحسين الحساسية للأنسولين ويتوسط استعادة سوائية سكر الدم (149).

تبين أيضاً أن الليبتين يقلل بشكل ملحوظ إفراز الأنسولين من الخلايا بيتا البنكرياسية (151)، ويثبط وبشكل فعال إفراز الجلوكاغون من الخلايا ألفا البنكرياسية (152، 153)، مما يشير إلى أن الليبتين يعمل كجزء إشارة من الأنسجة الشحمية إلى البنكرياس فيثبط إفراز الأنسولين وفقاً لما تمليه احتياجات مخازن الدهون في الجسم (146).

4-3-4- دور الليبتين في تنظيم الوظيفة المناعية

يملك الليبتين عدة تأثيرات على الوظيفة المناعية الطبيعية فهو يزيد الفعالية البلعمية للبلاعم ويحفز إفراز السيتوكينات الالتهابية وينبه الانجذاب الكيميائي في الخلايا مفصصة النواة (154). ولقد تبين أن الأطفال الذين لديهم عوز لليبتين تحصل لديهم عداوى بشكل مبكر من حياتهم قد تؤدي إلى وفاة العديد منهم، ويحسن إعطاء الليبتين خارجي المنشأ الوظيفة المناعية لديهم (155).

4-4- استخدامات الليبتين العلاجية

1-4-4- البدانة المسببة بعوز الليبتين الخلقي

يعاني المرضى الذين لديهم عوز خلقي كامل في الليبتين، ناجم عن طفرات متماثلة الألائل في جين الليبتين، من بدانة شديدة في وقت مبكر جداً من حياتهم ويستجيبون للمعالجة بالليبتين البشري المأثوب الذي يقلل من الشهية ومدخول الطعام مؤدياً إلى فقدان ملحوظ في دهون الجسم (156، 157). علاوة على ذلك، فإن هؤلاء المرضى لديهم شذوذات عصبية صماوية واضحة، بما في ذلك قصور الغدد التناسلية مع فشل في الوصول إلى سن البلوغ، والتي تتحسن بالمعالجة بالليبتين (156).

2-4-4- البدانة الشائعة مع وجود مقاومة لليبتين

بما أن آليات مقاومة الليبتين لا تزال مجهولة إلى حد كبير، فإن استراتيجيات معالجة مقاومة الليبتين في البدانة شملت جرعات فوق فيزيولوجية من الليبتين مع تناول المتزامن لمحسسات الليبتين المفترضة. ولقد أظهرت التجارب باستخدام جرعات دوائية عالية من الليبتين عدم حدوث أي فقدان وزن هام سريرياً عند الأشخاص الذين يعانون من البدانة مع وجود مقاومة لليبتين (158، 159).

ولكن المجال الواعد هو الدور المحتمل للمعالجة بالليبتين في صيانة فقدان الوزن. فقد تم اقتراح أن انخفاض مستويات الليبتين بسبب فقدان الوزن يؤدي إلى تفعيل الآليات العصبية الصماوية والتي قد تدفع المرضى لاستعادة الوزن. ويمكن أن تشمل هذه الآليات زيادة مدخول الطاقة، من خلال زيادة الإحساس بالجوع، وخفض إنفاق الطاقة من خلال خفض مستويات هرمون الغدة الدرقية وبالتالي إبطاء عملية الاستقلاب (160). وهكذا، فإن إعطاء الليبتين قد يعيد هذه التبدلات العصبية الصماوية إلى وضعها الطبيعي ويمنع استعادة الوزن. يجري حالياً التحقق من هذه التأثيرات، وفي حال نجاحها، قد يكون لها دور كبير في تدبير فقدان الوزن (133).

3-4-4- الضهى وطائي المنشأ

يعد الضهى وطائي المنشأ سبباً شائعاً لغياب الحيض والعمق. ويحدث عادة لدى النساء اللاتي يعانين من عوز نسبي في الطاقة مثل ذلك الناجم عن ممارسة التمارين الرياضية الشاقة أو

اللاتي لديهن كتلة دهنية ضئيلة، كما هو الحال عند مريضات القهم العصبي (161). ولقد أظهرت الدراسات أن هؤلاء النساء يكون لديهن انخفاض في ليبتين الدم (161)، وأن الإعاضة بالليبتين قد تكون معالجة واعدة للعقم عند النساء المصابات بالذهي وطائي المنشأ (162). فلقد تبين أن المعالجة بالليبتين يمكن أن تعيد تراكيز الـ LH وتواتر نبضه إلى الحالة الطبيعية خلال أسابيع من المعالجة وأنها يمكن أن تعيد الوظيفة الإباضية بعد شهر واحد فقط من المعالجة (162).

4-4-4- الحثل الشحمي Lipodystrophy

الحثل الشحمي هو اضطراب خلقي نادر يتسم بفقدان انتقائي لدهون تحت الجلد والدهون الحشوية، ويكون لدى الأشخاص المصابين به فرط في ثلاثي غليسيريدهم وتنكس دهني كبدي ومقاومة شديدة للأنسولين، غالباً ما تؤدي للإصابة بالداء السكري (163). ولقد أظهرت الدراسات الرصدية أن هؤلاء المرضى لديهم انخفاض في ليبتين الدم (164)، وتبين أن معالجتهم بالليبتين البشري المأشوب تحسن مقاومة الأنسولين لديهم، وتثبط استحداث السكر في الكبد، وتنقص الهيموغلوبين السكري، وتحسن فرط شحميات الدم (163، 166).

4-5- اليبتين ومتلازمة المبيض متعدد الكيسات

ترتبط متلازمة المبيض متعدد الكيسات مع الاضطرابات الأيضية مثل البدانة ومقاومة الأنسولين (5)، حيث تحدث البدانة لدى حوالي نصف المصابات بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات (167)، بينما توجد مقاومة الأنسولين لدى حوالي 50-70% من مريضات الـ PCOS وبشكل مستقل عن البدانة (168). ونظراً للارتباط المعروف بين اليبتين والبدانة وعمل الأنسولين، فمن الممكن أن نفترض أن اليبتين يلعب دوراً في إمرضية الـ PCOS (169).

خضع دور اليبتين لجدل عميق مع وجود وجهات نظر متعارضة في ما يتعلق بمشاركته الحقيقية في هذه المتلازمة، فبعض الدراسات أظهرت ارتفاعاً في مستويات اليبتين المصلية والجريبية لدى مريضات الـ PCOS (170)، وبيّنت أن زيادة تراكيز اليبتين في المصل أو السائل الجريبية يمكن أن تضعف جودة الجنين ومعدلات الحمل (170، 171)، في

حين أظهرت دراسات أخرى أن ارتفاع مستويات الليبتين لدى مريضات الـ PCOS هو فقط نتيجة ثانوية لهذه المتلازمة لأن مستوياته ترتبط بقوة مع وزن الجسم (169، 172)، وأنه واصل غير مفيد لجودة البويضات أو الإخصاب أو الحمل (173، 174). وبالتالي فإن اشتراك الليبتين وأهميته في إنشاء الفيزيولوجيا المرضية للـ PCOS وخاصة تأثيره على كفاءة نضج البويضات يحتاج إلى مزيد من التوضيح.

5- هدف الدراسة

نظراً لأن متلازمة المبيض متعدد الكيسات هي واحدة من الاضطرابات الصماوية الأكثر شيوعاً، ولأنها واحدة من الأسباب الأكثر شيوعاً للعقم الناجم عن غياب الإباضة لدى النساء في سن الإنجاب، وبما أن إمرضية هذه المتلازمة لا تزال غير واضحة حتى الآن، فإنه من الضروري البحث في العوامل التي قد تتدخل في إمرضية هذه المتلازمة والتي قد تكون في المستقبل هدفاً لطرق علاجية جديدة لهذه المتلازمة. كما أنه من الضروري البحث عن عوامل يمكن أن تتنبأ بنتيجة الإخصاب في المختبر لدى النساء المصابات بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات. ولقد برزت مؤخراً أهمية كل من عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين في إمرضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات والأهمية التنبؤية لكل منهما في التنبؤ بنجاح الإخصاب في المختبر، كما برزت أيضاً أهمية عامل النمو البطاني الوعائي في إمرضية متلازمة فرط تنبيه المبيض والتي تعد من أهم اختلالات عملية الإخصاب في المختبر لدى مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات.

لذا هدفت دراستنا إلى:

1. تقييم العلاقة بين مستويات الـ VEGF المصلية والإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.
2. تقييم العلاقة بين مستويات الـ VEGF الجريبية والإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.
3. تقييم العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية والإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.

4. تقييم العلاقة بين مستويات الليبتين الجريبية والإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.
5. تقييم فائدة مستويات الـ VEGF المصلية والجريبية في التنبؤ بنتيجة الإخصاب في المختبر.
6. تقييم فائدة مستويات الليبتين المصلية والجريبية في التنبؤ بنتيجة الإخصاب في المختبر.
7. تقييم العلاقة بين مستويات الـ VEGF المصلية والإصابة بمتلازمة فرط تنبيه المبيض (OHSS).
8. تقييم العلاقة بين مستويات الـ VEGF الجريبية والإصابة بمتلازمة فرط تنبيه المبيض (OHSS).

ال. القسم العملي

1- المواد والطرق Materials and Methods

1-1- مجموعات الدراسة

شملت الدراسة 80 سيدة تراوحت أعمارهن بين 18 و38 عاماً (المتوسط \pm الانحراف المعياري: 28.5 ± 5.1 عاماً)، كلهن خاضعات لعملية الإخصاب في المختبر (IVF). جرى جمع عينات المصل والسائل الجريبي لهن بين تشرين الأول 2012 و أيلول 2013 من أحد المستشفيات المتخصصة بالعقم وطفل الأنبوب في دمشق (مستشفى الشرق).

وزعت المجموعات وفق مايلي:

-المجموعة الشاهدة

شملت 40 انثى، لديهن إباضة سوية، تتراوح أعمارهن ما بين 18 و38 عاماً (المتوسط \pm الانحراف المعياري: 28.4 ± 5.9 عاماً)، وكان سبب إجراء عملية الإخصاب في المختبر لديهن هو العامل الذكري (عقم بسبب الزوج).

عويرت لديهن المستويات المصلية والجريبية لل VEGF والليبتين يوم استرجاع الخلايا البيضية.

-المجموعة المرضية

شملت 40 مريضة مصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات، تراوحت أعمارهن ما بين 22 و37 عاماً (المتوسط \pm الانحراف المعياري: 28.6 ± 4.3 عاماً)، عويرت لديهن المستويات المصلية والجريبية لل VEGF والليبتين يوم استرجاع الخلايا البيضية.

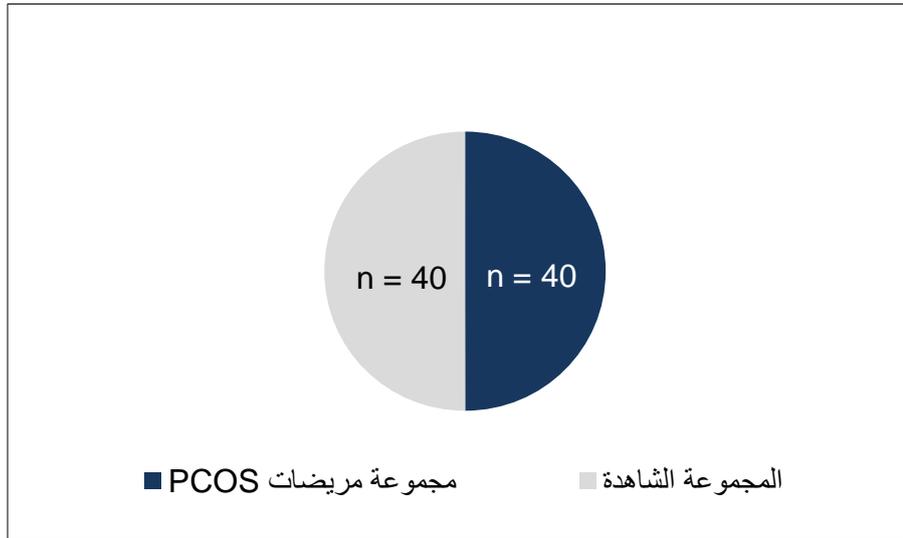
شخصت المرضيات وفقاً لمعايير روتردام Rotterdam criteria 2003، والتي تعتمد على وجود اثنين على الأقل من المعايير الثلاثة التالية:

- قلة و/أو غياب الإباضة.
- علامات سريرية و/أو مخبرية كيميائية حيوية لفرط الأندروجينية.
- وجود 12 جريب أو أكثر على كل مبيض يتراوح قطرها بين 2-9 مم و/أو زيادة الحجم المبيضي (< 10 سم³).

تم استبعاد النساء اللاتي ينتمين إلى إحدى المجموعات التالية:

- أعمارهن أكثر من 38 عاماً.
- الخاضعات لأكثر من تجربة IVF فاشلة.
- المصابات بالداء السكري.
- المصابات بأفات تؤثر على الانغراس والحمل مثل الانتباز البطاني الرحمي والأورام الليفية الرحمية وموه البوق وسلائل باطن الرحم وغيرها.

كانت المجموعة الشاهدة متماثلة من حيث العمر مع المجموعة المرضية (متوسط العمر \pm الانحراف المعياري: 5.9 ± 28.4 عاماً، 4.3 ± 28.6 عاماً، على الترتيب). ويوضح الشكل 1 توزيع مجموعات الدراسة.



الشكل 1: توزيع مجموعات الدراسة.

2-1- بروتوكول فرط تنبيه المبيض المراقب

اتبعت المريضات البروتوكول الطويل لفرط التنبيه المراقب للمبيض والذي بدأ باستخدام مانعات الحمل الفموية في اليوم الثالث أو الخامس من دورة الحيض واستكمل بتنشيط النخامة بواسطة مضاهئات الهرمون المطلق لموجهة الغدد التناسلية GnRH (Buserelin) في منتصف الطور الأصفر (اليوم 21 للدورة) والذي استمر إعطاؤه

يوميًا حتى يوم إعطاء موجهات الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (HCG) human chorionic gonadotropin.

وفي اليوم الثالث من الدورة الطمثية الجديدة وبعد التأكد من حصول التنظيم النزلي down-regulation بالمعايير الهرمونية اللازمة، جرى حقن المريضات بالهرمون المنبه للجريب المأشوب (Gonal-F 75 IU, Sereno, Switzerland) rFSH أو بموجهات الغدد التناسلية الإيائية البشرية human menopausal gonadotropin (hMG) وجرى ضبط الجرعة تبعاً لاستجابة المريضات. جرت مراقبة نمو الجريبات بالأموح فوق الصوتية (المجس المهبلية)، وعندما أصبح قطر ثلاثة جريبات على الأقل أكبر من 17 مم جرى إعطاء المريضات 10000 IU من موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية (Pregnyl, Organon) hCG أو من موجهة الغدد التناسلية المشيمائية البشرية المأشوبة (recombinant human chorionic gonadotropin (Ovitrelle).

ثم جرى بزل البيوض Egg retrieval بعد 35 ساعة من إعطاء الـ hCG أو الـ rHCG، تمت مراقبة الإلقاح في اليوم الثاني ونقلت الأجنة بعد ثلاثة أيام من بزل البيوض.

ولقد جرى الحصول على الموافقة المستنيرة (المذكورة ضمن الملحق appendix) لكل فرد من أفراد الدراسة.

3-1- الاعتيان

جرى جمع 4-5 مل دم من كل أفراد الدراسة ضمن أنابيب جافة يوم استرجاع الخلايا البيضية. نبذت العينات لمدة 10 دقائق بسرعة 3000 x g وبدرجة حرارة الغرفة. حفظت المصول بأنابيب ايندورف في الدرجة -80°س إلى حين إجراء المقايسة.

جرى أيضاً جمع عينات السائل الجريبي من كل أفراد الدراسة يوم استرجاع الخلايا البيضية، حيث جرى رشف السائل الجريبي من كل الجريبات التي يبلغ قطرها (< 14مم)، وبعد عزل الخلايا البيضية، نبذت عينات السائل الجريبي بسرعة 3000 x g ولمدة 10 دقائق بدرجة حرارة الغرفة. حفظت العينات بأنابيب ايندورف بالدرجة -80°س إلى حين إجراء المقايسة.

4-1- الطرق

1-4-1- مقارنة مستويات الـ VEGF

جرت المقايسة بطريقة مقارنة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA باستخدام عتيدة Human VEGF ELISA المصنعة من قبل شركة Koma Biotech Inc.Korea، ويعتمد مبدؤها على مقارنة مناعية إنزيمية، حيث تجري أولاً عملية غسل أولى لحجرات المقايسة المغطاة مسبقاً بأضداد مضادة للـ VEGF، يتم بعدها إضافة كل من المعياريات والعينات إلى هذه الحجرات، وبعد الحضان وعملية الغسيل الثانية، تتم إضافة ضد الـ VEGF الموسوم بالبيوتين إلى الحجرات، وبعد الحضان وعملية الغسيل الثالثة، تتم إضافة إنزيم Streptavidin- Horseradish peroxidase إلى الحجرات، وبعد الحضان وعملية الغسيل الرابعة تجري إضافة ركيزة التتراميتيل بنزيردين TMB إلى الحجرات. أخيراً تتم إضافة محلول التوقف الحمضي H_2SO_4 ، ليتم بعدها قياس الامتصاص في موجة طولها 450 نانومتر باستخدام جهاز TECAN Sunrise TM, Switzerland. واستخدمت سلسلة معياريات الـ VEGF لرسم المنحنى المعياري للكثافة الضوئية مقابل تراكيز الـ VEGF، والذي استخدم لحساب تراكيز الـ VEGF في العينات.

2-4-1- مقارنة مستويات الليبتين

جرت المقايسة بطريقة مقارنة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم ELISA باستخدام عتيدة Human Leptin ELISA المصنعة من قبل شركة Koma Biotech Inc.Korea، ويعتمد مبدؤها على مقارنة مناعية إنزيمية، حيث تجري أولاً عملية غسل أولى لحجرات المقايسة المغطاة مسبقاً بأضداد مضادة لليبتين، يتم بعدها إضافة كل من المعياريات والعينات إلى هذه الحجرات، وبعد الحضان وعملية الغسيل الثانية، تتم إضافة ضد الليبتين الموسوم بالبيوتين إلى الحجرات، وبعد الحضان وعملية الغسيل الثالثة، تتم إضافة إنزيم Streptavidin- Horseradish peroxidase إلى الحجرات. وبعد الحضان وعملية الغسيل الرابعة تجري إضافة ركيزة التتراميتيل بنزيردين TMB إلى الحجرات. أخيراً تتم إضافة محلول التوقف الحمضي H_2SO_4 ، ليتم بعدها قياس الامتصاص في موجة طولها 450 نانومتر باستخدام جهاز TECAN Sunrise TM, Switzerland. واستخدمت

سلسلة معياريات الليبتين لرسم المنحنى المعياري للكثافة الضوئية مقابل تراكيز الليبتين، والذي استخدم لحساب تراكيز الليبتين في العينات.

3-4-1- حساب منسب كتلة الجسم BMI

جرى حساب منسب كتلة الجسم (BMI) Body Mass Index لأفراد الدراسة جميعهم من خلال تقسيم وزن المريضة بالكغ على مربع طولها بالمتر.

2- الدراسة الإحصائية Statistical Study

1- جرى التعبير عن قيم الواصفات المقاسة بالمتوسط الحسابي والانحراف المعياري ومجال القيم لكل مجموعة.

2- اعتمد اختبار student's t-test، لتحديد ما إذا كان الفارق بين المتوسطات ناجماً عن المصادفة أم حقيقياً، واعتمدت قيمة $p\text{-value} > 0.05$ قيمة معتد بها إحصائياً.

3- اعتمد معامل الارتباط pearson لدراسة علاقة الارتباط لدى متباينات المجموعة الواحدة، واعتمدت قيمة $p\text{-value} > 0.05$ قيمة معتد بها إحصائياً.

4- اعتمد معامل الارتباط Mann-Whitney test لدراسة دلالة الفروق بين مجموعتين اثنتين في متغير من النوع الفئوي المتدرج، واعتمدت قيمة $p\text{-value} > 0.05$ قيمة معتد بها إحصائياً.

5- اعتمد كاي مربع لدراسة استقلال أو ارتباط متغيرين ببعضهما، واعتمدت قيمة $p\text{-value} > 0.05$ قيمة معتد بها إحصائياً.

