NCMBJ | VOLUME 16 | ISSUE 64 | AUTUMN 2026 |

ORIGINAL ARTICLE |

The Role of Metformin in Modulating IGF1 and IGF2 Protein Expression in Patients with Polycystic Ovary Syndrome Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection |

Zahra Karami[1], Parvin Khodarahmi[1]*, Farzaneh Tafvizi[1,2], Marefat Ghaffari-Novin[3]

1- Department of Biology, Pa. C., Islamic Azad University, Parand, Iran

2-Department of Chemical and Biological Technologies, CT.C, Islamic Azad University, Tehran, Iran

3- Department of Biology and Anatomical Science, School of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

***Corresponding Author:** Parvin Khodarahmi, Department of Biology, Pa. C., Islamic Azad University, Parand, Iran;

| Received | 2026/04/09 | Revised | 2026/07/12 | Accepted | 2026/08/17

| Abstract |

Background and Aim: This study aimed to evaluate the effect of metformin treatment on the expression of IGF1 and IGF2 proteins in serum, follicular fluid (FF), and cumulus cells (CCs) of women with Polycystic ovary syndrome (PCOS) undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI).

Materials and Methods: In this study, 90 women undergoing ICSI were enrolled and divided into three groups: healthy controls, women with PCOS, and women with PCOS treated with metformin. Protein levels of IGF1 and IGF2 in serum, FF, and CC samples were measured using ELISA.

Results: In the PCOS group, IGF1 levels in serum and FF were significantly higher than those in the control group, whereas a significant decrease was observed in CCs ($p < 0.001$). Metformin treatment reduced serum IGF1 levels and significantly increased its expression in CCs ($p < 0.001$), while no significant change was detected in FF. Furthermore, IGF2 concentrations in serum, FF, and CCs were significantly elevated in women with PCOS compared with controls ($p < 0.01$, $p < 0.001$, and $p < 0.001$, respectively). Metformin administration decreased serum IGF2 levels; however, its concentrations in FF and CCs remained significantly higher than those in the control group ($p < 0.001$), and were further increased in CCs compared with untreated PCOS patients ($p < 0.01$). In both PCOS and PCOS+Metformin groups, IGF2 levels in FF and CCs were significantly higher than those in serum ($p < 0.001$).

Conclusion: Metformin may improve follicular development and reproductive outcomes in women with PCOS by modulating the IGF system and enhancing the local expression of IGF1 and IGF2 within the follicular microenvironment.

| Keywords |

PCOS |
IGF1 Protein |
F2 Protein |
ICSI |

| Iau Science |

NCMBJ
New Cellular and Molecular Biotechnology Journal
ISSN : 2228-6926

مقالهٔ اصیل پژوهشی|

بررسیِ اثرِ متفورمین بر بیانِ پروتئینِ IGF-1 و IGF-2 در سرم، مایعِ فولیکولی (FF) و سلول‌های کومولوس (CCs) در بیمارانِ PCOS تحتِ تزریقِ داخلِ سیتوپلاسمیِ اسپرم (ICSI) |

زهرا کرمی[۱]، پروین خدارحمی[۱*]، فرزانه تفویضی[۱و۲]، معرفت غفاری نوین[۳]

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران

۲- گروه فناوری های شیمی-زیستی، واحد تهران مرکزی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- گروه زیست‌شناسی و علوم تشریحی، دانشکدهٔ پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

*نویسندهٔ مسئول: پروین خدارحمی، گروه زیست‌شناسی، واحد پرند، دانشگاه آزاد اسلامی، پرند، ایران؛ پست الکترونیکی: khodarahmiparvin@iau.ac.ir, khodarahmiparvn@yahoo.com

| تاریخ دریافت | ۱۴۰۵/۰۱/۲۰ | تاریخ بازنگری | ۱۴۰۵/۰٤/۲۱ | تاریخ پذیرش | ۱۴۰۵/۰۵/۲٦ |

| چکیـــده

زمینه و هدف: این مطالعه با هدف بررسیِ تأثیرِ متفورمین بر بیانِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2 در سرم، مایعِ فولیکولی (FF) و سلول‌های کومولوس (CCs) زنانِ مبتلا به سندرمِ تخمدانِ پلی‌کیستیک (PCOS1)، تحتِ درمانِ تزریقِ داخلِ سیتوپلاسمیِ اسپرم انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۹۰ زن تحتِ ICSI در سه گروه شاملِ کنترل، PCOS و PCOS دریافت‌کنندهٔ متفورمین بررسی شدند. سطوحِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2 در نمونه‌های سرم، FF و CCs با استفاده از روشِ ELISA اندازه‌گیری شد.