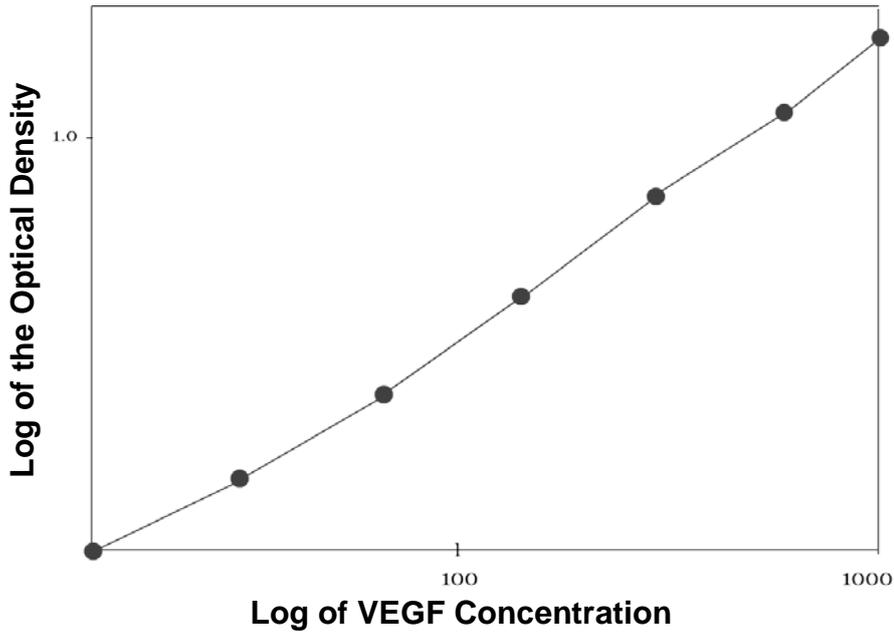
6- تم استخدام منحنى ROC لاختيار القيمة المعيارية المثلى التي تحقق الحساسية العالية والنوعية العالية.

7- أجريت الحسابات الإحصائية للبحث باستخدام برنامج SPSS الإصدار 13.

3- النتائج Results

3-1- تعيين مستويات الـ VEGF المصلية

جرى حساب تراكيز الـ VEGF في العينات المدروسة من خلال رسم المنحنى المعياري الذي يمثل العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز المحاليل المعيارية للـ VEGF، وهو منحنى جرى رسمه بسبع نقاط تمثل تلك العلاقة، كما هو موضح في الشكل 2.



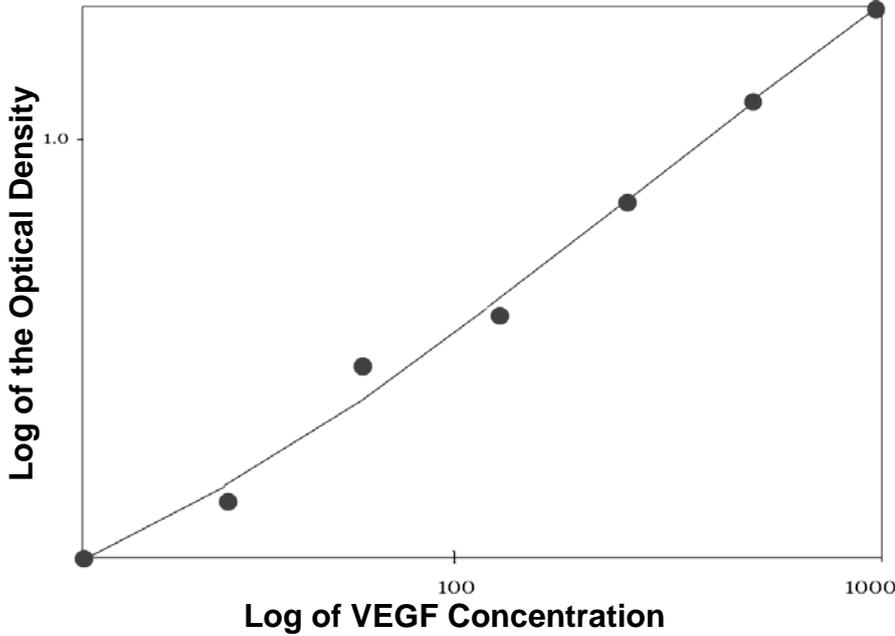
الشكل 2: منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية للـ VEGF والكثافة الضوئية المقاسة.

وباستخدام المنحنى المعياري السابق حصلنا على النتائج التالية:

تراوحت مستويات الـ VEGF المصلية لدى مجموعة مريضات الـ PCOS بين 103.21 و 619.22 بيكوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري ± 297.46 بينما تراوحت مستويات الـ VEGF المصلية لدى المجموعة الشاهدة بين 22.60 و 493.31 بيكوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري ± 134.08 بيكوغرام/مل.

2-3- تعيين مستويات الـ VEGF الجريبية

جرى حساب تراكيز الـ VEGF في العينات المدروسة من خلال رسم المنحنى المعياري الذي يمثل العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز المحاليل المعيارية للـ VEGF ، وهو منحنى جرى رسمه بسبع نقاط تمثل تلك العلاقة كما هو موضح في الشكل 3.



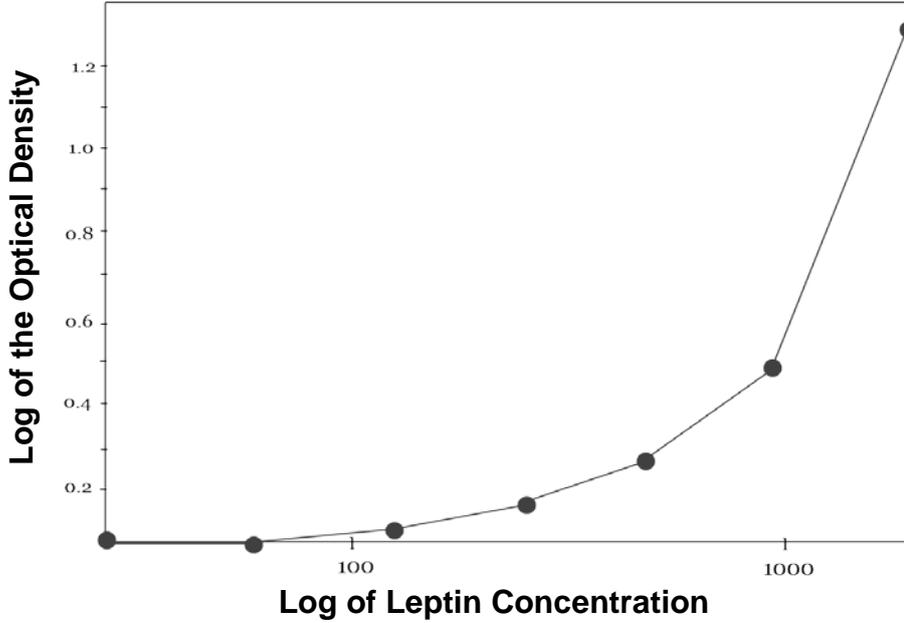
الشكل 3: منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية للـ VEGF والكثافة الضوئية المقاسة.

وباستخدام المنحنى المعياري السابق حصلنا على النتائج التالية:

تراوحت مستويات الـ VEGF الجريبية لدى مجموعة مريضات الـ PCOS بين 349.59 و 2952.71 بيكوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري ± 1358.92 بين 820.86 بيكوغرام/مل، بينما تراوحت مستويات الـ VEGF الجريبية لدى المجموعة الشاهدة بين 424.20 و 1375.46 بيكوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري ± 987.5 بيكوغرام/مل.

3-3- تعيين مستويات الليبتين المصلية

جرى حساب تراكيز الليبتين في العينات المدروسة من خلال رسم المنحنى المعياري الذي يمثل العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز المحاليل المعيارية لليبتين ، وهو منحنى جرى رسمه بسبع نقاط تمثل تلك العلاقة كما هو موضح في الشكل 4.



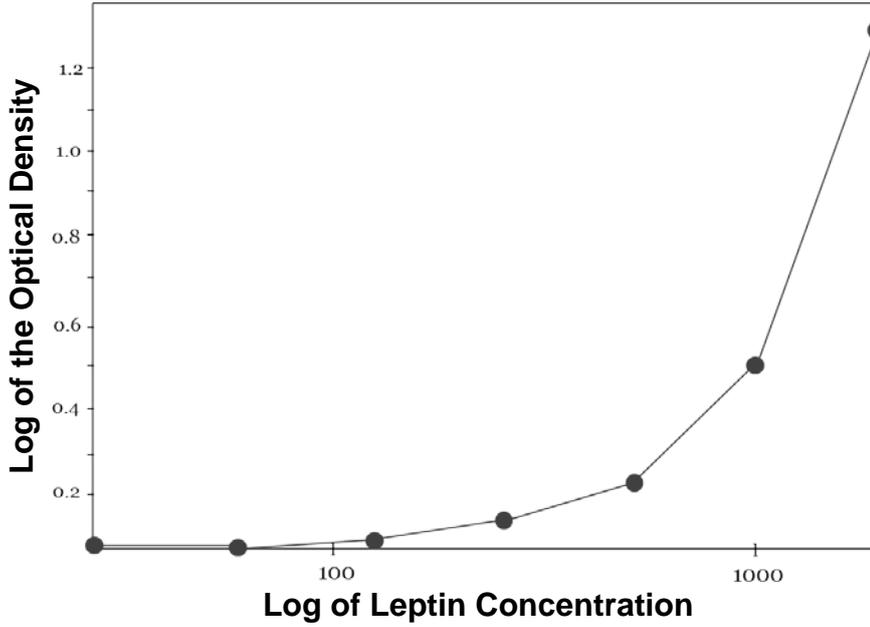
الشكل 4: منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية لليبتين والكثافة الضوئية المقاسة.

وباستخدام المنحنى المعياري السابق حصلنا على النتائج التالية:

تراوحت مستويات الليبتين المصلية لدى مجموعة مريضات الـ PCOS بين 4.87 و 44.91 نانوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري 11.26 ± 23.95 نانوغرام/مل، بينما تراوحت مستويات الليبتين المصلية لدى المجموعة الشاهدة بين 0.74 و 44.31 نانوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري 11.75 ± 22.27 نانوغرام/مل.

3-4- تعيين مستويات الليبتين الجريبية

جرى حساب تراكيز الليبتين في العينات المدروسة من خلال رسم المنحنى المعياري الذي يمثل العلاقة بين الكثافة الضوئية وتراكيز المحاليل المعيارية لليبتين ، وهو منحنى جرى رسمه بسبع نقاط تمثل تلك العلاقة كما هو موضح في الشكل 5.



الشكل 5: منحنى العلاقة بين تراكيز المحاليل المعيارية لليبتين والكثافة الضوئية المقاسة.

وباستخدام المنحنى المعياري السابق حصلنا على النتائج التالية:

تراوحت مستويات الليبتين الجريبية لدى مجموعة مريضات الـ PCOS بين 15.15 و 67.36 نانوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري 48.39 ± 12.12 نانوغرام/مل، بينما تراوحت مستويات الليبتين الجريبية لدى المجموعة الشاهدة بين 12.89 و 60.93 نانوغرام/مل، والمتوسط \pm الانحراف المعياري 43.27 ± 13.19 نانوغرام/مل.

3-5- مقارنة قيم منسب كتلة الجسم BMI بين مجموعتي الدراسة

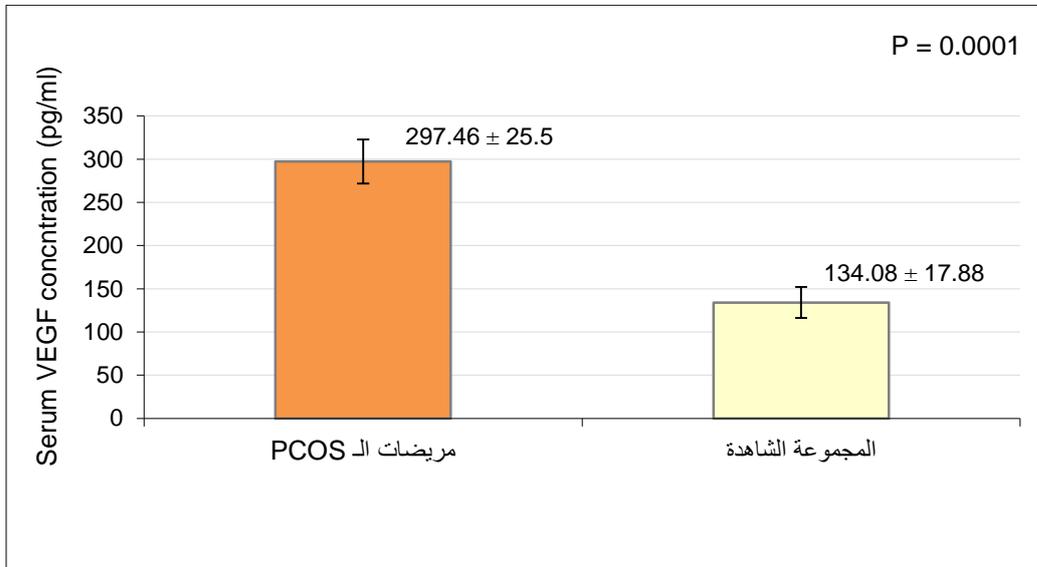
لم يكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في متوسط قيم منسب كتلة الجسم BMI بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة ($p = 0.331$) (الجدول 1).

الجدول 1: قيم منسب كتلة الجسم BMI لدى المجموعات المدروسة.

P Value	المجموعة الشاهدة	مريضات الـ PCOS	منسب كتلة الجسم (BMI) (كغ/م ²)
	المتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري	المتوسط الحسابي \pm الانحراف المعياري	
0.331	4.29 \pm 26.09	5.70 \pm 27.19	

6-3- مقارنة مستويات الـ VEGF المصلية بين مجموعتي الدراسة

أظهرت مستويات الـ VEGF المصلية ارتفاعاً ملحوظاً ومعتداً به إحصائياً لدى مريضات الـ PCOS مقارنة بالمجموعة الشاهدة، حيث كان متوسط مستويات الـ VEGF المصلية لدى مريضات الـ PCOS 297.46 ± 159.45 بيكوغرام/مل، ومجال القيم 103.21 - 619.22 بيكوغرام/مل، ومتوسط مستويات الـ VEGF المصلية لدى المجموعة الشاهدة 134.08 ± 113.06 بيكوغرام/مل، ومجال القيم 22.60 - 493.31 بيكوغرام/مل، والفارق معتد به إحصائياً ($P = 0.0001$) (الشكل 6).

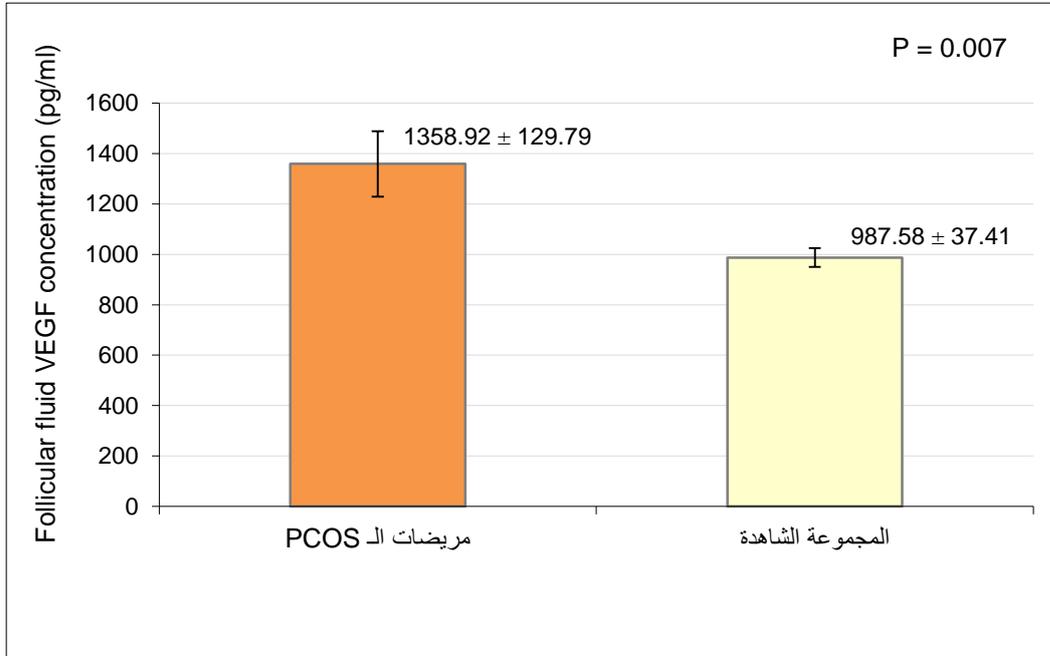


الشكل 6: متوسط مستويات الـ VEGF المصلية ± الخطأ المعياري لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

7-3- مقارنة مستويات الـ VEGF الجريبية بين مجموعتي الدراسة

أظهرت مستويات الـ VEGF الجريبية ارتفاعاً ملحوظاً ومعتداً به إحصائياً لدى مريضات الـ PCOS مقارنة بالمجموعة الشاهدة، حيث كان متوسط مستويات الـ VEGF الجريبية لدى مريضات الـ PCOS 820.86 ± 1358.92 بيكوغرام/مل، ومجال القيم 349.59 - 2952.71 بيكوغرام/مل، ومتوسط مستويات الـ VEGF الجريبية لدى المجموعة الشاهدة 236.62 ± 987.5 بيكوغرام/مل، ومجال القيم

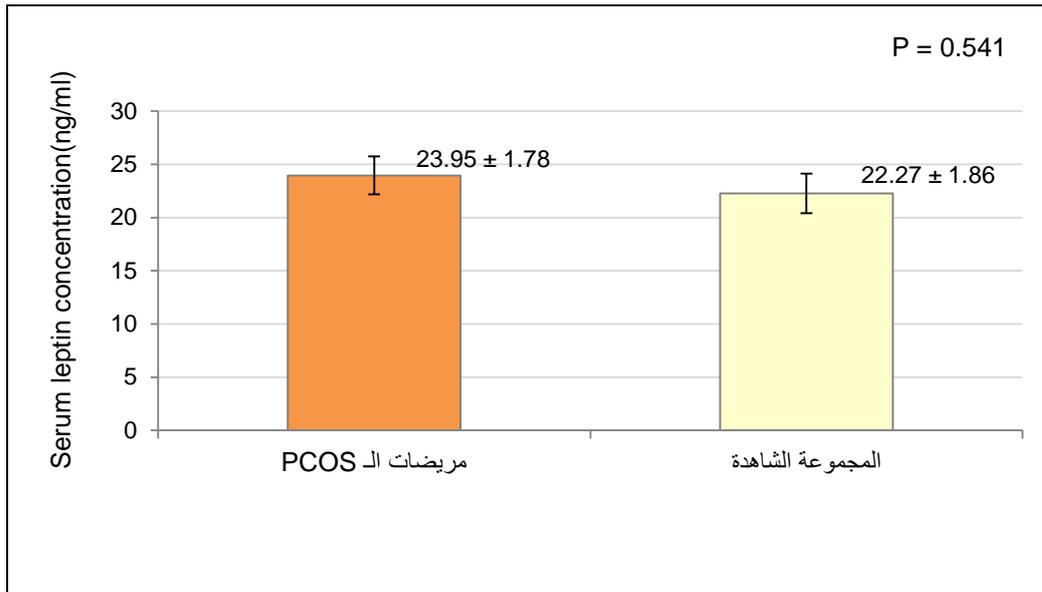
0.007 = P والفارق معتد به إحصائياً حيث $P = 0.007$ (الشكل 7).



الشكل 7: متوسط مستويات الـ VEGF الجريبية ± الخطأ المعياري لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

8-3- مقارنة مستويات الليبتين المصلية بين مجموعتي الدراسة

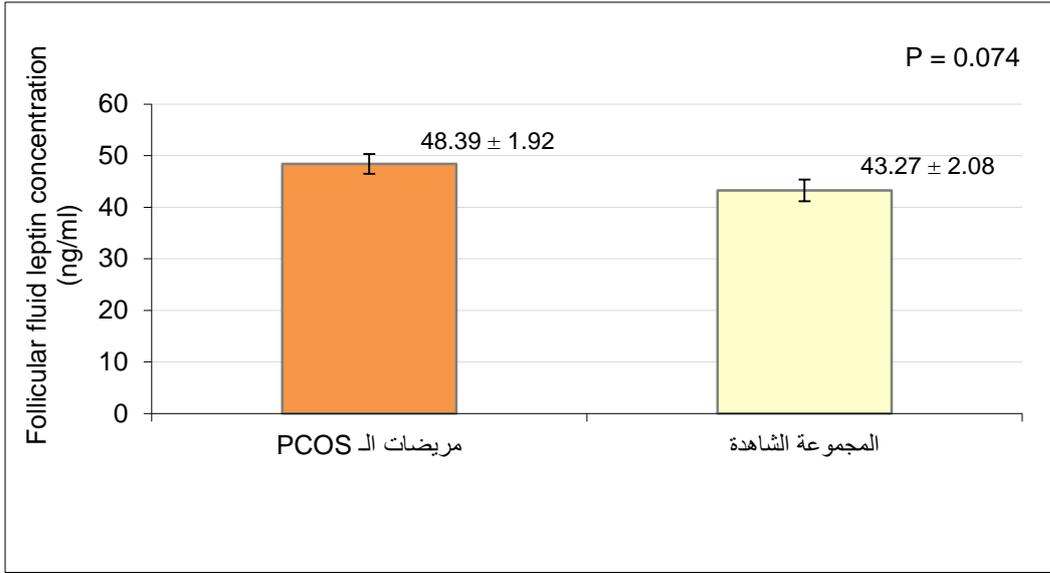
لم يكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الليبتين المصلية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة، حيث كان متوسط مستويات الليبتين المصلية لدى مريضات الـ PCOS 11.26 ± 23.95 نانوغرام/مل، ومجال القيم 4.87 - 44.91 نانوغرام/مل، ومتوسط مستويات الليبتين المصلية لدى المجموعة الشاهدة 11.75 ± 22.27 نانوغرام/مل، ومجال القيم 0.74 - 44.31 نانوغرام/مل، حيث $p = 0.541$ (الشكل 8).



الشكل 8: متوسط مستويات الليبتين المصلية \pm الخطأ المعياري لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

9-3- مقارنة مستويات الليبتين الجريبية بين مجموعتي الدراسة

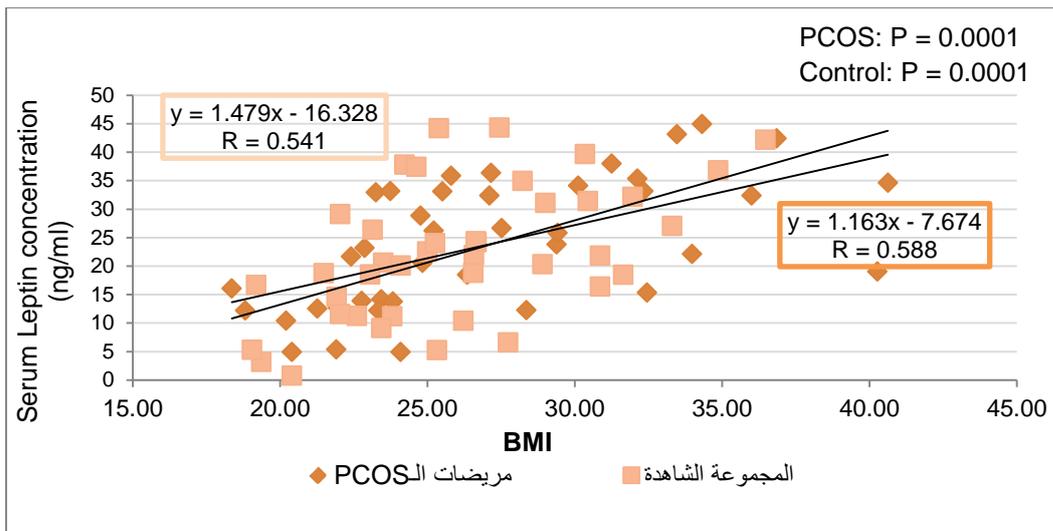
لم يكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الليبتين الجريبية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة، حيث كان متوسط مستويات الليبتين الجريبية لدى مريضات الـ PCOS 12.12 ± 48.39 نانوغرام/مل، ومجال القيم $67.36 - 15.15$ نانوغرام/مل، ومتوسط مستويات الليبتين الجريبية لدى المجموعة الشاهدة 43.27 ± 13.19 نانوغرام/مل، ومجال القيم $60.93 - 12.89$ نانوغرام/مل، حيث $p = 0.074$ (الشكل 9).



الشكل 9: متوسط مستويات الليبتين الجريبية \pm الخطأ المعياري لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

3-10- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية ومنسب كتلة الجسم BMI

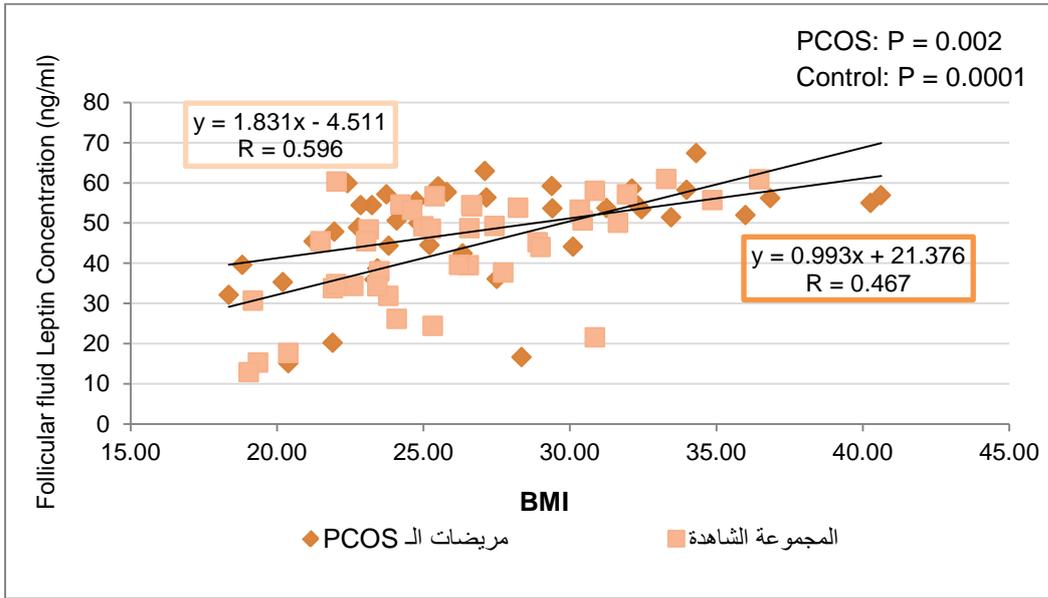
وجدنا من خلال دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية ومنسب كتلة الجسم BMI لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة علاقة ارتباط إيجابية معتد بها إحصائياً بين مستويات الليبتين المصلية والـ BMI لدى كل من مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الشهادة (الشكل 10)، $r = 0.588$ ، $p = 0.0001$ ؛ $r = 0.54$ ، $p = 0.0001$ ، على الترتيب).



الشكل 10: العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية والـ BMI لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

11-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين الجريبية ومنسب كتلة الجسم BMI

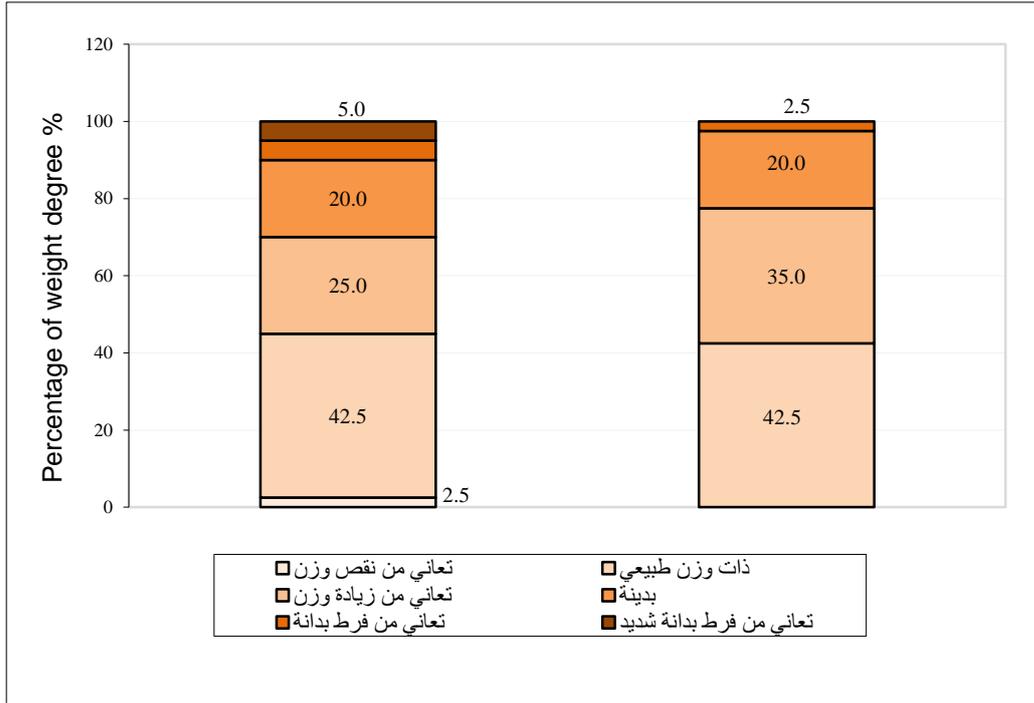
وجدنا من خلال دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين الجريبية ومنسب كتلة الجسم BMI لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة علاقة ارتباط إيجابية معتد بها إحصائياً بين مستويات الليبتين الجريبية والـ BMI لدى كل من مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة حيث ($r = 0.467$ ، $p = 0.002$ ؛ $r = 0.596$ ، $p = 0.0001$ ، على الترتيب) (الشكل 11).



الشكل 11: العلاقة بين مستويات الليبتين الجريبية والـ BMI لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

12-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين ودرجة البدانة

تم تقسيم أفراد الدراسة إلى فئات حسب درجة البدانة وتم تحديد النسبة المئوية لمريضات كل فئة في كل من مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الشكل 12). ولدى دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية والجريبية ودرجة البدانة تبين أنه يوجد علاقة ارتباط ذات دلالة إحصائية بين مستويات الليبتين المصلية والجريبية ودرجة البدانة لدى كل من مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 2).



الشكل 12: النسبة المئوية لدرجة البدانة لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

الجدول 2: العلاقة بين مستويات الليبتين ودرجة البدانة لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

المجموعة الشاهدة		مريضات الـ PCOS		
P value	r	P value	r	
0.006	0.43	0.0001	0.63	تركيز الليبتين في المصل (نانوغرام/مل)
0.0001	0.54	0.006	0.43	تركيز الليبتين في السائل الجريبي (نانوغرام/مل)

3-13- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF المصلية والجريبية والعمر

لم تكن هنالك علاقة ارتباط خطية معتد بها إحصائياً بين مستويات الـ VEGF في المصل أو السائل الجريبي وعمر المريضة سواء لدى مريضات الـ PCOS أو المجموعة الشاهدة (الجدول 3).

الجدول 3: العلاقة بين مستويات الـ VEGF في المصل والسائل الجريبي وعمر المريضة.

عمر المريضة (عام)				
المجموعة الشاهدة		مريضات الـ PCOS		
P value	r	P value	r	
0.073	0.287	0.973	-0.006	تركيز الـ VEGF في المصل (بيكوغرام/مل)
0.143	0.236	0.893	0.022	تركيز الـ VEGF في السائل الجريبي (بيكوغرام/مل)

3-14- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين المصلية والجريبية والعمر

لم تكن هنالك علاقة ارتباط خطية معتد بها إحصائياً بين مستويات الليبتين في المصل أو السائل الجريبي وعمر المريضة سواء لدى مريضات الـ PCOS أو المجموعة الشاهدة (الجدول 4).

الجدول 4: العلاقة بين مستويات الليبتين في المصل والسائل الجريبي وعمر المريضة.

عمر المريضة (عام)				
المجموعة الشاهدة		مريضات الـ PCOS		
P value	r	P value	r	
0.42	-0.13	0.7	0.06	تركيز الليبتين في المصل (نانوغرام/مل)
0.61	0.08	0.87	0.026	تركيز الليبتين في السائل الجريبي (نانوغرام/مل)

3-15- دراسة تأثير خصائص المجموعة المدروسة على نتائج الإخصاب في المختبر

جرت دراسة تأثير المجموعة المدروسة على نتائج الإخصاب داخل المختبر التالية:

- عدد الخلايا البيضوية المسترجعة.
- عدد الخلايا البيضوية الناضجة MII.

- عدد الخلايا البيضية المخصّبة.
- عدد الأجنة.
- معدل النضج.
- معدل الإخصاب.
- معدل التشطر.

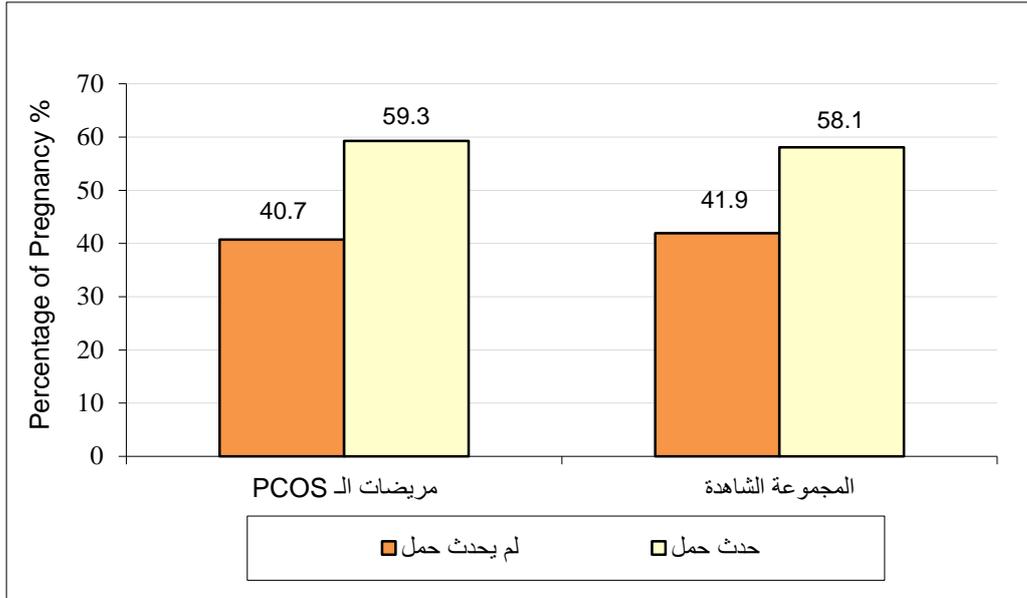
ولقد وجد فارق معتدلاً به إحصائياً في كل من عدد الخلايا البيضية المسترجعة وعدد الخلايا البيضية الناضجة وعدد البويضات المخصّبة وعدد الأجنة بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة، بينما لم تكن هنالك فروقات معتدلاً بها إحصائياً بين المجموعتين بالنسبة لمعدل نضج الخلايا البيضية ومعدل الإخصاب ومعدل التشطر (الجدول 5).

الجدول 5: الفروقات بين نتائج الإخصاب في المختبر لدى مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

P value	الشواهد	المرضى	
0.034	16.75 ± 8.76	21.68 ± 11.52	عدد الخلايا البيضية المسترجعة
0.036	10.23 ± 6.20	13.49 ± 8.76	عدد الخلايا البيضية الناضجة
0.019	7.46 ± 5.03	10.51 ± 6.16	عدد البويضات المخصّبة
0.027	4.45 ± 2.19	5.41 ± 1.53	عدد الأجنة
0.65	61.01 ± 16.52	62.51 ± 12.43	معدل النضج %
0.56	76.93 ± 30.83	80.44 ± 20.96	معدل الإخصاب %
0.11	74.36 ± 26.53	64.87 ± 25.51	معدل التشطر %

3-16- دراسة تأثير خصائص المجموعة المدروسة على حدوث الحمل

جرى تحديد النسبة المئوية لحدوث الحمل لدى كل من مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الشكل 13).



الشكل 13: النسبة المئوية لحدوث الحمل في عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.

ولقد تبين أنه لا توجد فروقات معتد بها إحصائياً في تكرارات حدوث الحمل بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 6).

الجدول 6: نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حدوث الحمل بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

المتغيران المدروسان = حدوث الحمل X المجموعة المدروسة			
P Value	درجات الحرية	قيمة كاي مربع	عدد المريضات
0.927	1	0.008	58

3-17- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF ونتائج الإخصاب في المختبر

لم ترتبط مستويات الـ VEGF في المصل أو السائل الجريبي مع أي من نتائج الإخصاب في المختبر لدى كل من مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 7).

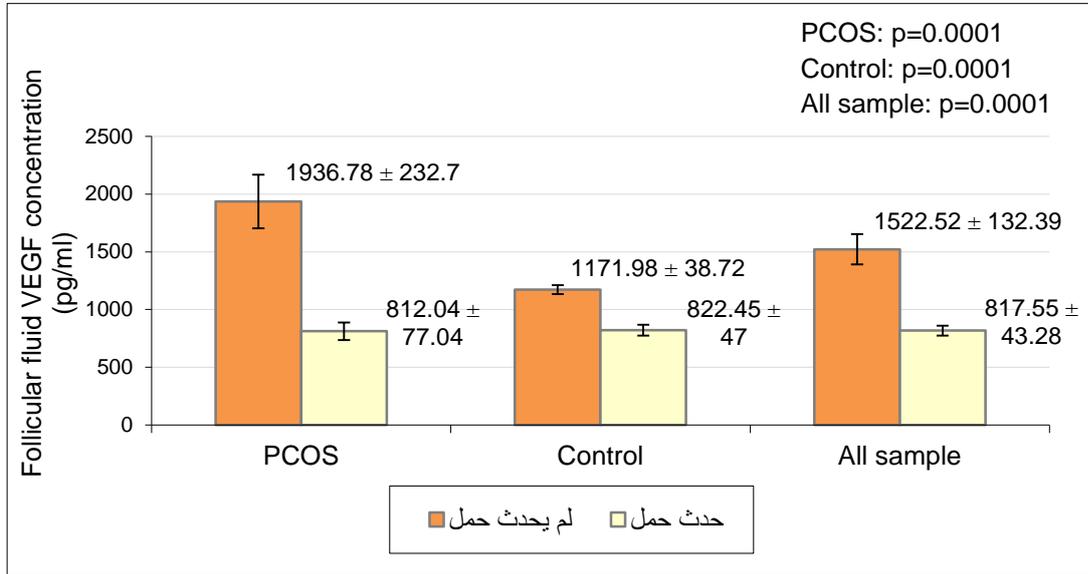
الجدول 7: العلاقة بين مستويات الـ VEGF ونتائج الإخصاب في المختبر لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

الشواهد		المرضى		المتغير الثاني (مستويات الـ VEGF (بـكغ/مل))	المتغير الأول
P value	معامل الارتباط	P value	معامل الارتباط		
0.83	-0.03	0.19	0.37	VEGF في المصل	عدد الخلايا البيضية المسترجعة
0.43	-0.13	0.7	-0.06	VEGF في السائل الجريبي	
0.86	-0.03	0.17	0.23	VEGF في المصل	عدد الخلايا البيضية الناضجة
0.5	-0.11	0.53	-0.1	VEGF في السائل الجريبي	
0.86	0.03	0.05	0.32	VEGF في المصل	عدد البويضات المخصبة
0.48	-0.12	0.66	-0.07	VEGF في السائل الجريبي	
0.09	0.27	0.64	-0.08	VEGF في المصل	عدد الأجنة
0.08	-0.28	0.25	-0.19	VEGF في السائل الجريبي	
0.76	0.05	0.06	-0.31	VEGF في المصل	معدل النضج (%)
0.96	-0.008	0.5	-0.11	VEGF في السائل الجريبي	
0.5	0.11	0.12	0.26	VEGF في المصل	معدل الإخصاب (%)
0.73	-0.06	0.36	0.15	VEGF في السائل الجريبي	
0.57	0.09	0.15	-0.24	VEGF في المصل	معدل التشطر (%)
0.96	-0.008	0.5	0.11	VEGF في السائل الجريبي	

3-18- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF وحدوث الحمل

لم يكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الـ VEGF المصلية بين مجموعة الحالات التي حدث فيها حمل وتلك التي لم يحدث فيها حمل لدى كل من مريضات الـ PCOS ($P = 0.416$) والمجموعة الشاهدة ($P = 0.271$) وعينة البحث كاملة ($P = 0.299$).

بينما أظهرت مستويات الـ VEGF الجريبية ارتفاعاً ملحوظاً ومعتداً به إحصائياً في مجموعة الحالات التي لم يحدث فيها حمل، مقارنة مع تلك التي حدث فيها حمل، لدى كل من مريضات الـ PCOS ($P = 0.0001$) والمجموعة الشاهدة ($P = 0.0001$) وعينة البحث كاملة ($P = 0.0001$) (الشكل 14).

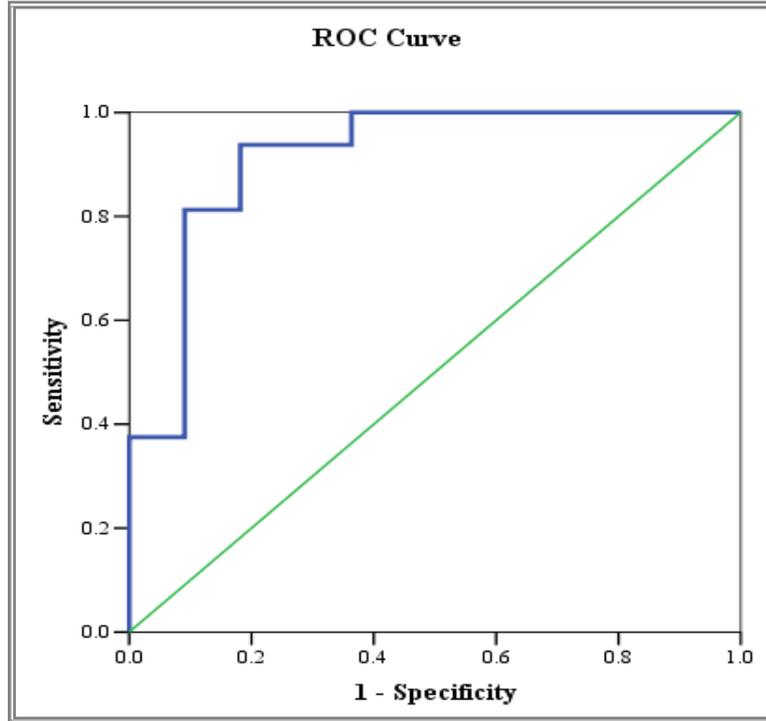


الشكل 14: مقارنة مستويات الـ VEGF الجريبية بين المجموعة التي حدث لديها حمل وتلك التي لم يحدث لديها حمل.