نتایج: در گروهِ PCOS، سطحِ IGF1 در سرم و FF به‌طورِ معنی‌داری بیشتر از گروهِ کنترل بود، درحالی‌که در CCs کاهشِ معنی‌داری مشاهده شد($p < 0.001$). درمان با متفورمین موجبِ کاهشِ سطحِ سرمیِ IGF1 و افزایشِ معنی‌دارِ آن در CCs شد ($p < 0.001$)، امّا تغییری در سطحِ FF ایجاد نکرد. همچنین، سطحِ IGF2در سرم، FF و CCs گروهِ PCOS نسبت به گروهِ کنترل افزایشِ معنی‌داری داشت (به‌ترتیب $p < 0.01$, $p < 0.001$, $p < 0.001$). متفورمین سطحِ سرمیِ IGF2 را کاهش داد ($p < 0.001$)، امّا غلظتِ آن در FF و CCs در مقایسه با گروهِ کنترل همچنان بالا باقی ماند ($p < 0.001$) و در CCs نسبت به گروهِ PCOSدرمان‌نشده افزایشِ بیشتری نشان داد($p < 0.01$). در هر دو گروهِ PCOS وPCOS+ متفورمین، سطحِ IGF2 در FF و CCs به‌طور معنی‌داری بالاتر از سرم بود ($p < 0.001$).

نتیجه‌گیری: متفورمین احتمالاً از طریقِ تعدیلِ سیستمِ IGF و افزایشِ بیانِ موضعیِ IGF1 و IGF2 در محیطِ فولیکولی، شرایطِ مناسب‌تری برای رشدِ فولیکول و بهبودِ نتایجِ تولیدمثلی در زنانِ مبتلا به PCOS فراهم می‌کند.

|واژگان کلیدی|

تخمدان پلی‌کیستیک |

پروتئینِ IGF1 |

پروتئینِ IGF2 |

تزریقِ داخلِ سیتوپلاسمیِ اسپرم |

|علوم Iau |

۱| مقدمه

سندرمِ تخمدانِ پلی‌کیستیک (PCOS) یکی از شایع‌ترین اختلالات غددِ درون‌ریز در زنانِ سنینِ باروری است که حدودِ ۶ تا ۱۰ درصد از زنان را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد. این سندرم با اختلالاتِ تخمک‌گذاری، ناباروری، هیپرآندروژنیسم، مقاومت به انسولین، چاقی و ناهنجاری‌های متابولیک همراه است و می‌تواند پیامدهای قابل‌توجهی بر سلامتِ باروری و متابولیکِ زنان داشته باشد (۱). اختلال در عملکردِ تخمدان و عدم تخمک‌گذاریِ منظم از مهم‌ترین عللِ ناباروری در زنانِ مبتلا به PCOS محسوب می‌شود. علاوه‌بر این اختلالاتِ هورمونی و متابولیکیِ مرتبط با این سندرم می‌توانند کیفیتِ تخمک، میزانِ لقاح، رشدِ جنین، لانه‌گزینی و در نهایت موفقیتِ بارداری را تحت‌تأثیر قرار دهند (۱، ۲).

پاتوژنزِ PCOS پیچیده و چندعاملی است و با اختلالاتِ مختلفِ غددِ درون‌ریز از جمله کاهشِ ترشحِ هورمونِ محرّکِ فولیکولی (FSH)، افزایشِ ترشحِ هورمونِ لوتئینیزه‌کننده (LH)، هیپرآندروژنیسم، هیپرانسولینمی و مقاومت به انسولین همراه است. کاهشِ سطحِ FSH موجبِ اختلال در رشد و بلوغِ فولیکول‌ها و تجمعِ فولیکول‌های نابالغ در تخمدان می‌شود، درحالی‌که افزایشِ LH با کاهشِ بلوغِ اووسیت، کاهشِ میزانِ لقاح، اختلال در کیفیتِ جنین و افزایشِ خطرِ سقطِ جنین ارتباط دارد (۲، ۳). همچنین تغییرِ نسبتِ LH/FSH یکی از ویژگی‌های مهمِ PCOS است که در اختلالِ تخمک‌گذاری و افزایشِ تولیدِ آندروژن نقش دارد (۴).