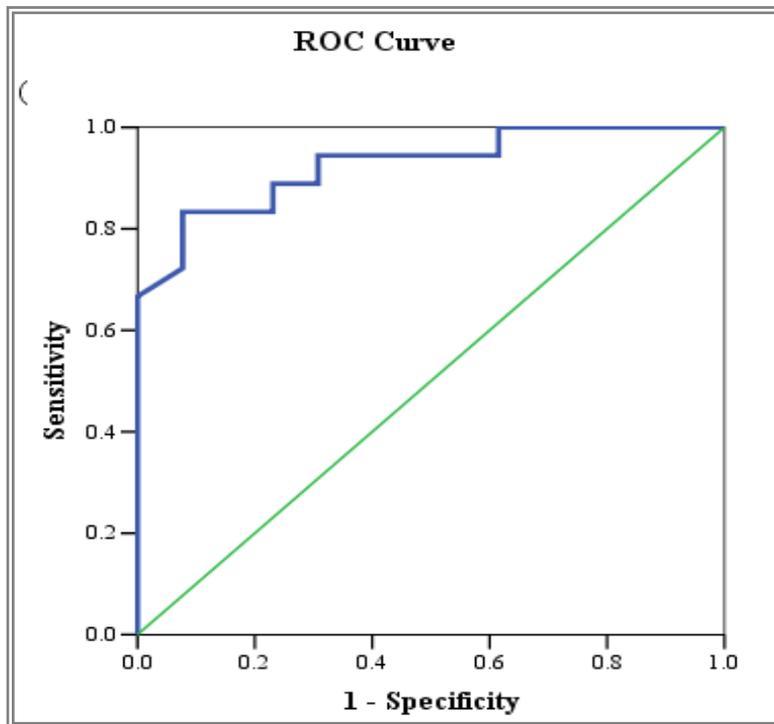
3-19- دراسة إمكانية التنبؤ بحدوث الحمل اعتماداً على قيم تركيز الـ VEGF في

السائل الجريبي وفقاً للمجموعة المدروسة

جرى رسم مخطط منحنى ROC لدراسة العلاقة بين تركيز الـ VEGF في السائل الجريبي (بيكوغرام/مل) وحدوث الحمل لدى كل من مجموعة مريضات الـ PCOS (الشكل 15) ولدى المجموعة الشاهدة (الشكل 16).



الشكل 15: حساسية ونوعية مستويات الـ VEGF الجريبية للتنبؤ بحدوث الحمل لدى مجموعة مريضات الـ PCOS.



الشكل 16: حساسية ونوعية مستويات الـ VEGF الجريبية للتنبؤ بحدوث الحمل لدى المجموعة الشاهدة.

ولدى حساب مقدار المساحة تحت منحنى ROC تبين أنه يمكن الاعتماد على قيم تركيز عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) في السائل الجريبي (بيكوغرام/مل) للتعقب بحدوث الحمل، وذلك في كل من مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 8).

الجدول 8: العلاقة بين مستويات الـ VEGF في السائل الجريبي وحدوث الحمل لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

P value	الخطأ المعياري	مقدار المساحة تحت منحنى ROC	المجموعة المدروسة
0.0001	0.06	0.91	مجموعة مريضات الـ PCOS
0.0001	0.05	0.92	المجموعة الشاهدة

ولقد جرى حساب قيم الحساسية والنوعية لحدوث الحمل لدى عدد من القيم الحدية لتراكيز الـ VEGF في السائل الجريبي وفقاً للمجموعة المدروسة (الجدول 9).

الجدول 9: قيم الحساسية والنوعية لحدوث الحمل لدى عدد من القيم الحدية لتراكيز الـ VEGF في السائل الجريبي.

النوعية %	الحساسية %	القيمة الحدية (بيكوغرام/مل)	المجموعة المدروسة
90.9	81.3	1030.7	مجموعة مريضات الـ PCOS
81.8	81.3	1094.7	
81.8	87.5	1115	
81.8	93.8	1194.3	
72.7	93.8	1314.2	
63.6	93.8	1403.8	
63.6	100	1581	
100	66.7	895.1	المجموعة الشاهدة
92.3	72.2	926.3	
92.3	77.8	934.2	

92.3	83.3	984.7	
84.6	83.3	1040.8	
76.9	83.3	1051.4	
76.9	88.9	1059.6	

يبين الجدول أعلاه أن أفضل تناسب بين الحساسية والنوعية كان عند القيمة 1194.3 بيكوغرام/مل في مجموعة مريضات الـ PCOS إذ كانت الحساسية 93.8% والنوعية 81.8% وعند القيمة 984.7 بيكوغرام/مل في المجموعة الشاهدة، حيث كانت الحساسية 83.3% والنوعية 92.3%، وبالتالي نستنتج أنه يمكن اعتبار القيمتين المذكورتين كقيم معيارية لتركيز الـ VEGF في السائل الجريبي (بيكوغرام/مل) للتعقب بحدوث الحمل، بحيث إذا كان تركيز عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) في السائل الجريبي أصغر من القيمة المعيارية فإن ذلك يتنبأ بحدوث الحمل في عينة البحث.

20-3- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين ونتائج الإخصاب في المختبر

إن مستويات الليبتين في المصل أو السائل الجريبي لم ترتبط مع أي من نتائج الإخصاب في المختبر لدى كل من مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 10).

الجدول 10: العلاقة بين مستويات الليبتين ونتائج الإخصاب في المختبر لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

المجموعة الشاهدة		مريضات الـ PCOS		المتغير الثاني (مستويات الليبتين (نغ/مل))	المتغير الأول
P value	معامل الارتباط	P value	معامل الارتباط		
0.54	0.1	0.05	-0.31	الليبتين في المصل	عدد الخلايا البيضية
0.5	0.11	0.05	-0.41	الليبتين في السائل الجريبي	المسترجعة
0.63	0.08	0.1	-0.27	الليبتين في المصل	عدد الخلايا البيضية
0.48	0.11	0.05	-0.46	الليبتين في السائل الجريبي	الناضجة

0.79	0.04	0.34	-0.16	الليبتين في المصل	عدد البويضات المخصبة
0.82	0.04	0.08	-0.29	الليبتين في السائل الجريبي	عدد الأجنة
0.71	0.06	0.97	-0.006	الليبتين في المصل	
0.95	0.01	0.71	-0.06	الليبتين في السائل الجريبي	
0.78	-0.05	0.29	0.17	الليبتين في المصل	معدل النضج (%)
0.93	-0.01	0.82	-0.04	الليبتين في السائل الجريبي	
0.84	0.03	0.58	0.09	الليبتين في المصل	معدل الإخصاب (%)
0.48	-0.12	0.67	0.07	الليبتين في السائل الجريبي	
0.65	0.07	0.42	0.13	الليبتين في المصل	معدل التشطر (%)
0.78	-0.05	0.15	0.24	الليبتين في السائل الجريبي	

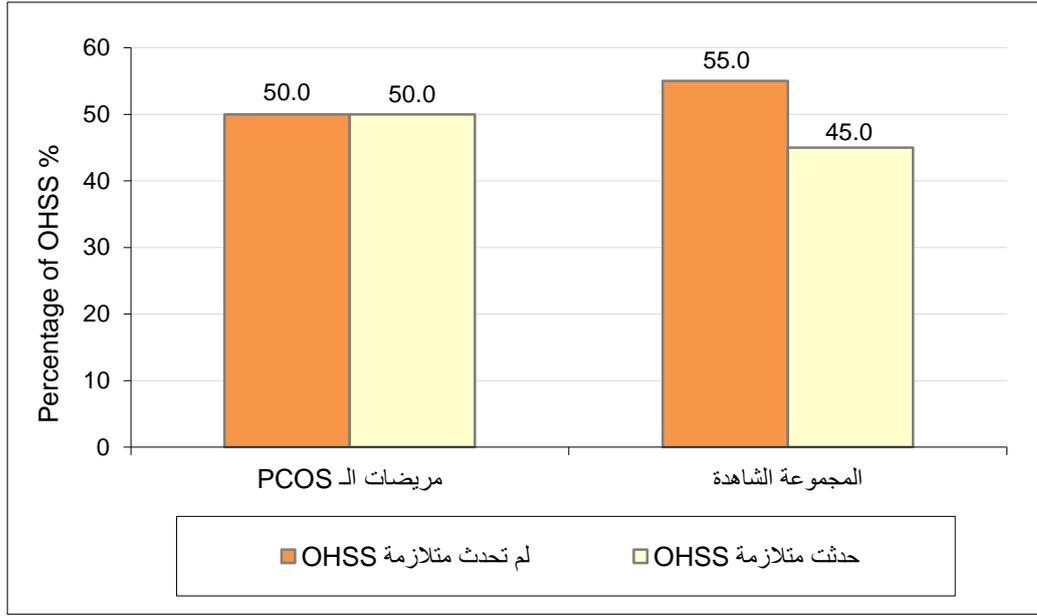
3-21- دراسة العلاقة بين مستويات الليبتين وحدوث الحمل

وجدنا أنه لم تكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الليبتين المصلية بين مجموعة الحالات التي حدث فيها حمل وتلك التي لم يحدث فيها حمل لدى كل من مريضات الـ PCOS ($P = 0.474$) والمجموعة الشاهدة ($P = 0.743$) وعينة البحث كاملة ($P = 0.807$).

أيضاً لم يكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الليبتين الجريبية بين مجموعة الحالات التي حدث فيها حمل وتلك التي لم يحدث فيها حمل لدى كل من مريضات الـ PCOS ($P = 0.606$) والمجموعة الشاهدة ($P = 0.344$) وعينة البحث كاملة ($P = 0.709$).

3-22- دراسة حدوث متلازمة فرط تنبيه المبيض OHSS

جرى تحديد النسبة المئوية لحدوث متلازمة فرط تنبيه المبيض لدى كل من مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الشكل 17).



الشكل 17: النسبة المئوية لحدوث متلازمة الـ OHSS في عينة البحث وفقاً للمجموعة المدروسة.

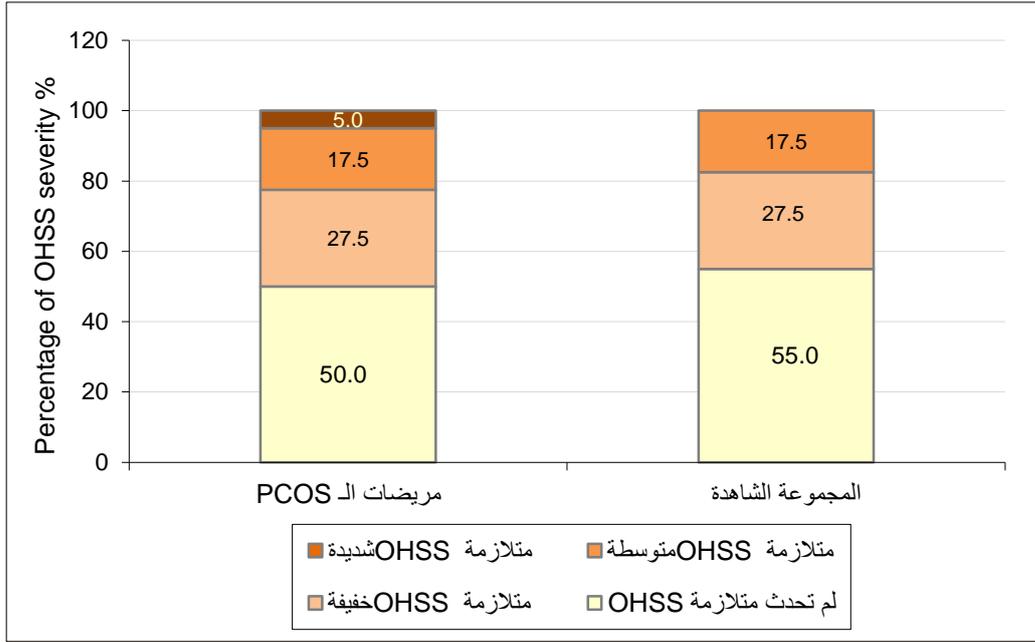
ولقد تبين أنه لا توجد فروقات معتد بها إحصائياً في تكرارات حدوث متلازمة الـ OHSS بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 11).

الجدول 11: نتائج اختبار كاي مربع لدراسة دلالة الفروق في تكرارات حدوث متلازمة الـ OHSS بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

المتغيران المدروسان = حدوث متلازمة OHSS X المجموعة المدروسة			
P Value	درجات الحرية	قيمة كاي مربع	عدد المريضات
0.65	1	0.2	80

23-3- دراسة شدة الإصابة بمتلازمة فرط تنبيه المبيض OHSS

تم تحديد النسبة المئوية لشدة الإصابة بمتلازمة الـ OHSS لدى كل من مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الشكل 18).



الشكل 18: النسبة المئوية لشدة الإصابة بمتلازمة الـ OHSS لدى مجموعة مريضات الـ PCOS ولدى المجموعة الشاهدة.

وتبين أنه لا توجد فروقات معتد بها إحصائياً في تكرارات شدة الإصابة بمتلازمة الـ OHSS بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (الجدول 12).

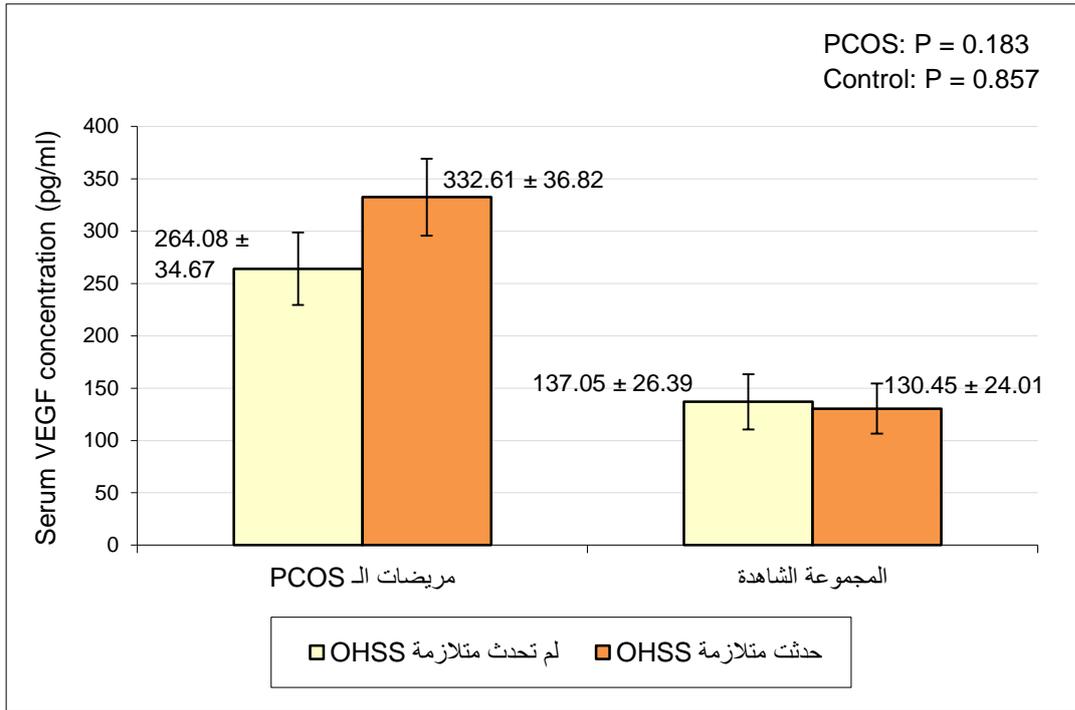
الجدول 12: نتائج اختبار Mann-Whitney U لدراسة دلالة الفروق في تكرارات شدة الإصابة بمتلازمة الـ OHSS بين مجموعة مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة.

P Value	قيمة U	المجموعة الشاهدة		مريضات الـ PCOS		المتغير المدروس
		متوسط الرتب	عدد المريضا	متوسط الرتب	عدد المريضا	
0.540	742.0	39.05	40	41.95	40	درجة الإصابة بمتلازمة OHSS

24-3- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF المصلية وحدوث متلازمة الـ OHSS

بينت دراستنا أنه لا يوجد فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الـ VEGF المصلية بين مجموعة الحالات التي حدثت فيها متلازمة الـ OHSS وتلك التي لم تحدث فيها هذه

المتلازمة لدى مريضات الـ PCOS (160.48 ± 332.61 ، 155.05 ± 264.08 ، على الترتيب، $P = 0.183$) (الشكل 19).
 أيضاً لم تكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الـ VEGF المصلية بين مجموعة الحالات التي حدثت فيها متلازمة الـ OHSS وتلك التي لم تحدث فيها هذه المتلازمة لدى المجموعة الشاهدة (101.87 ± 130.45 ، 123.77 ± 137.05 ، على الترتيب، $P = 0.857$) (الشكل 19).

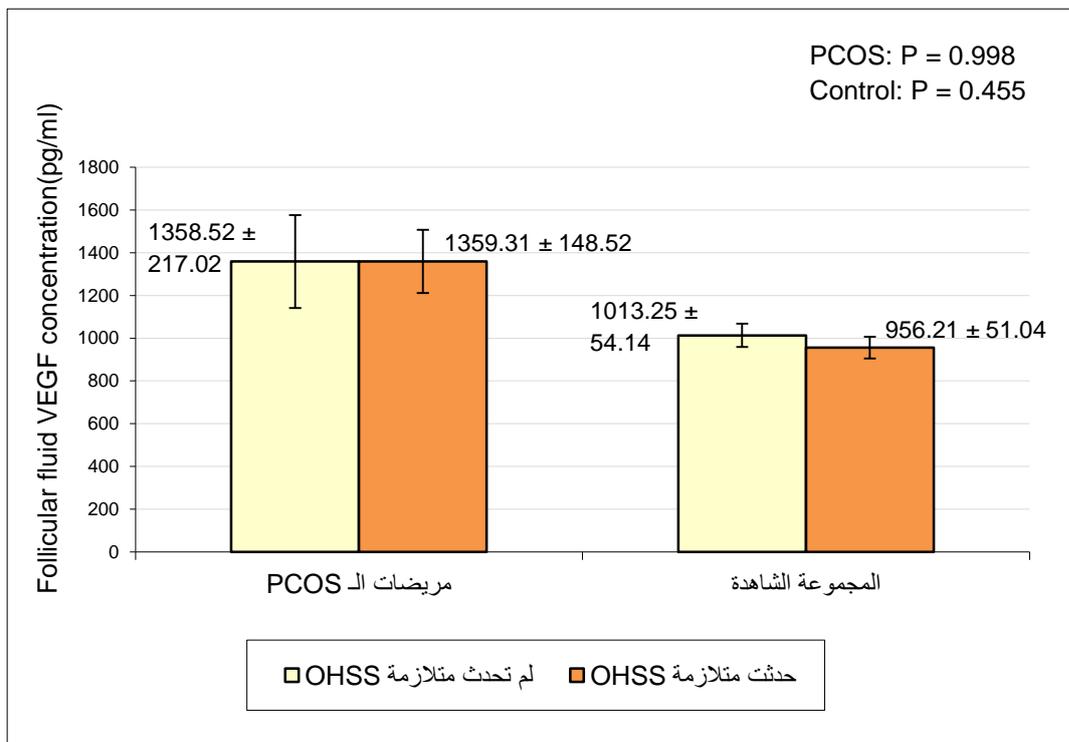


الشكل 19: المتوسط الحسابي \pm الخطأ المعياري لتركيز الـ VEGF في المصل (بيكوغرام/مل) في عينة البحث وفقاً لحدوث متلازمة الـ OHSS والمجموعة المدروسة.

3-25- دراسة العلاقة بين مستويات الـ VEGF الجريبية وحدوث متلازمة الـ OHSS

بينت دراستنا عدم وجود فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الـ VEGF الجريبية بين مجموعة الحالات التي حدثت فيها متلازمة الـ OHSS وتلك التي لم تحدث فيها هذه المتلازمة لدى مريضات الـ PCOS (664.21 ± 1359.31 ، 970.53 ± 1358.52 ، على الترتيب، $P = 0.998$) (الشكل 20).

أيضاً لم يكن هنالك فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الـ VEGF الجريبية بين مجموعة الحالات التي حدثت فيها متلازمة OHSS وتلك التي لم تحدث فيها هذه المتلازمة لدى المجموعة الشاهدة (216.54 ± 956.21، 253.94 ± 1013.25، على الترتيب، P = 0.455) (الشكل 20).



الشكل 20: المتوسط الحسابي ± الخطأ المعياري لتركيز الـ VEGF في السائل الجريبية (بيكوغرام/مل) في عينة البحث وفقاً لحدوث متلازمة الـ OHSS والمجموعة المدروسة.

4- المناقشة

ارتفعت مستويات الـ VEGF المصلية والجريبية لدى مريضات الـ PCOS مقارنة بالمجموعة الشاهدة

توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Artini وزملائه عام 2009 (124) و Artini وزملائه عام 2006 (120) و Agrawal وزملائه عام 2002 (175) والتي وجدت ارتفاعاً في مستويات الـ VEGF في المصل والسائل الجريبي لدى مريضات الـ PCOS مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

يمكن أن يسبب هذا الارتفاع في مستويات الـ VEGF فرط وعائية في القراب الغائر وسدى المبيض والذي هو مظهر بارز لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS)، حيث أن تكون الأوعية الكثيف هذا هو الذي يمكن أن يقود إلى النمو الشاذ للقراب الغائر والذي هو مكان توليد الأندروجين، وبناءً على ذلك يحصل فرط في إنتاج الأندروجين لدى مريضات الـ PCOS كما تعاني معظم المريضات من تضخم المبيض (176).

ويمكن تفسير ارتفاع مستويات الـ VEGF بما وجده Agrawal وزملاؤه عام 2002 (175) بأن إفراز الـ VEGF من خلايا الطبقة المحببة اللوتينية معتمد على موجهة الغدد التناسلية وأنه يزداد بتأثير الأنسولين، كما أن خلايا الطبقة المحببة اللوتينية لدى مريضات الـ PCOS تكون أكثر حساسية للأنسولين (177)، وبما أن فرط أنسولين الدم هو علامة مميزة للـ PCOS فقد يكون فرط الأنسولينية هو الذي يساهم في فرط إفراز الـ VEGF لدى النساء المصابات بالـ PCOS. فزيادة تراكيز الـ VEGF لدى مريضات الـ PCOS قد لا يعود فقط إلى زيادة عدد خلايا الطبقة المحببة اللوتينية المفرزة الفعالة في المبيض متعدد الكيسات ولكن أيضاً إلى زيادة السعة الإفرازية لكل خلية محببة (175).

في حين فسّر Lee وزملاؤه عام 2008 (178) سبب ارتفاع مستويات الـ VEGF بتعددات أشكال نوكليويتيدية مفردة في جين الـ VEGF والذي وجده عند 134 امرأة كورية مصابة بالـ PCOS وقد استنتج أن تعددات الأشكال النوكليويتيدية المفردة التي تنظم التعبير عن الـ VEGF ونشاطه قد تكون مرتبطة بشكل ملحوظ مع إمراضية الـ PCOS. ولكن هنالك حاجة إلى المزيد من الدراسات لفهم دور تعددات الأشكال النوكليويتيدية المفردة لجين الـ VEGF في إمراضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات.

ويمكن أن يفسر حصول الارتفاع في المصل والسائل الجريبي معاً بما أثبتته Agrawal وزملاؤه عام 1999 (179) وAgrawal وزملاؤه عام 1998 (31) من أن الجهاز التناسلي الأنثوي هو المصدر الرئيسي للـ VEGF الدوراني، وأن زيادة التعبير عن الـ VEGF المبيضي لدى مريضات الـ PCOS هو الذي يؤدي إلى ارتفاع تراكيزه المصلية.

بينت دراستنا عدم وجود فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الليبتين المصلية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة

ولقد توافقت نتائجنا مع نتائج دراسة Plati وزملائه عام 2010 (اليونان) (180) وMantzoros وزملائه عام 2000 (أمريكا) (172) واللذين وجدا أن مستويات الليبتين في المصل لم تختلف بين مريضات الـ PCOS والشواهد المماثلات لهن في الوزن والعمر. ويمكن تفسير ذلك بأن تراكيز الليبتين الدورانية تعود بشكل أساسي إلى دهون الجسم الكلية لدى كل من مريضات الـ PCOS والشواهد.

بينما خالفت نتائجنا نتائج دراسة Li وزملائه عام 2007 (الصين) (170) والتي وجدت أن مستويات الليبتين المصلية تكون أعلى لدى النساء المصابات بالـ PCOS مقارنة مع الشواهد. ويمكن أن يفسر هذا الاختلاف بأن هذه الدراسات أجريت على مجموعات إثنية مختلفة وأن هذه المجموعات قد تختلف عن بعضها بتوزيع دهون الجسم وبالمنط الظاهري لها (181)، وإن تركيز الليبتين يرتبط بشكل ملحوظ مع توزع الدهون وبشكل مستقل عن البدانة الإجمالية (182)، فقد أظهر Ram وزملاؤه عام 2005 أنه وبشكل محدد ترتبط البدانة المركزية والتي تقاس بمعدل الخصر إلى الورك وثخانة طية الجلد البطنية بشكل ملحوظ مع مستويات الليبتين المصلية لدى كل من مريضات الـ PCOS والشواهد (182).

فإلى الآن هنالك اختلاف بين الدراسات في ما يتعلق بتراكيز الليبتين المصلية بين مريضات الـ PCOS والشواهد، وحتى الآن لم يعز أي دور نهائي لليبتين في الفيزيولوجيا المرضية لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.

أشارت دراستنا إلى عدم وجود فروقات معتد بها إحصائياً في مستويات الليبتين الجريبية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة

وتوافقت نتائج دراستنا في ذلك مع دراسة Mantzoros وزملائه عام 2000 (أمريكا) والتي أظهرت أنه بعد ضبط العمر والـ BMI لم يكن هنالك اختلاف في تراكيز الليبتين الجريبية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة، في حين أنه كانت مستويات الليبتين الجريبية أعلى لدى مريضات الـ PCOS قبل ضبط العمر والـ BMI، مما يشير إلى أنه وبشكل مشابه لتراكيز الليبتين المصلية فإن ارتفاع تراكيز الليبتين في السائل الجريبي لدى مريضات الـ PCOS يعود إلى ارتفاع الـ BMI لدى هؤلاء المريضات (172).

وتعارضت نتائج دراستنا مع دراسة Plati وزملائه عام 2010 (اليونان) (180) وGarruti وزملائه عام 2014 (إيطاليا) (181) والذين وجدوا أن مستويات الليبتين الجريبية تكون أقل لدى النساء المصابات بالـ PCOS مقارنة مع الشواهد، وقد فسّر Plati وزملاؤه ذلك بأن الإستروجين يحفز، في حين أن الأندروجين يثبط إنتاج الليبتين وهذا ما يؤدي إلى انخفاض تراكيز الليبتين.

وتعارضت نتائجنا أيضاً مع نتائج دراسة Li وزملائه عام 2007 (الصين) والتي وجدت أن مستويات الليبتين الجريبية تكون أعلى لدى النساء المصابات بالـ PCOS بشكل مستقل عن الـ BMI واقترحت أن الليبتين يلعب دوراً في إمرضية الـ PCOS (170). يمكن أن يفسر هذا الاختلاف بأن هذه الدراسات أجريت على مجموعات إثنية مختلفة وأن هذه المجموعات قد تختلف عن بعضها بتوزيع دهون الجسم وبالمنط الظاهري لها (181)، وإن تركيز الليبتين يرتبط بشكل ملحوظ مع توزع الدهون وبشكل مستقل عن البدانة الإجمالية (182). وإلى الآن هنالك اختلاف بين الدراسات في ما يتعلق بتراكيز الليبتين الجريبية بين مريضات الـ PCOS والشواهد، وحتى الآن لم يعز أي دور نهائي لليبتين في الفيزيولوجيا المرضية لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.

ارتبطت مستويات الليبتين المصلية والجريبية ارتباطاً إيجابياً مع منسب كتلة الجسم BMI لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة

توافقت نتائج دراستنا بذلك مع نتائج دراسات Plati وزملائه عام 2010 (180) و Mantzoros وزملائه عام 2000 (172) والذين وجدوا أن تراكيز الليبتين في المصل والسائل الجريبي ترتبط ارتباطاً إيجابياً مع الـ BMI.

ويمكن أن يفسر هذا الارتفاع في تركيز الليبتين مع ارتفاع الـ BMI من خلال حقيقة أن الليبتين يفرز بشكل رئيسي من الخلايا الشحمية وتراكيزه تعكس دهون الجسم الكلية.

وجدنا أن مستويات الـ VEGF المصلية لم ترتبط مع أي من نتائج الإخصاب داخل المختبر أو مع حدوث الحمل لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة

توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Artini وزملائه عام 2009 (124) والتي لم تجد ارتباطاً بين مستويات الـ VEGF المصلية والمنتاببات المرتبطة بالفعالية الجريبية المبيضية.

أيضاً توافقت نتائجنا جزئياً مع Nikolettos وزملائه عام 2004 (183) والذي وجد أن مستويات الـ VEGF المصلية لدى النساء غير المصابات بالـ PCOS لا ترتبط مع أي من نتائج الإخصاب في المختبر. وكذلك توافقت جزئياً مع Asimakopoulos وزملائه عام 2005 (184) والذي وجد أن مستويات الـ VEGF المصلية لدى النساء الطبيعيات الخاضعات للـ IVF لم تختلف بشكل ملحوظ بين مجموعة الحوامل وغير الحوامل.

بينما على العكس من ذلك أظهرت الدراسات السابقة أن مستويات الـ VEGF الجريبية قد تؤثر في نتيجة الإخصاب في المختبر أو في حدوث الحمل.

ويمكن أن يفسر ذلك بأنه يوجد اختلاف كبير في تركيز الـ VEGF بين المصل والسائل الجريبي، حيث أن تركيزه في السائل الجريبي في هذه الدراسات جميعها كان أعلى من تركيزه في المصل ويمكن أن يشير ذلك إلى أهمية التنظيم داخل الجريبي للـ VEGF في التأثير على نتائج الإخصاب داخل المختبر أو حدوث الحمل.

كانت مستويات الـ VEGF الجريبية غير مرتبطة مع نتائج الإخصاب داخل المختبر لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة

توافقت نتائج دراستنا بشكل جزئي مع دراسة Artini وزملائه عام 2006 والذي لم يجد ارتباطاً بين مستويات الـ VEGF الجريبية والنسبة المئوية للبيوضات الناضجة التي جرى جمعها (120).

ولكن هنالك نتائج متضاربة في ما يتعلق بالارتباط بين مستويات الـ VEGF الجريبية ونتائج الـ IVF، حيث وجد Artini وزملائه عام 2009 أن ارتفاع مستويات الـ VEGF في السائل الجريبى هو مؤشر لانخفاض جودة البيوضات وانخفاض معدلات الإخصاب (124). وعلى العكس من ذلك وجد Bokal وزملائه عام 2005 أن زيادة مستويات الـ VEGF الجريبية تؤدي إلى زيادة عدد البيوضات والأجنة عالية الجودة وزيادة معدلات الإخصاب (125)، ووجدت دراسة Bokal وزملائه عام 2009 أن إعطاء مناهضات الـ VEGF يُنقص مستويات الـ VEGF الجريبية لدى مريضات الـ PCOS مؤدياً إلى انخفاض عدد البيوضات الناضجة MII (126).

فالنتائج حتى الآن متضاربة في ما يتعلق بارتباط مستويات الـ VEGF الجريبية مع نتائج الإخصاب في المختبر ولم يتم التوصل حتى الآن إلى نظرية محددة تفسر ذلك.

يتنبأ انخفاض مستويات الـ VEGF الجريبية بحدوث الحمل لدى مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة

توافقت نتائج دراستنا مع دراسة Friedman وزملائه عام 1998 والذي وجد أن ارتفاع مستويات الـ VEGF الجريبية هي علامة لنقص القدرة على الحمل (185).

وتوافقت نتائجنا جزئياً مع دراسة Nikolettos وزملائه عام 2004 (183) وAsimakopoulos وزملائه عام 2005 (184) ودراسة Ocal وزملائه عام 2004 (186) والذين وجدوا ارتفاعاً في مستويات الـ VEGF الجريبية في مجموعة الحالات التي لم يحدث فيها حمل مقارنة مع الحالات التي حدث فيها حمل لدى النساء غير المصابات بالـ PCOS الخاضعات للإخصاب في المختبر.

ويمكن أن يفسر التأثير السلبي للـ VEGF على حدوث الحمل بما أوحى إليه Friedman وزملاؤه عام 1998 من أن الـ VEGF هو علامة لنقص التأكسج الجريبى (185)، فالتزود الكافي بالأوكسجين أساسي من أجل تشكل وثباتية المغزل الانتصافي ونمو الجنين

(187,188). أيضاً يفسر بما أشار إليه Barroso وزملاؤه عام 1999 من أن مستويات الـ VEGF الجريبية ترتبط ارتباطاً سلبياً مع مورفولوجيا الجنين (189).

كذلك لم ترتبط مستويات الليبتين المصلية أو الجريبية مع أي من نتائج الإخصاب داخل المختبر أو مع حدوث الحمل

وتوافقت نتائج دراستنا هذه مع نتائج دراسة Almog وزملائه عام 2011 (190) وAsimakopoulos وزملائه عام 2009 (191) وDorn وزملائه عام 2003 (173) والتي وجدت أن مستويات الليبتين في المصل أو السائل الجريبي لا ترتبط مع متغيرات نتيجة الإخصاب في المختبر أو مع معدل الحمل.

في حين تعارضت نتائجنا دراستنا مع دراسة Asimakopoulos وزملائه عام 2005 والذي وجد أن مستويات الليبتين في السائل الجريبي ترتبط عكساً مع نتيجة الحمل في دورات الـ IVF (184)، وتعارضت أيضاً مع Li وزملائه عام 2007 والذي وجد أن ارتفاع مستويات الليبتين في المصل والسائل الجريبي تترافق مع فشل عملية الإخصاب في المختبر (170).

يمكن أن يعود سبب هذا الاختلاف في النتائج إلى اختلاف حجم العينة، حيث أن دراسة Asimakopoulos وزملائه عام 2005 (184) تم إجراؤها على 17 مريضة فقط، في حين كان حجم العينة في دراستنا 80 مريضة، أيضاً قد يكون سبب الاختلاف هو أنه في دراستنا قمنا بفحص جميعة السائل الجريبي النظيف، بينما في دراسة Li وزملائه عام 2007 (170) تم الاعتماد على استخدام عينة من جريب واحد لتمثل باقي الجريبات ومستويات الليبتين في جريب واحد يمكن أن لا تعبر بدقة عن مستويات الليبتين في بقية الجريبات.

وبينت دراستنا عدم وجود اختلاف معتد به إحصائياً في مستويات الـ VEGF المصلية بين مجموعة الحالات التي حدثت فيها متلازمة OHSS وتلك التي لم تحدث فيها هذه المتلازمة لدى كل من مريضات الـ PCOS والشواهد

توافقت نتائجنا مع نتائج دراسات Gao وزملائه عام 2011 (129) والذي قام بقياس مستويات الـ VEGF المصلية بعد يومين من استرجاع الخلايا البيضية وMathur وزملائه عام 2002 (192) والذي قام بقياس مستويات الـ VEGF يوم استرجاع الخلايا

البيضية ويوم نقل الأجنة وبعد 5 و10 أيام من نقل الأجنة. ومع Chen وزملائه عام 2000 (193) والذي قاس مستويات الـ VEGF يوم إعطاء الـ hCG ويوم استرجاع الخلايا البيضية ويوم نقل الأجنة.

فتراكيز الـ VEGF الدورانية من يوم إعطاء الـ hCG حتى يوم نقل الجنين ليست واصماً جيداً للتنبؤ بحدوث الـ OHSS، ويمكن أن يفسر ذلك بأن الـ VEGF قد يكون له دور في حدوث الـ OHSS، ولكن ليس من الضروري أن يكون في المراحل المبكرة من هذه المتلازمة (193)، كما أنه غالباً ما يتأخر ظهور الـ OHSS الهام سريرياً حتى أسبوع على الأقل بعد نقل الجنين لذا فإن مستويات الـ VEGF المصلية قد لا تتبدل قبل هذه الفترة (129).

في حين تعارضت نتائجنا مع نتائج دراسة Agrawal وزملائه عام 1999 (194) والذي وجد ارتفاعاً في مستويات الـ VEGF المصلية لدى مريضات الـ OHSS، مقارنة مع الشواهد وقد يكون سبب الاختلاف أنه في دراسة Agrawal وزملائه كانت نسبة المريضاات التي تعاني من الـ PCO أعلى في مجموعة الـ OHSS مقارنة مع الـ Non-OHSS (85% مقابل 29.8%)، في حين في دراستنا كان عدد مريضات الـ PCOS متساو بين المجموعتين، وإن مستويات الـ VEGF تكون أعلى لدى مريضات الـ PCOS فقد يكون هذا هو السبب في ارتفاع مستويات الـ VEGF في مجموعة الـ OHSS في دراسة Agrawal.

وتبين بنتيجة دراستنا عدم وجود اختلاف معتد به إحصائياً في مستويات الـ VEGF الجريبية بين مجموعة الحالات التي حدثت فيها متلازمة OHSS وتلك التي لم تحدث فيها هذه المتلازمة لدى كل من مريضات الـ PCOS والشواهد

توافقت نتائجنا مع نتائج دراستي Chen وزملائه عام 2000 (193) وGeva وزملائه عام 1999 (195) واللذين لم يجدا اختلافاً معتداً به إحصائياً في مستويات الـ VEGF الجريبية بين مريضات الـ OHSS والشواهد. ويمكن أن يفسر ذلك بأن الـ VEGF قد يساهم في إحداث الـ OHSS ولكن ليس من الضروري أن يتورط في الأحداث المبكرة لهذه المتلازمة (193).

في حين تعارضت نتائجنا مع نتائج دراسة Gao وزملائه عام 2011 والذي وجد انخفاضاً في مستويات الـ VEGF لدى مريضات الـ OHSS مقارنة باللاتي لم تحصل لديهن هذه المتلازمة (129). أيضاً تعارضت نتائجنا مع دراسة Wang وزملائه عام 2002 (196) والذي وجد ارتفاعاً في مستويات الـ VEGF الجريبية لدى مريضات الـ OHSS مقارنة مع الشواهد.

وقد تكون هذه التناقضات، على الأقل في جزء منها، بسبب حقيقة أنه على الرغم من أن الـ VEGF قد يكون وسيطاً هاماً للـ OHSS فإنه لوحده غير كافٍ وقد تكون هنالك مشاركة لعوامل أخرى مثل الـ EG-VEGF. وهذا ما أظهره Gao وزملاؤه عام 2011 والذي أشار إلى أن تراكيز الـ EG-VEGF في الـ FF لها قيمة أكبر من تراكيز الـ VEGF في التنبؤ بحدوث الـ OHSS (129)، أيضاً فإن التوافر الحيوي لمستقبل الـ VEGF الذواب sFlt-1 قد يؤثر في حدوث هذه المتلازمة (124)، كذلك فإن كلاً من الوسائط الانتهاجية ونظام الرينين- أنجيوتنسين قد تشارك في إمراضية الـ OHSS (66). أيضاً اقترحت دراسات أخرى أن نظام الكالكرين الذي قد يكون ذو أهمية أكبر من الـ VEGF في التسبب بالنفوذية الوعائية في هذه المتلازمة (128).

5- الاستنتاج Conclusion

نخلص من دراستنا إلى مايلي:

- ترتفع مستويات الـ VEGF المصلية والجريبية لدى مريضات الـ PCOS مقارنة مع المجموعة الشاهدة، مما يشير إلى دور الـ VEGF في الفيزيولوجيا المرضية للـ PCOS.
- يمكن أن تستخدم مستويات الـ VEGF في السائل الجريبية كمشرع مقترح للتنبؤ بنجاح الحمل لدى النساء الخاضعات لعملية الإخصاب في المختبر.
- لا تختلف مستويات الـ VEGF في المصل والسائل الجريبية بين النساء المصابات وغير المصابات بالـ OHSS، وهكذا فإن الـ VEGF قد لا يلعب دوراً في المراحل المبكرة من الـ OHSS.
- لا تختلف مستويات الليبتين المصلية أو الجريبية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة، في حين ترتبط هذه المستويات ارتباطاً إيجابياً مع الـ BMI،

- لا تستطيع مستويات الليبتين المصلية أو الجريبية أن تتنبأ بنتيجة عملية الإخصاب في المختبر.

6- التوصيات والمقترحات Recommendations & Suggestions

- استخدام مستويات الـ VEGF المصلية كواصم داعم لتشخيص الإصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات، نظراً للعلاقة الوثيقة بين ارتفاع مستويات الـ VEGF المصلية والإصابة بهذه المتلازمة.
- استخدام مستويات الـ VEGF في السائل الجريبي كواصم تنبؤي لحدوث الحمل لدى المريضات الخاضعات لعملية الإخصاب في المختبر.
- يُقترح مستقبلاً دراسة فائدة الأدوية المضادة للـ VEGF في علاج متلازمة المبيض متعدد الكيسات وفي تحسين فرص الحمل لدى المريضات الخاضعات للـ IVF.

7- الملخص Summery

الخلفية: إن متلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) هي سبب رئيسي للعقم الناجم عن خلل الإباضة لدى النساء في سن الإنجاب. وعلى الرغم من أن إمرضية الـ PCOS ما تزال غير واضحة حتى الآن، إلا أن العديد من الدراسات أظهرت أن عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) والليبتين يلعبان دوراً في إمرضية هذه المتلازمة، وأن مستويات الـ VEGF والليبتين في المصل والسائل الجريبي قد يكون لها القدرة على التنبؤ بنتيجة عملية الإخصاب في المختبر (IVF). أيضاً أظهرت بعض الدراسات أن الـ VEGF يلعب دوراً في إمرضية متلازمة فرط تنبيه المبيض (OHSS) والتي هي مضاعفة رئيسية للـ IVF.

الهدف: هدفت هذه الدراسة إلى تعيين مستويات الـ VEGF والليبتين في المصل وكذلك في السائل الجريبي (FF) لدى مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) والمجموعة الشاهدة، وإلى تقييم فائدة مستويات الـ VEGF والليبتين في المصل والسائل الجريبي كمتنبئات لنتيجة الـ IVF لدى كلا المجموعتين، وإلى تعيين مستويات الـ VEGF في المصل والسائل الجريبي لدى النساء المصابات وغير المصابات بالـ OHSS.

تصميم الدراسة: دراسة حالة- شاهد.

المواد والطرق: شملت الدراسة 40 مريضة مصابة بمتلازمة المبيض متعدد الكيسات و40 من النساء الشواهد المماثلات لهن في الوزن والعمر. خضعن جميعهن لعملية الإخصاب في المختبر (IVF). جرى جمع عينات الدم والـ FF للأفراد جميعهن يوم استرجاع الخلايا البيضية. قيست مستويات الـ VEGF والليبتين في المصل والـ FF بطريقة مقياسة الممتز المناعي المرتبط بالإنزيم (ELISA).

النتائج: كانت مستويات الـ VEGF المصلية أعلى بشكل معتد به ($p=0.0001$) لدى مريضات الـ PCOS مقارنة مع المجموعة الشاهدة (159.45 ± 297.46 بكغ/مل، 113.06 ± 134.08 بكغ/مل، على الترتيب)، وكانت مستويات الـ VEGF في الـ FF أعلى بشكل معتد به ($p=0.007$) لدى مريضات الـ PCOS مقارنة مع المجموعة الشاهدة (820.86 ± 1358.92 بكغ/مل، 236.62 ± 987.58 بكغ/مل، على الترتيب). لم تختلف مستويات الليبتين المصلية بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (11.26 ± 23.95 نغ/مل، 11.75 ± 22.27 نغ/مل، على الترتيب، $p=0.514$)، كذلك لم تختلف مستويات الليبتين في السائل الجريبي بين مريضات الـ PCOS والمجموعة الشاهدة (12.12 ± 48.39 نغ/مل، 13.19 ± 43.27 نغ/مل، على الترتيب، $p=0.074$). ارتبطت مستويات الليبتين المصلية ارتباطاً إيجابياً مع الـ BMI لدى كل من مريضات الـ PCOS ($r=0.558$ ، $p=0.0001$) والمجموعة الشاهدة ($r=0.541$ ، $p=0.0001$). وارتبطت مستويات الليبتين في الـ FF ارتباطاً إيجابياً مع الـ BMI لدى كل من مريضات الـ PCOS ($r=0.467$ ، $p=0.002$) والمجموعة الشاهدة ($r=0.596$ ، $p=0.0001$). أما مستويات الـ VEGF في المصل أو الـ FF فلم ترتبط ارتباطاً معتداً به مع أي من نتائج الـ IVF ($p < 0.05$)، كما أن مستويات الـ VEGF المصلية لم تختلف بشكل ملحوظ بين النساء الحوامل وغير الحوامل لدى كل من مريضات الـ PCOS (139.11 ± 256.69 بكغ/مل، 114.6 ± 300.20 بكغ/مل، على الترتيب، $p=0.416$) والمجموعة الشاهدة (115.51 ± 107.98 بكغ/مل، 154.39 ± 111.09 بكغ/مل، على الترتيب، $p=0.271$)، بينما كانت مستويات الـ VEGF في الـ FF أعلى بشكل معتد به لدى النساء غير الحوامل مقارنة مع الحوامل لدى كل من مريضات الـ PCOS (771.79 ± 1936.78 بكغ/مل، 308.16 ± 812.04 بكغ/مل، على الترتيب، $p=0.0001$) والمجموعة الشاهدة (139.60 ± 1171.98 بكغ/مل، 139.60 ± 1171.98 بكغ/مل، على الترتيب، $p=0.0001$).

بـكـغ/مـل، 199.45 ± 822.45 بـكـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $p=0.0001$)، و كان لها قيمة تنبؤية معتد بها لحدوث الحمل في كلا المجموعتين ($p=0.0001$). لم ترتبط مستويات الليبتين في المصل و الـ FF ارتباطاً معتداً به مع أي من نتائج الـ IVF ($P < 0.05$). لم تختلف مستويات الليبتين المصلية بين النساء الحوامل وغير الحوامل لدى كل من مريضات الـ PCOS (27.11 ± 9.46 نـغ/مـل، 23.97 ± 13.06 نـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $P=0.474$) و المجموعة الشاهدة (20.15 ± 13.81 نـغ/مـل، 21.57 ± 8.08 نـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $P=0.743$)، و لم تختلف مستويات الليبتين في الـ FF بين النساء الحوامل وغير الحوامل لدى كل من مريضات الـ PCOS (50.88 ± 9.57 نـغ/مـل، 48.71 ± 12 نـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $P=0.606$) و المجموعة الشاهدة (39.62 ± 13.14 نـغ/مـل، 43.99 ± 11.47 نـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $P=0.344$). كم أن مستويات الـ VEGF المصلية لم تختلف بين النساء المصابات وغير المصابات بالـ OHSS لدى كل من مريضات الـ PCOS (332.61 ± 160.48 بـكـغ/مـل، 264.08 ± 155.05 بـكـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $p=0.183$) و المجموعة الشاهدة (130.45 ± 101.87 بـكـغ/مـل، 137.05 ± 123.77 بـكـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $p=0.857$)، و لم تختلف مستويات الـ VEGF في الـ FF بين النساء المصابات وغير المصابات بالـ OHSS لدى كل من مريضات الـ PCOS (1359.31 ± 664.21 بـكـغ/مـل، 1358.52 ± 970.53 بـكـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $p=0.998$) و المجموعة الشاهدة (956.21 ± 216.54 بـكـغ/مـل، 1013.25 ± 253.94 بـكـغ/مـل، عـلى التـرتـيب، $p=0.455$).

الاستنتاج: ترتفع مستويات الـ VEGF في المصل و الـ FF لدى مريضات الـ PCOS مقارنة مع المجموعة الشاهدة، وبالتالي قد يلعب الـ VEGF دوراً في إمرضية الـ PCOS. أيضاً يمكن أن تخدم مستويات الـ VEGF في الـ FF كواسمة تنبؤية موثوقة لحدوث الحمل لدى كل من مريضات الـ PCOS و المجموعة الشاهدة الخاضعات للـ IVF. لا تختلف مستويات الـ VEGF في المصل و الـ FF بين النساء المصابات وغير المصابات بالـ OHSS، وهكذا فإن الـ VEGF قد لا يلعب دوراً في المراحل المبكرة من الـ OHSS. لا تختلف مستويات الليبتين في المصل و الـ FF بين مريضات الـ PCOS و المجموعة الشاهدة، في حين ترتبط هذه المستويات ارتباطاً إيجابياً مع الـ BMI. لهذا فالتبدلات في مستويات الليبتين ترتبط بشكل أساسي بوزن الجسم وليس لها علاقة بمتلازمة

المبيض متعدد الكيسات. أيضاً لا يمكن استخدام مستويات الليبتين في المصل و الـ FF للتنبؤ بنتيجة الإخصاب في المختبر (IVF).

الكلمات المفتاح: VEGF، ليبتين، متلازمة المبيض متعدد الكيسات، سائل جريبي، الإخصاب في المختبر، متلازمة فرط تنبيه المبيض.

Summery

Background: Polycystic ovarian syndrome (PCOS) is a major cause of dysovulatory infertility in women of reproductive age. Although the pathogenesis of PCOS remains unclear till now, several studies reported that vascular endothelial growth factor (VEGF) and leptin play a role in the pathogenesis of this syndrome, but the VEGF and leptin levels in serum and follicular fluid may have the ability to predict in vitro fertilization (IVF) outcome. Also some studies reported that VEGF plays a role in Ovarian Hyper stimulation Syndrome (OHSS) pathogenesis which is a main complication of IVF.

The Aim: This study aimed to determine the levels of VEGF and leptin in the serum, as well as, in the follicular fluid (FF) of polycystic ovary syndrome (PCOS) patients and control group, and to evaluate the benefit of serum and follicular fluid levels of VEGF and leptin as predictors for IVF outcome in both groups, and to determine the levels of VEGF in serum and FF of OHSS and non-OHSS women.

Design: Case- control study.

Materials and methods: Forty patients with polycystic ovary syndrome, and 40 age and weight matched control women were included in this study. All of them enrolled in the in vitro fertilization (IVF) program. Blood and FF samples were collected from all subjects on the day of oocyte retrieval. VEGF and Leptin levels were measured in serum and FF using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).

Results: Serum VEGF levels were significantly higher ($p=0.0001$) in PCOS patients compared to control group (297.46 ± 159.45 pg/ml, 134.08 ± 113.06 pg/ml, respectively), and FF VEGF levels were significantly higher ($p=0.007$) in PCOS patients compared to control group (1358.92 ± 820.86 pg/ml, 987.58 ± 236.62 pg/ml respectively). Serum leptin levels did not differ between PCOS patients and control group (23.95 ± 11.26 ng/ml, 22.27 ± 11.75 ng/ml, respectively, $p=0.514$), also Follicular Fluid leptin levels did not differ between PCOS patients and control group (48.39 ± 12.12 ng/ml, 43.27 ± 13.19 ng/ml, respectively, $p=0.074$). Serum leptin levels were positively correlated with BMI in both PCOS patients ($r=0.558$, $p=0.0001$) and control group ($r=0.541$, $p=0.0001$), and FF leptin levels were positively correlated with BMI in both PCOS patients ($r=0.467$, $p=0.002$) and control group ($r=0.596$, $p=0.0001$). Both serum and FF VEGF levels were not significantly correlated to any of the IVF outcomes ($P>0.05$). Serum VEGF levels were not significantly different

($p=0.416$) between pregnant and non-pregnant women in both PCOS patient (256.69 ± 139.11 pg/ml, 300.20 ± 114.6 pg/ml, respectively) and control group (107.98 ± 115.51 pg/ml, 154.39 ± 111.09 pg/ml, respectively, $p=0.271$), whereas FF VEGF levels were significantly higher in non-pregnant compared to pregnant women in both PCOS patients (1936.78 ± 771.79 pg/ml, 812.04 ± 308.16 pg/ml, respectively, $p=0.0001$) and control group (1171.98 ± 139.60 pg/ml, respectively, $p=0.0001$), and it had a significant predictive value of pregnancy in both groups ($p=0.0001$). Both serum and FF leptin levels were not significantly correlated ($P>0.05$) to any of the IVF outcomes. Serum leptin levels did not differ between pregnant and non-pregnant women in both PCOS patients (27.11 ± 9.46 ng/ml, 23.97 ± 13.06 ng/ml, respectively, $p=0.474$) and control group (20.15 ± 13.81 ng/ml, 21.57 ± 8.08 ng/ml, respectively, $p=0.743$), and FF leptin levels did not differ between pregnant and non-pregnant women in both PCOS patients (50.88 ± 9.57 ng/ml, 48.71 ± 12 ng/ml, respectively, $p=0.606$) and control group (39.62 ± 13.14 ng/ml, 43.99 ± 11.47 ng/ml, respectively, $p=0.344$). Serum VEGF levels did not differ between OHSS and non-OHSS groups in both PCOS patients (332.61 ± 160.48 pg/ml, 264.08 ± 155.05 pg/ml, respectively, $p=0.183$) and control group (130.45 ± 101.87 pg/ml, 137.05 ± 123.77 pg/ml, respectively, $p=0.857$), and FF VEGF levels did not differ between OHSS and non-OHSS women in both PCOS (1359.31 ± 664.21 pg/ml, 1358.52 ± 970.53 pg/ml, respectively, $p=0.998$) and control group (956.21 ± 216.54 pg/ml, 1013.25 ± 253.94 pg/ml, respectively, $p=0.455$).

Conclusion: Serum and FF VEGF levels elevate in PCOS patients compared to control group, so VEGF may play a role in the pathogenesis of PCOS. Also FF VEGF levels may serve as a reliable predictive marker for pregnancy in both PCOS patients and control group undergoing IVF. Serum and FF VEGF levels don't differ between OHSS and non-OHSS women, so VEGF may not play a role in the early stages of OHSS. Serum and FF leptin levels don't differ between PCOS patients and control group, whereas these levels are positively correlated with BMI. Thus, changes in leptin levels are mainly related to body weight and have no correlation to polycystic ovary syndrome. Also, serum and FF leptin levels couldn't be used as predictors for in vitro fertilization (IVF) outcome.

Key Words: VEGF, Leptin, Polycystic ovary syndrome, Follicular fluid, In vitro fertilization, Ovarian Hyperstimulation Syndrome.

8- الملحق Appendix

- استمارة البحث

جامعة دمشق

كلية الصيدلة

بحث أعد لنيل درجة الماجستير بعنوان

دراسة مستويات عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين عند مريضات

متلازمة المبيض متعدد الكيسات

إعداد الصيدلانية: ماري قدسي

مشاركة: أ.د. مروان الحلبي

إشراف: أ.د. فايزة القبيلي

التاريخ

الاسم

الرقم

العنوان

المجموعة

رقم الهاتف

الوزن BMI الطول

العمر

عدد الحمول الأحياء الاسقاطات الأموات

الفحوص الهرمونية

	FSH
	LH
	TSH
	PRL
	E ₂

معايير التشخيص

نتيجة التصوير بالأموح فوق الصوتية

الشعرانية: نعم لا الدرجة

العد: نعم لا

الطمث: تباعد انقطاع

أعراض أخرى

محاولة الـ IVF

البروتوكول المستخدم لتحريض الإباضة

فموي المدة

.....

تحت الجلد المدة

عضلي المدة

نتائج الـ IVF

عدد الجريبات	
عدد الخلايا البيضية المسترجعة	
عدد الخلايا البيضية الناضجة M2	
عدد الخلايا البيضية المخصبة	
عدد الأجنة	
معدل النضج	
معدل الإخصاب	
معدل التشطر	
الحمل	

لا

نعم

حدوث الـ OHSS

تركيز الليبتين (نغ/مل)

المصل

السائل الجريبي

تركيز الـ VEGF (بكغ/مل)

المصل

السائل الجريبي

الموافقة المستنيرة

أنت مدعو للمشاركة في دراسة بعنوان

"دراسة مستويات عامل النمو البطاني الوعائي والليبتين عند مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات"

يتم إجراء هذه الدراسة من قبل فريق من الباحثين يضم:

طالبة الدراسات العليا الصيدلانية ماري قدسي / كلية الصيدلة- جامعة دمشق

الأستاذ المشرف: أ.د. فايزة القبيلي / كلية الصيدلة- جامعة دمشق

الأستاذ المشارك: أ.د. مروان الحلبي / كلية الطب- جامعة دمشق

ملخص عن موضوع البحث

تتضمن هذه الدراسة البحث في دور عامل النمو البطاني الوعائي (VEGF) والليبتين في إمرضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) التي تعد السبب رئيسي للعقم الناجم عن خلل الإباضة لدى النساء في سن الإنجاب، حيث أن إمرضية الـ PCOS غير واضحة تماماً حتى الآن، وتشمل هذه الدراسة أيضاً التحري عن دور هذين الواصمين في التنبؤ بنجاح عملية الإخصاب في المختبر (IVF).

أهداف الدراسة

هدفت هذه الدراسة إلى تعيين مستويات الـ VEGF والليبتين في المصل وكذلك في السائل الجريبي (FF) لدى مريضات متلازمة المبيض متعدد الكيسات (PCOS) والمجموعة الشاهدة، وإلى تقييم فائدة مستويات الـ VEGF والليبتين في المصل والسائل الجريبي كمتنبئات لنتيجة الـ IVF لدى كلا المجموعتين، وإلى تعيين مستويات الـ VEGF في المصل والسائل الجريبي لدى النساء المصابات وغير المصابات بمتلازمة فرط تنبيه المبيض (OHSS).

المنافع المتوقعة

- ✓ إيجاد واصمات جديدة تساهم في إمرضية متلازمة المبيض متعدد الكيسات والتي قد تكون أهدافاً لطرق علاجية جديدة في المستقبل.
- ✓ إيجاد واصمات تشخيصية جديدة لمتلازمة المبيض متعدد الكيسات.
- ✓ إيجاد واصمات تساعد في التنبؤ بنتائج عملية الإخصاب في المختبر.

المخاطر/ المحاذير الممكنة

لا يوجد أي خطر على المريضة حيث سيتم فقط:

- الحصول على عينة دم تعادل المقدار المسحوب في الفحوص الروتينية الدورية.
- أخذ عينة السائل الجريبي المرتشفة أثناء عملية الإخصاب في المختبر.

إن موافقتك على الاشتراك في هذه الدراسة تتطلب منك القيام طوعاً بما يلي:

- ✓ الخضوع لبزل عينة من الدم تعادل المقدار المسحوب في الفحوص الروتينية.
- ✓ الموافقة على أخذ عينة السائل الجريبي المرتشفة أثناء عملية الإخصاب في المختبر.

المشاركة الطوعية: إن اشتراكك في هذه الدراسة طوعي ولك الحق بالانسحاب متى شئت ولن يؤثر ذلك سلباً على نوعية الرعاية الصحية التي ستتلقاها.

إذا كان لديك استفسارات أو أسئلة في أي مرحلة من مراحل الدراسة والمتابعة، يمكنك الاتصال بالطالبة ماري قدسي على الرقم

قسم يملأ من قبل المريض

قمت بقراءة كامل المعلومات أعلاه وأنا موافق على المشاركة في الدراسة وأؤكد على ذلك بتوقيعي أدناه:

اسم المشارك: التوقيع: تاريخ /...../ 2015

اسم الباحث: التوقيع: تاريخ /...../ 2015

الانسحاب من الدراسة

طلب المريض الانسحاب من الدراسة:

اسم المشارك: التوقيع: تاريخ /...../ 2015

References 9-المراجع

- 1- Teede H, Deeks A and Moran L. Polycystic ovary syndrome: a complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Med.* 2010;8:41.
- 2- Livadas S and Diamanti-Kandarakis E. Polycystic ovary syndrome: Definitions, phenotypes and diagnostic approach. *Front Horm Res.* 2013;40:1-21.
- 3- March WA, Moore VM, Willson KJ, Philips DI, Norman RJ and Davies MJ. The prevalence of polycystic ovary syndrome in a community sample assessed under contrasting diagnostic criteria. *Hum Reprod.* 2010;25(2):544-51.
- 4- Stein IF and Leventhal ML. Amenorrhea associated with bilateral polycystic ovaries. *Am J Obstet Gynecol.* 1935;29(1):181-91.
- 5- Goodarzi MO, Dumesic DA, Chazenbalk G and Azziz R. Polycystic ovary syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *Nat Rev Endocrinol.* 2011;7(4):219-31.
- 6- Bankowski B. Anatomy of the female pelvis. In: "The Johns Hopkins manual of gynecology and obstetrics". Ed: Bankowski B, Amy E, Nicholas C, Harlod E, Edward E. Pub: Lippincott and Wilkins. 2002; 108-114.
- 7- Speroff L, Glass H and Kase N. The ovary: embryology and development. In: "Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility (6th Ed.)". Ed: Speroff L, Glass H, Kase N. Pub: Lippincot Williams and Wilkins, 1999:46-51.

- 8- Speroff L, Glass H and Kase N. Regulation of menstrual cycle. In:" Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility (6th Ed.)". Ed: Speroff L, Glass H, Kase N. Pub: Lippincot Williams and Wilkins. 1999:83-101
- 9- Schorge J, Schaffer J, Halvorson L, Hoffman B, Bradshaw K and Cunningham F. Polycystic ovarian syndrome and hyperandrogenism. In:" Williams Gynecology". Ed: Schorge J, Schaffer J, Halvorson L, Hoffman B, Bradshaw K. Pub: McGraw-Hill, Inc. 2008:779-815.
- 10- Aitken RJ, Baker MA, Doncel GF, Matzuk MM, Mauck CK and Harper MJK. As the world grows: Contraception in the 21st century. *J Clin Invest.* 2008;118(4):1330-43.
- 11- Taylor AE, McCourt B, Martin KA, Anderson EJ, Adams JM, Schoenfeld D and Hall JE. Determinants of abnormal gonadotropin secretion in clinically defined women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82(7):2248-56.
- 12- Blank SK, McCartney CR and Marshall JC. The origins and sequelae of abnormal neuroendocrine function in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2006;12(4):351-61.
- 13- Hayes FJ, Taylor AE, Martin K and Hall JE. Use of a gonadotropin-releasing hormone antagonist as a physiologic probe in polycystic ovary syndrome: Assessment of neuroendocrine and androgen dynamics. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(7):2343-9.

- 14-Franks S, Mason H and Willis D. Follicular dynamics in the polycystic ovary syndrome. *Mol Cell Endocrinol.* 2000;163(1-2):49-52.
- 15-Franks S, Stark J and Hardy K. Follicle dynamics and anovulation in polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2008;14(4):367-78.
- 16-Nisenblat V and Norman RJ. Androgens and polycystic ovary syndrome. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2009;16(3):224-31.
- 17-Magoffin DA. Ovarian theca cell. *Int J Biochem Cell Biol.* 2005;37(7):1344-9.
- 18-Nelson VL, Legro RS, Strauss JF and McAllister JM. Augmented androgen production is a stable steroidogenic phenotype of propagated theca cells from polycystic ovaries. *Mol Endocrinol.* 1999;13(6):946-57.
- 19-Wickenheisser JK, Quinn PG, Nelson VL, Legro RS, Strauss JF and McAllister JM. Differential activity of the cytochrome P450 17alpha-hydroxylase and steroidogenic acute regulatory protein gene promoters in normal and polycystic ovary syndrome theca cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85(6):2304-11.
- 20-Nelson VL, Qin KN, Rosenfield RL, Wood JR, Penning TM, Legro RS, Strauss JF and McAllister JM. The biochemical basis for increased testosterone production in theca cells propagated from patients with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(12):5925-33.
- 21-Yildiz BO and Azziz R. The adrenal and polycystic ovary syndrome. *Rev Endocr Metab Disord.* 2007;8(4):331-42.

- 22- Diamanti-Kandarakis E, Argyrakopoulou G, Economou F, Kandaraki E and Koutsilieris M. Defects in insulin signaling pathways in ovarian steroidogenesis and other tissues in polycystic ovary syndrome (PCOS). *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;109(3-5):242-6.
- 23- Yki-Järvinen H, Mäkimattila S, Utriainen T and Rutanen EM. Portal insulin concentrations rather than insulin sensitivity regulate serum sex hormone-binding globulin and insulin-like growth factor binding protein 1 in vivo. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995;80(11):3227-32.
- 24- Moghetti P, Castello R, Negri C, Tosi F, Spiazzi GG, Brun E, Balducci R, Toscano V and Muggeo M. Insuline infusion amplifies 17 alpha-hydroxycorticosteroid intermediates response to adrenocorticotropin in hyperandrogenic women: apparent relative impairment of 17,20-lyase activity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(3):881-6.
- 25- Greiner M, Paredes A, Araya V and Lara HE. Role of stress and sympathetic innervation in the development of polycystic ovary syndrome. *Endocrine.*2005;28(3):319-24.
- 26- Sverrisdóttir YB, Mogren T, Kataoka J, Janson PO and Stener-victorin E. Is polycystic overy syndrome associated with high sympathetic nerve activity and size at birth? *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;294(3):E576-81
- 27- Giovanni Artini P, Monteleone P, Parisen Toldin MR, Matteucci C, Ruggiero M, Cela V and Genazzani AR.

- Growth factors and folliculogenesis in polycystic ovary patients. *Expert Rev Endocrinol Metab.* 2007;2(2):215-23.
- 28- Qiao J and Feng HL. Extra- and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: Impact on oocyte maturation and embryo developmental competence. *Hum Reprod Update.* 2011;17(1):17-33.
- 29- Norman RJ, Milner CR, Groome NP and Robertson DM. Circulating follistatin concentrations are higher and activin concentrations are lower in polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2001;16(4):668-72.
- 30- Lockwood GM, Muttukrishna S and Ledger WL. Inhibins and activins in human ovulation, conception and pregnancy. *Hum Reprod Update.* 1998;4(3):284-95.
- 31- Agrawal R, Conway G, Sladkevicius P, Tan SL, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S and Jacobs H. Serum vascular endothelial growth factor and Doppler blood flow velocities in in vitro fertilization: relevance to ovarian hyperstimulation syndrome and polycystic ovaries. *Fertil Steril.* 1998;70(4):651-8.
- 32- Gallinelli A, Ciaccio I, Giannella L, Salvatori M, Marsella T and Volpe A. Correlations between concentrations of interleukin-12 and interleukin-13 and lymphocyte subsets in the follicular fluid of women with and without polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2003;79(6):1365-72.
- 33- Amato G, Conte M, Mazziotti G, Lalli E, Vitolo G, Tucker AT, Bellastella A, Carella C and Izzo A. Serum and follicular fluid cytokines in polycystic ovary syndrome

- during stimulated cycles. *Obstet Gynecol.* 2003; 101(6):1177-82.
- 34- Pasquali R, Gambineri A and Pagotto U. The impact of obesity on reproduction in women with polycystic ovary syndrome. *BJOG.* 2006;113(10):1148-59.
- 35- Brassard M, AinMelk Y and Baillargeon JP. Basic Infertility Including Polycystic Ovary Syndrome. *Med Clin North Am.* 2008;92(5):1163-92.
- 36- Sirmans SM and Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol.* 2013;6:1-13.
- 37- Dunaif a. Insulin resistance and the polycystic ovary syndrome: mechanism and implications for pathogenesis. *Endocr Rev.* 1997;18(6):774-800.
- 38- Legro RS, Kunesman AR, Dodson WC and Dunaif A. Prevalence and predictors of risk for type 2 diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in polycystic ovary syndrome: a prospective, controlled study in 254 affected women. *J Clin Endocrinol Metab.*1999;84(1):165-9.
- 39- Kim JJ and Choi YM. Dyslipidemia in women with polycystic ovary syndrome. *Obstet Gynecol Sci.* 2013;56(3):137-42
- 40- Ehrmann DA. Polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med.* 2005;352(12):1223-36.
- 41- Talbott E, Clerici A, Berga SL, Kuller L, Guzick D, Detre K, Daniels T and Engberg RA. Adverse lipid and coronary heart disease risk profiles in young women with polycystic

- ovary syndrome: results of a case-control study. *J Clin Epidemiol.* 1998;51(5):415-22.
- 42- Bentley-Lewis R, Koruda K and Seely Ew. The metabolic syndrome in women. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2007;3(10):696-704.
- 43- Dokras A, Bochner M, Hollinrake E, Markham S, Vanvoorhis B and Jagasia DH. Screening women with polycystic ovary syndrome for metabolic syndrome. *Obstet Gynecol.* 2005;106(1):131-7.
- 44- Fogel RB, Malhotra A, Pillar G, Pittman SD, Dunaif A and White DP. Increased prevalence of obstructive sleep apnea syndrome in obese women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(3):1175-80.
- 45- Essah PA, Cheang KI and Nestler JE. The pathophysiology of miscarriage in women with polycystic ovary syndrome. Review and proposed hypothesis of mechanisms involved. *Hormones (Athens).* 2004;3(4):221-7.
- 46- Schieve L a., Tatham L, Peterson HB, Toner J and Jeng G. Spontaneous abortion among pregnancies conceived using assisted reproductive technology in the United States. *Obstet Gynecol.* 2003;101(5):959-67.
- 47- Boomsma CM, Eijkemans MJ, Hughes EG, Visser GH, Fauser BC, Macklon NS. A meta-analysis of pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod Update.* 2006;12(6):673-83.
- 48- Zawadzki JK, Dunaif A. Diagnostic criteria for polycystic ovary syndrome: Towards a rational approach. In:"

- Polycystic Ovary Syndrome". Ed:Dunaif A, Givens JR, Haseltine F. Pub: Blackwell Scientific;1992: 377-84
- 49- Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2004;81(1):19-25.
- 50- Lujan ME, Chizen DR and Pierson RA. Diagnostic Criteria for Polycystic Ovary Syndrome: Pitfalls and Controversies. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008;30(8):671-9.
- 51- Norman RJ, Dewailly D, Legro RS and Hickey TE. Polycystic ovary syndrome. *Lancet*. 2007;370(9588):685-97
- 52- Balen AH, Laven JSE, Tan SL and Dewailly D. Ultrasound assessment of the polycystic ovary: International consensus definitions. *Hum Reprod Update*. 2003;9(6):505-14.
- 53- Chang RJ. A practical approach to the diagnosis of polycystic ovary syndrome. *Am J Obstet Gynecol*. 2004;191(3):713-7.
- 54- Sheehan MT. Polycystic ovarian syndrome: diagnosis and management. *Clin Med Res*. 2004;2(1):13-27.
- 55- Norman RJ, Noakes M, Wu R, Davies MJ, Moran L and Wang JX. Improving reproductive performance in overweight/obese women with effective weight management. *Hum Reprod Update*. 2004;10(3):267-80.
- 56- Vause TD, Cheung AP, Sierra S, Claman P, Graham J, Guillemin JA, Lapensée L, Steward S and Wong BC.

- Ovulation induction in polycystic ovary syndrome. *J Obstet Gynaecol Can.* 2010;32(5):495-502.
- 57-Neveu N, Granger L, St-Michel P and Lavoie HB. Comparison of clomiphene citrate, metformin, or the combination of both for first-line ovulation induction and achievement of pregnancy in 154 women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2007;87(1):113-20.
- 58-Moll E, Korevaar JC, Bossuyt PMM and Van Der Veen F. Does adding metformin to clomifene citrate lead to higher pregnancy rates in a subset of women with polycystic ovary syndrome? *Hum Reprod.* 2008;23(8):1830-4.
- 59-Bayar U, Basaran M, Kiran S, Coskun A and Gezer S. Use of an aromatase inhibitor in patients with polycystic ovary syndrome: a prospective randomized trial. *Fertil Steril.* 2006;86(5):1447-51.
- 60-Fraser I, Illingworth P, McGee T, Pesce A, Arndt B and Horvath J. Report of the independent review of assisted reproductive technologies. Assisted reproductive technologies. 2006;28-37.
- 61-Health Quality Ontario. In vitro fertilization and multiple pregnancies: an evidence-based analysis. *Ont Health Technol Assess Ser.* 2006;6(18):1-63.
- 62-Hershlag A, Peterson C. Infertility. In: "Novak's Gynecology". Ed: Berek J. Pub: Lippincott Williams & Wilkins, 2000: 339 - 427.
- 63-Homan G, Brown S, Moran J, Homan S and Kerin J. Human chorionic gonadotropin as a predictor of outcome

- in assisted reproductive technology pregnancies. *Fertil Steril*. 2000;73(2):270-4.
- 64-Mathur RS, Akande AV, Keay SD, Hunt LP and Jenkins JM. Distinction between early and late ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril*. 2000;73(5):901-7.
- 65-Fiedler K and Ezcurra D. Predicting and preventing ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): the need for individualized not standardized treatment. *Reprod Biol Endocrinol [En ligne]*. *BioMed Central Ltd*; 2012;10(1):32.
- 66-Nastri CO and Ferriani RA, Rocha IA and Martins WP. Ovarian hyperstimulation syndrome: Pathophysiology and prevention. *J Assist Reprod Genet*. 2010;27(2-3):121-8.
- 67-Levin ER, Rosen GF, Cassidenti DL, Yee B, Meldrum D, Wisot A and Pedram A. Role of vascular endothelial cell growth factor in Ovarian Hyperstimulation Syndrome. *J Clin Invest*. 1998;102(11):1978-85.
- 68-Lee T, Liu C, Huang C, Wu Y, Shih Y, Ho H, Yang YS and Lee MS. Serum anti-Mullerian hormone and estradiol levels as Serum anti-Müllerian predictors of ovarian hyperstimulation syndrome in assisted reproduction technology cycles. *Hum Reprod*. 2008;23(1):160-7.
- 69-Humaidan P, Quartarolo J and Papanikolaou EG. Preventing ovarian hyperstimulation syndrome: guidance for the clinician. *Fertil Steril*. 2010;94(2):389-400.
- 70-Delvinge A and Rozenberg S. Epidemiology and prevention of ovarian hyperstimulation syndrome (OHSS): A review. *Hum Reprod Update*. 2002;8(6):559-77.

- 71- Papanikolaou EG, Pozzobon C, Kolibianakis EM, Camus M, Tournaye H, Fatemi HM, Van Steirteghem A and Devroey P. Incidence and prediction of ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing gonadotropin-releasing hormone antagonist in vitro fertilization cycles. *Fertil Steril*. 2006;85(1):112-20.
- 72- Cha KY, Han SY, Chung HM, Choi DH, Lim JM, Lee WS, Ko JJ and Yoon TK. Pregnancies and deliveries after in vitro maturation culture followed by in vitro fertilization and embryo transfer without stimulation in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2000;73(5): 978-83.
- 73- Al-Shawaf T, Zosmer a, Hussain S, Tozer a, Panay N, Wilson C, Lower AM and Grudzinskas JG. Prevention of severe ovarian hyperstimulation syndrome in IVF with or without ICSI and embryo transfer: a modified « coasting » strategy based on ultrasound for identification of high-risk patients. *Hum Reprod*. 2001;16(1):24-30.
- 74- Clementini E, Palka C, Iezzi I, Stuppia L, Guanciali-Franchi P and Tiboni GM. Prevalence of chromosomal abnormalities in 2078 infertile couples referred for assisted reproductive techniques. *Hum Reprod*. 2005;20(2):437-42.
- 75- Strandell A, Thorburn J and Hamberger L. Risk factors for ectopic pregnancy in assisted reproduction. *Fertil Steril*. 1999;71(2):282-6.
- 76- Whittemore AS, Harris R and Itnyre J. Characteristics relating to ovarian cancer risk: collaborative analysis of 12

- US case-control studies. II. Invasive epithelial ovarian cancers in white women. Collaborative Ovarian Cancer Group. *Am J Epidemiol.* 1992;136(10):1184-203.
- 77- Ferrara N and Davis-Smyth T. The Biology of Vascular Endothelial Growth Factor. *Endocr Rev.* 1997;18(1):4-25.
- 78- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and age-related macular degeneration: from basic science to therapy. *Nat Publ Gr.* 2010;16(10):1107-11.
- 79- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor: Basic science and clinical progress. *Endocr Rev.* 2004;25(4): 581-611.
- 80- Vincenti V, Cassano C, Rocchi M and Persico G. Assignment of the vascular endothelial growth factor gene to human chromosome 6p21.3. *Circulation.* 1996;93(8): 1493-5.
- 81- Houck K a, Ferrara N, Winer J, Cachianes G, Li B and Leung DW. The vascular endothelial growth factor family: identification of a fourth molecular species and characterization of alternative splicing of RNA. *Mol Endocrinol.* 1991;5(12):1806-14.
- 82- Tischer E, Mitchell R, Hartman T, Silva M, Gospodarowicz D, Fiddes JC and Abraham JA. The Human Gene for Vascular Endothelial Growth-Factor - Multiple Protein Forms Are Encoded Through Alternative Exon Splicing. *J Biol Chem.* 1991;266(18):11947-54.
- 83- Dor Y, Porat R and Keshet E. Vascular endothelial growth factor and vascular adjustments to perturbations in

- oxygen homeostasis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2001; 280(6):C1367-74.
- 84- Semenza GL. Angiogenesis in ischemic and neoplastic disorders. *Annu Rev Med.* 2003;54:17-28.
- 85- Liu Y, Cox SR, Morita T and Kourembanas S. Hypoxia regulates vascular endothelial growth factor gene expression in endothelial cells. Identification of a 5' enhancer. *Circ Res.*1995;77(3):638-43.
- 86- Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG and Werner S. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes: Implications for normal and impaired wound healing. *J Biol Chem.* 1995;270(21):12607-13.
- 87- Fukuda R, Hirota K, Fan F, Jung Y Do, Ellis LM and Semenza GL. Insulin-like growth factor 1 induces hypoxia-inducible factor 1-mediated vascular endothelial growth factor expression, which is dependent on MAP kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling in colon cancer cells. *J Biol Chem.* 2002;277(41):38205-11.
- 88- Pertovaara L, Kaipainen a, Mustonen T, Orpana a, Ferrara N, Saksela O and Alitalo K. Vascular endothelial growth factor is induced in response to transforming growth factor-beta in fibroblastic and epithelial cells. *J Biol Chem.* 1994;269(9):6271-4.
- 89- Tzeng HE, Tsai CH, Chang ZL, Su CM, Wang SW, Hwang WL and Tang CH. Interleukin-6 induces vascular endothelial growth factor expression and promotes angiogenesis through apoptosis signal-regulating kinase 1

- in human osteosarcoma. *Biochem Pharmacol.* 2013; 85(4):531-40.
- 90-Hatakeyama M, Imaizumi T, Sakaki H, Yoshida H, Tanaka H, Kimura H, Fukuda I and Satoh K. Interleukin-1 induces the expression of vascular endothelial growth factor in human pericardial mesothelial cells. *Heart Vessels.* 2007;22(2):123-7.
- 91-Hoffmann S, Hofbauer LC, Scharrenbach V, Wunderlich A, Hassan I, Lingelbach S and Zielke A. Thyrotropin (TSH)-induced production of vascular endothelial growth factor in thyroid cancer cells in vitro: Evaluation of TSH signal transduction and of angiogenesis-stimulating growth factors. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(12): 6139-45.
- 92-Shifren JL, Mesiano S, Taylor RN, Ferrara N and Jaffe RB. Corticotropin regulates vascular endothelial growth factor expression in human fetal adrenal cortical cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(4):1342-7.
- 93-Gutman G, Barak V, Maslovitz S, Amit A, Lessing JB and Geva E. Regulation of vascular endothelial growth factor-A and its soluble receptor sFlt-1 by luteinizing hormone in vivo: implication for ovarian follicle angiogenesis. *Fertil Steril.* 2008;89(4):922-6.
- 94-Christenson LK and Stouffer RL. Follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone/chorionic gonadotropin stimulation of vascular endothelial growth factor production by macaque granulosa cells from pre- and

- periovulatory follicles. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997; 82(7):2135-42.
- 95- Mueller MD, Vigne JL, Minchenko a, Lebovic DI, Leitman DC and Taylor RN. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) gene transcription by estrogen receptors alpha and beta. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(20):10972-7.
- 96- Mueller MD, Vigne JL, Pritts E a., Chao V, Dreher E and Taylor RN. Progestins activate vascular endothelial growth factor gene transcription in endometrial adenocarcinoma cells. *Fertil Steril.* 2003;79(2):386-92.
- 97- Okada F, Rak JW, Croix BS, Lieubeau B, Kaya M, Roncari L, Shirasawa S, Sasazuki T and Kerbel RS. Impact of oncogenes in tumor angiogenesis: mutant K-ras up-regulation of vascular endothelial growth factor/vascular permeability factor is necessary, but not sufficient for tumorigenicity of human colorectal carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(7):3609-14.
- 98- Terman BI, Dougher-Vermazen M, Carrion ME, Dimitrov D, Armellino DC, Gospodarowicz D and Böhlen P. Identification of the KDR tyrosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992;187(3):1579-86.
- 99- de Vries C, Escobedo JA, Ueno H, Houck K, Ferrara N and Williams LT. The fms-like tyrosine kinase, a receptor for vascular endothelial growth factor. *Science.* 1992; 255(5047):989-91.

- 100- Soker S, Takashima S, Miao HQ, Neufeld G and Klagsbrun M. Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell*. 1998;92(6): 735-45.
- 101- Yuan L, Moyon D, Pardanaud L, Bréant C, Karkkainen MJ, Alitalo K and Eichmann A. Abnormal lymphatic vessel development in neuropilin 2 mutant mice. *Development*. 2002;129(20):4797-806.
- 102- Ellis LM and Hicklin DJ. VEGF-targeted therapy: mechanisms of anti-tumour activity. *Nat Rev Cancer*. 2008;8(8):579-91
- 103- Geva E and Jaffe RB. Role of vascular endothelial growth factor in ovarian physiology and pathology. *Fertil Steril*. 2000;74(3):429-38.
- 104- Mayr-wohlfart U, Waltenberger J, Hausser H, Kessler S, Günther KP, Dehio C, Puhl W and Brenner RE. Vascular endothelial growth factor stimulates chemotactic migration of primary human osteoblasts. *Bone*. 2002;30(3):472-7.
- 105- Engsig MT, Chen QJ, Vu TH, Pedersen a C, Therkidsen B, Lund LR, Henriksen K, Lenhard T, Foged NT, Werb Z and Delaissé JM. Matrix metalloproteinase 9 and vascular endothelial growth factor are essential for osteoclast recruitment into developing long bones. *J Cell Biol*. 2000;151(4):879-89.
- 106- Lammert E, Gu G, McLaughlin M, Brown D, Brekken R, Murtaugh LC, Gerber HP, Ferrara N and Melton DA.

- Role of VEGF-A in vascularization of pancreatic islets. *Curr Biol.* 2003;13(12):1070-4.
- 107- Douglas NC, Nakhuda GS, Sauer MV and Zimmermann RC. Angiogenesis and Ovarian Function. *J Fertil Reprod.* 2005;13(4):7-15.
- 108- Artini PG, Monti M, Cristello F, Matteucci C, Bruno S, Valentino V and Genazzani AR. Vascular endothelial growth factor in females of reproductive age. *Gynecol Endocrinol.* 2003;17(6):477-92.
- 109- Ravindranath N, Little-Ihrig L, Phillips HS, Ferrara N and Zeleznik AJ. Vascular endothelial growth factor messenger ribonucleic acid expression in the primate ovary. *Endocrinology.* 1992;131(1):254-60.
- 110- Laitinen M, Ristimäki A, Honkasalo M, Narko K, Paavonen K and Ritvos O. Differential hormonal regulation of vascular endothelial growth factors VEGF, VEGF-B, and VEGF-C messenger ribonucleic acid levels in cultured human granulosa-luteal cells. *Endocrinology.* 1997;138(11):4748-56.
- 111- Gerber H-P and Ferrara N. The role of VEGF in normal and neoplastic hematopoiesis. *J Mol Med.* 2003;81(1):20-31.
- 112- Smolich BD, Yuen H a., West K a., Giles FJ, Albitar M and Cherrington JM. The antiangiogenic protein kinase inhibitors SU5416 and SU6668 inhibit the SCF receptor (c-kit) in a human myeloid leukemia cell line and in acute myeloid leukemia blasts. *Blood.* 2001;97(5):1413-21.

- 113- Selim KM, Sahan D, Muhittin T, Osman C and Mustafa O. Increased levels of vascular endothelial growth factor in the aqueous humor of patients with diabetic retinopathy. *Indian J Ophthalmol*. 2010;58(5):375-9.
- 114- Ma Y, Zhang Y, Zhao T and Jiang YR. Vascular endothelial growth factor in plasma and vitreous fluid of patients with proliferative diabetic retinopathy patients after intravitreal injection of bevacizumab. *Am J Ophthalmol*. 2012;153(2):307-13.
- 115- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor and age-related macular degeneration: from basic science to therapy. *Nat Med*. 2010;16(10):1107-11.
- 116- Suryawanshi A, Mulik S, Sharma S, Reddy PB, Sehrawat S and Rouse BT. Ocular neovascularization caused by herpes simplex virus type 1 infection results from breakdown of binding between vascular endothelial growth factor A and its soluble receptor. *J Immunol*. 2011;186(6):3653-65
- 117- Detmar M, Yeo KT, Nagy JA, Van de Water L, Brown LF, Berse B, Elicker BM, Ledbetter S and Dvorak HF. Keratinocyte-derived vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) is a potent mitogen for dermal microvascular endothelial cells. *J Invest Dermatol*. 1995;105(1):44-50.
- 118- Yoo SA, Kwok SK and Kim WU. Proinflammatory role of vascular endothelial growth factor in the pathogenesis of rheumatoid arthritis: prospects for therapeutic intervention. *Mediators Inflamm*. 2008;2008:129873.

- 119- Kamat BR, Brown LF, Manseau EJ, Senger DR and Dvorak HF. Expression of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor by human granulosa and theca lutein cells. Role in corpus luteum development. *Am J Pathol.* 1995;146(1):157-65.
- 120- Artini PG, Monti M, Matteucci C, Valentino V, Cristello F and Genazzani AR. Vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in polycystic ovary syndrome during controlled ovarian hyperstimulation. *Gynecol Endocrinol.* 2006;22(8):465-70.
- 121- Agrawal R, Sladkevicius P, Engmann L, Conway GS, Payne NN, Bekis J, Tan SL, Campbell S and Jacobs HS. Serum vascular endothelial growth factor concentrations and ovarian stromal blood flow are increased in women with polycystic ovaries. *Hum Reprod.* 1998;13(3):651-5.
- 122- Amin AF, Abd el-Aal DE, Darwish AM and Meki AR. Evaluation of the impact of laparoscopic ovarian drilling on Doppler indices of ovarian stromal blood flow, serum vascular endothelial growth factor, and insulin-like growth factor-1 in women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2003;79(4):938-41.
- 123- Ng EHY, Chan CCW, Yeung WSB and Ho PC. Comparison of ovarian stromal blood flow between fertile women with normal ovaries and infertile women with polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod.* 2005;20(7):1881-6.
- 124- Artini PG, Ruggiero M, Parisen Toldin MR, Monteleone P, Monti M, Cela V and Genazzani AR. Vascular

- endothelial growth factor and its soluble receptor in patients with polycystic ovary syndrome undergoing IVF. *Hum Fertil (Camb)* 2009; 12(1): 40-4.
- 125- Bokal EV, Vrtovec HM, Klun IV and Verdenik I. Prolonged HCG action affects angiogenic substances and improves follicular maturation, oocyte quality and fertilization competence in patients with polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2005; 20(6):1562–8.
- 126- Vrtacnik-Bokal E, Virant Klun I and Verdenik I. Follicular oestradiol and VEGF after GnRH antagonists or GnRH agonists in women with PCOS. *Reprod Biomed Online* 2009;18(1):21-8.
- 127- Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS and Soong YK. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87(7):3300-8.
- 128- Kobayashi H. The kallikrein-kinin system, but not vascular endothelial growth factor, plays a role in the increased vascular permeability associated with ovarian hyperstimulation syndrome. *J Mol Endocrinol.* 1998; 20(3):363-74.
- 129- Gao MZ, Zhao XM, Sun ZG, Hong Y, Zhao LW and Zhang HQ. Endocrine gland-derived vascular endothelial growth factor concentrations in follicular fluid and serum may predict ovarian hyperstimulation syndrome in women undergoing controlled ovarian hyperstimulation. *Fertil Steril.* 2011;95(2):673-8.

- 130- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L and Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994; 372(6505):425-32.
- 131- Considine R V, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas a, Stephens TW, Nyce MR, Ohannesian JP, Marco CC, McKee LJ, Bauer TL, et al. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N Engl J Med*. 1996;334(5):292-5.
- 132- Margetic S, Gazzola C, Pegg GG and Hill RA. Leptin: a review of its peripheral actions and interactions. *Int J Obes Relat Metab Disord*. 2002;26(11):1407-33.
- 133- Kelesidis T, Kelesidis I, Chou S and Mantzoros CS. Narrative review: the role of leptin in human physiology: emerging clinical applications. *Ann Intern Med*. 2010;152(2):93-100.
- 134- Bjørbaek C, Elmquist JK, Michl P, Ahima RS, van Bueren A, McCall AL and Flier JS. Expression of leptin receptor isoforms in rat brain microvessels. *Endocrinology*. 1998;139(8):3485-91.
- 135- Lee GH, Proenca R, Montez JM, Carroll KM, Darvishzadeh JG, Lee JI and Friedman JM. Abnormal splicing of the leptin receptor in diabetic mice. *Nature*. 1996;379(6566):632-5.
- 136- Fei H, Okano HJ, Li C, Lee GH, Zhao C, Darnell R and Friedman JM. Anatomic localization of alternatively spliced leptin receptors (Ob-R) in mouse brain and other tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94(13):7001-5.

- 137- Elmquist JK, Bjørbaek C, Ahima RS, Flier JS and Saper CB. Distributions of leptin receptor mRNA isoforms in the rat brain. *J Comp Neurol*. 1998;395(4):535-47.
- 138- Bates SH, Stearns WH, Dundon T a, Schubert M, Tso AWK, Wang Y, et al. STAT3 signalling is required for leptin regulation of energy balance but not reproduction. *Nature*. 2003;421(6925):856-9.
- 139- Niswender KD, Morton GJ, Stearns WH, Rhodes CJ, Myers MG Jr and Schwartz MW. Intracellular signalling. Key enzyme in leptin-induced anorexia. *Nature*. 2001;413(6858):794-5.
- 140- Robertson SA, Leininger GM and Myers MG Jr. Molecular and neural mediators of leptin action. *Physiol Behav*. 2008;94(5):637-42.
- 141- Myers MG, Cowley MA and Münzberg H. Mechanisms of leptin action and leptin resistance. *Annu Rev Physiol*. 2008;70:537-56.
- 142- Bjørbæk C, El-Haschimi K, Frantz JD and Flier JS. The role of SOCS-3 in leptin signaling and leptin resistance. *J Biol Chem*. 1999;274(42):30059-65.
- 143- Frühbeck G. Intracellular signalling pathways activated by leptin. *Biochem J*. 2006;393(Pt 1):7-20.
- 144- Chan JL, Heist K, DePaoli AM, Veldhuis JD and Mantzoros CS. The role of falling leptin levels in the neuroendocrine and metabolic adaptation to short-term starvation in healthy men. *J Clin Invest*. 2003;111(9):1409-21.

- 145- Chan JL, Matarese G, Shetty GK, Raciti P, Kelesidis I, Aufiero D, De Rosa V, Perna F, Fontana S and Mantzoros CS. Differential regulation of metabolic, neuroendocrine, and immune function by leptin in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006; 103(22): 8481-6.
- 146- Mantzoros CS, Magkos F, Brinkoetter M, Sienkiewicz E, Dardeno TA, Kim SY, Hamnvik OP and Koniaris A. Leptin in human physiology and pathophysiology. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2011;301(4):E567-84.
- 147- Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, Sanna V, Jebb SA, Perna F, Fontana S, Lechler RI, DePaoli AM and O'Rahilly S. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine / metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*. 2002;110(8): 1093-103.
- 148- Chan JL, Williams CJ, Raciti P, Blakeman J, Kelesidis T, Kelesidis I, Johnson ML, Thorner MO and Mantzoros CS. Leptin does not mediate short-term fasting-induced changes in growth hormone pulsatility but increases IGF-I in leptin deficiency states. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(7):2819-27.
- 149- Denroche HC, Levi J, Wideman RD, Sequeira RM, Huynh FK, Covey SD and Kieffer TJ. Leptin therapy reverses hyperglycemia in mice with streptozotocin-induced diabetes, independent of hepatic leptin signaling. *Diabetes*. 2011;60(5):1414-23.

- 150- German JP, Thaler JP, Wisse BE, Oh-I S, Sarruf DA, Matsen ME, Fischer JD, Taborsky GJ Jr, Schwartz MW and Morton GJ. Leptin activates a novel CNS mechanism for insulin-independent normalization of severe diabetic hyperglycemia. *Endocrinology*. 2011;152(2):394-404.
- 151- Ishida K, Murakami T, Mizuno a, Iida M, Kuwajima M and Shima K. Leptin suppresses basal insulin secretion from rat pancreatic islets. *Regul Pept*. 1997;70(2-3): 179-82.
- 152- Tudurí E, Marroquí L, Soriano S, Ropero AB, Batista TM, Piquer S, López-Boado MA, Carneiro EM, Gomis R, Nadal A and Quesada I. Inhibitory effects of leptin on pancreatic alpha-cell function. *Diabetes*. 2009;58(7): 1616-24.
- 153- Marroquí L, Vieira E, Gonzalez A, Nadal A and Quesada I. Leptin downregulates expression of the gene encoding glucagon in alphaTC1-9 cells and mouse islets. *Diabetologia*. 2011;54(4):843-51.
- 154- Blüher S and Mantzoros CS. Leptin in humans: Lessons from translational research. *Am J Clin Nutr*. 2009;89(3):991-7.
- 155- Brennan AM and Mantzoros CS. Drug Insight: the role of leptin in human physiology and pathophysiology--emerging clinical applications. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2006;2(6):318-27.
- 156- Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA and O'Rahilly S. Effects of recombinant leptin therapy in a

- child with congenital leptin deficiency. *N Engl J Med.* 1999;341(12):879-84.
- 157- Strobel a, Issad T, Camoin L, Ozata M and Strosberg AD. A leptin missense mutation associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nat Genet.* 1998; 18(3):213-5.
- 158- Heymsfield SB, Greenberg AS, Fujioka K, Dixon RM, Kushner R, Hunt T, Lubina JA, Patane J, Self B, Hunt P and McCamish M. Recombinant leptin for weight loss in obese and lean adults: a randomized, controlled, dose-escalation trial. *JAMA.* 1999;282(16): 1568-75.
- 159- Roth JD, Roland BL, Cole RL, Trevaskis JL, Weyer C, Koda JE, Anderson CM, Parkes DG and Baron AD. Leptin responsiveness restored by amylin agonism in diet-induced obesity: evidence from nonclinical and clinical studies. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008; 105(20):7257-62.
- 160- Rosenbaum M, Goldsmith R, Bloomfield D, Magnano A, Weimer L, Heymsfield S, Gallagher D, Mayer L, Murphy E and Leibel RL. Low-dose leptin reverses skeletal muscle, autonomic, and neuroendocrine adaptations to maintenance of reduced weight. *J Clin Invest.* 2005; 115(12):3579-86.
- 161- Blüher S, Shah S and Mantzoros CS. Leptin deficiency: clinical implications and opportunities for therapeutic interventions. *J Investig Med.* 2009;57(7):784-8.

- 162- Welt CK, Chan JL, Bullen J, Murphy R, Smith P, DePaoli AM, Karalis A and Mantzoros CS. Recombinant human leptin in women with hypothalamic amenorrhea. *N Engl J Med.* 2004;351(10):987-97.
- 163- Petersen KF, Oral EA, Dufour S, Befroy D, Ariyan C, Yu C, Cline GW, DePaoli AM, Taylor SI, Gorden P and Shulman GI. Leptin reverses insulin resistance and hepatic steatosis in patients with severe lipodystrophy. *J Clin Invest.* 2002;109(10):1345-50.
- 164- Pardini VC, Victória IM, Rocha SM, Andrade DG, Rocha AM, Pieroni FB, Milagres G, Purisch S and Velho G. Leptin levels, beta-cell function, and insulin sensitivity in families with congenital and acquired generalized lipodystrophic diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998;83(2):503-8.
- 165- Nagy GS, Tsiodras S, Martin LD, Avihingsanon A, Gavrila A, Hsu WC, Karchmer AW and Mantzoros CS. Human immunodeficiency virus type 1-related lipodystrophy and lipohypertrophy are associated with serum concentrations of leptin. *Clin Infect Dis.* 2003; 36(6):795-802.
- 166- Oral EA, Simha V, Ruiz E, Andewelt A, Premkumar A, Snell P, Wagner AJ, DePaoli AM, Reitman ML, Taylor SI, Gorden P and Garg A. Leptin-replacement therapy for lipodystrophy. *N Engl J Med.* 2002;346(8):570-8.
- 167- Rojas J, Chávez M, Olivar L, Rojas M, Morillo J, Mejías J, Calvo M and Bermúdez V. Polycystic Ovary Syndrome, Insulin Resistance, and Obesity: Navigating

- the Pathophysiologic Labyrinth. *Int J Reprod Med.* 2014; 2014:1-17.
- 168- Sirmans SM and Pate KA. Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clin Epidemiol.* 2013;6:1-13.
- 169- Chakrabarti J. Serum leptin level in women with polycystic ovary syndrome: correlation with adiposity, insulin, and circulating testosterone. *Ann Med Health Sci Res.* 2013;3(2):191-6.
- 170- Li MG, Ding GL, Chen XJ, Lu XP, Dong LJ, Dong MY, Yang XF, Lu XE and Huang HF. Association of serum and follicular fluid leptin concentrations with granulosa cell phosphorylated signal transducer and activator of transcription 3 expression in fertile patients with polycystic ovarian syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(12):4771-6.
- 171- Anifandis G, Koutselini E, Stefanidis I, Liakopoulos V, Leivaditis C, Mantzavinos T and Vamvakopoulos N. Serum and follicular fluid leptin levels are correlated with human embryo quality. *Reproduction.* 2005;130(6): 917-21.
- 172- Mantzoros CS, Cramer DW, Liberman RF and Barbieri RL. Predictive value of serum and follicular fluid leptin concentrations during assisted reproductive cycles in normal women and in women with the polycystic ovarian syndrome. *Hum Reprod.* 2000;15(3):539-44.
- 173- Dorn C, Reinsberg J, Kupka M, Van der Ven H and Schild RL. Leptin, VEGF, IGF-1, and IGFBP-3

- concentrations in serum and follicular fluid of women undergoing in vitro fertilization. *Arch Gynecol Obstet.* 2003;268(3):187-93.
- 174- Welt CK, Schneyer AL, Heist K and Mantzoros CS. Leptin and Soluble Leptin Receptor in Follicular Fluid. *J Assist Reprod Genet.* 2003;20(12):495-501.
- 175- Agrawal R, Jacobs H, Payne N and Conway G. Concentration of vascular endothelial growth factor released by cultured human luteinized granulosa cells is higher in women with polycystic ovaries than in women with normal ovaries. *Fertil Steril.* 2002; 78(6):1164–9.
- 176- Ferrara N, Frantz G, LeCouter J., Dillart-Telm L., Pham T., Draksharapu A., Giordano T and Peale F. Differential expression of the angiogenic factor genes vascular endothelial growth factor (VEGF) and endocrine gland-derived VEGF in normal and polycystic human ovaries. *Am J Pathol.* 2003; 162(6):1881-93.
- 177- Stanek MB, Borman SM, Molskness TA, Larson JM, Stouffer RL and Patton PE. Insulin and insulin-like growth factor stimulation of vascular endothelial growth factor production by luteinized granulosa cells: comparison between polycystic ovarian syndrome (PCOS) and non-PCOS women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(7): 2726-33.
- 178- Lee EJ, Oh B, Lee JY, Kimm K, Park JM and Baek KH. Association study between single nucleotide polymorphisms in the VEGF gene and polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril.* 2008; 89(6): 1751-9.

- 179- Agrawal R, Conway GS, Sladkevicius P, Payne NN, Bekir J, Campbell S, Tan SL and Jacobs HS. Serum vascular endothelial growth factor (VEGF) in the normal menstrual cycle: association with changes in ovarian and uterine Doppler blood flow. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1999; 50(1):101-6.
- 180- Plati E., Kouskouni E., Malamitsi-Puchner A., Boutsikou M., Kaparos G. and Baka S. Visfatin and leptin levels in women with polycystic ovaries undergoing ovarian stimulation. *Fertil Steril*. 2010;94(4):1451-6
- 181- Garruti G, de Palo R, Rotelli MT, Nocera S, Totaro I, Nardelli C, Panzarino MA, Vacca M, Selvaggi LE and Giorgino F. Association between follicular fluid leptin and serum insulin levels in nonoverweight women with polycystic ovary syndrome. *Biomed Res Int*. 2014: 2014:1-7.
- 182- Ram MR, Sundararaman PG, and Malathi R. Body fat distribution and leptin correlation in women with polycystic ovary syndrome: Endocrine and biochemical evaluation in south Indian population. *Reprod Med Biol*. 2005;4:71-8.
- 183- Nikolettos N, Asimakopoulos B, Efthimiadou A, Mourvati E and Demirel C. Evaluation of leptin, interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α and vascular endothelial growth factor in serum and follicular fluids of women undergoing controlled ovarian hyperstimulation as prognostic markers of ICSI outcome. *In Vivo*. 2004; 18(5):667-74.

- 184- Asimakopoulos B, Nikolettos N, Papachristou DN, Simopoulou M, Al-Hasani S and Diedrich K. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor and leptin are associated with pregnancy outcome of normal women participating in intracytoplasmic sperm injection cycles. *Physiol Res.* 2005; 54(3): 263-70.
- 185- Friedman CI, Seifer DB, Kennard EA, Arbogast L, Alak B and Danforth DR. Elevated level of follicular fluid vascular endothelial growth factor is a marker of diminished pregnancy potential. *Fertil Steril.*1998; 70(5):836-9.
- 186- Ocal P, Aydin S, Cepni I, Idil S, Idil M, Uzun H and Benian A. Follicular fluid concentrations of vascular endothelial growth factor, inhibin A and inhibin B in IVF cycles: are they markers for ovarian response and pregnancy outcome? *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2004;115(2):194-9.
- 187- Van Blerkom J, Antczak M and Schrader R. The developmental potential of the human oocyte is related to the dissolved oxygen content of follicular fluid: association with vascular endothelial growth factor levels and perifollicular blood flow characteristics. *Hum Reprod.* 1997; 12(5):1047-55.
- 188- Monteleone P, Giovanni Artini P, Simi G, Casarosa E, Cela V and Genazzani AR. Follicular fluid VEGF levels directly correlate with perifollicular blood flow in normoresponder patients undergoing IVF. *J Assist Reprod Genet.* 2008;25(5):183-6.

- 189- Barroso G, Barrionuevo M, Rao P, Graham L, Danforth D, Huey S, Abuhamad A and Oehninger S. Vascular endothelial growth factor, nitric oxide, and leptin follicular fluid levels correlate negatively with embryo quality in IVF patients. *Fertil Steril*. 1999; 72(6):1024-72.
- 190- Almog B, Azem F, Kapustiansky R, Azolai J, Wagman I, Levin I, Hauser R, Pauzner D, Lessing JB, Amit A and Gamzu R. Intrafollicular and serum levels of leptin during in vitro fertilization cycles: comparison between the effects of recombinant follicle-stimulating hormones and human menopausal gonadotrophin. *Gynecol Endocrinol*. 2011;27(9):666-8.
- 191- Asimakopoulos B, Koster F, Felberbaum R, Tripsiannis G, Caglar GS, Nikolettos N, Al-Hasani S and Diedrich K. Intrafollicular and circulating concentrations of leptin do not predict the outcome in IVF-ICSI cycles. *Reprod Sci*. 2009;16(1):113-9.
- 192- Mathur R, Hayman G, Bansal A and Jenkins J. Serum vascular endothelial growth factor levels are poorly predictive of subsequent ovarian hyperstimulation syndrome in highly responsive women undergoing assisted conception. *Fertil Steril*. 2002;78(6):1154-8.
- 193- Chen CD, Chen HF, Lu HF, Chen SU, Ho HN and Yang YS. Value of serum and follicular fluid cytokine profile in the prediction of moderate to severe ovarian hyperstimulation syndrome. *Hum Reprod*. 2000;15(5): 1037-42.

- 194- Agrawal R, Tan SL, Wild S, Sladkevicius P, Engmann L, Payne N, Bekir J, Campbell S, Conway G and Jacobs H. Serum vascular endothelial growth factor concentrations in in vitro fertilization cycles predict the risk of ovarian hyperstimulation syndrome. *Fertil Steril.* 1999;71(2):287-93.
- 195- Geva E, Amit A, Lessing JB, Lerner-Geva L, Daniel Y, Yovel I, Azem F and Barak V. Follicular fluid levels of vascular endothelial growth factor. Are they predictive markers for ovarian hyperstimulation syndrome? *J Reprod Med.* 1999;44(2):91-6.
- 196- Wang TH, Horng SG, Chang CL, Wu HM, Tsai YJ, Wang HS and Soong YK. Human chorionic gonadotropin-induced ovarian hyperstimulation syndrome is associated with up-regulation of vascular endothelial growth factor. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002; 87(7):3300-8.