شاخصِ تودهٔ بدنی (BMI) نیز می‌تواند بر وضعیتِ هورمونیِ زنانِ مبتلا به PCOS تأثیرگذار باشد. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که افزایشِBMI با تغییر در سطوحِ هورمون‌های تولیدمثلی همراه است. علاوه‌بر این، هورمونِ پرولاکتین (PRL) علاوه‌بر نقشِ شناخته‌شده در شیردهی و تنظیمِ عملکردِ تولیدمثلی، در تنظیمِ هموستازِ متابولیک نیز نقش دارد و به‌عنوانِ یک نشانگرِ مهم در بررسیِ هیپرپرولاکتینمی مورداستفاده قرار می‌گیرد (۵، ۶).

هورمونِ آنتی‌مولرین (AMH) که توسطِ سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های پره‌آنترال و آنترالِ کوچک تولید می‌شود، یکی از شاخص‌های مهمِ ارزیابیِ ذخیره و عملکردِ تخمدان محسوب می‌شود. در زنانِ مبتلا به PCOS به‌دلیلِ افزایشِ تعدادِ فولیکول‌های کوچک، سطحِ AMH سرم معمولاً بالاتر از افرادِ سالم است و به‌عنوانِ یکی از نشانگرهای تشخیصیِ این سندرم شناخته می‌شود (۳).

مقاومت به انسولین یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های پاتوفیزیولوژیکPCOS است و به کاهشِ پاسخِ بافت‌های هدف به انسولین اشاره دارد. در نتیجهٔ این وضعیت، برای حفظِ هموستازِ گلوکز، ترشحِ انسولین افزایش یافته و هیپرانسولینمی ایجاد می‌شود. افزایشِ سطحِ انسولین نه‌تنها بر متابولیسمِ گلوکز اثر می‌گذارد، بلکه از طریقِ تأثیر بر عملکردِ تخمدان، تولیدِ آندروژن و اختلال در فولیکولوژنز نیز در پیشرفتِ PCOS نقش دارد (۷).

فاکتورهای رشدِ شبه‌انسولینی (IGFs) گروهی از پلی‌پپتیدهای تنظیم‌کنندهٔ رشد و تکاملِ سلولی هستند که نقشِ مهمی در عملکردِ تخمدان و رشدِ فولیکولی ایفا می‌کنند. سیستمِ IGF شاملِ دو لیگاندِ اصلی (IGF-I و IGF-II)، دو گیرندهٔ غشایی (IGF2R و IGF1R)، شش پروتئینِ متصل‌شونده به IGF (IGFBP1-6) و پروتئازهای اختصاصیِ آن‌هاست (۸). IGF-I عمدتاً توسطِ سلول‌های تکا و IGF-IIعمدتاً توسط سلول‌های گرانولوزا تولید می‌شوند، درحالی‌که پروتئین‌های متصل‌شونده به IGF در مایعِ فولیکولی حضور دارند و توسطِ سلول‌های گرانولوزا و تکا بیان می‌شوند. این سیستم در تنظیمِ رشدِ فولیکول، بلوغِ اووسیت و استروئیدوژنز نقشِ اساسی دارند. باوجوداین، نقشِ دقیقِ تغییرهایIGF ها در پاتوژنزِ PCOS هنوز به‌طورِ کامل مشخص نشده است، امّا شواهدِ موجود نشان می‌دهند که هیپرانسولینمی و تغییر در بیانِ اجزای سیستمِ IGF می‌توانند در بروزِ این اختلال دخیل باشند (۹).

متفورمین یکی از داروهایِ اصلیِ مورداستفاده در درمانِ PCOS است که به‌عنوانِ یک عاملِ حساس‌کننده به انسولین شناخته می‌شود. این دارو با افزایشِ حساسیت به انسولین، کاهشِ هیپرانسولینمی و بهبودِ شاخصِ مقاومت به انسولین (HOMA-IR)، در اصلاحِ اختلالاتِ متابولیکی و هورمونیِ مرتبط با PCOS مؤثر است (۱۰، ۱۱). متفورمین همچنین با مهار گلوکونئوژنزِ کبدی از طریقِ مهارِ آنزیمِ گلیسرول‌فسفات‌دهیدروژنازِ میتوکندریایی، تولیدِ گلوکز را کاهش داده و کنترلِ قندخون را بهبود می‌بخشد (۱۲، ۱۳). مطالعه‌ها نشان داده‌اند که این دارو با کاهشِ سطحِ انسولین، به تنظیمِ نسبتِ LH/FSH، کاهشِ سطحِLH ، بهبودِ رشدِ فولیکولی و افزایشِ تخمک‌گذاری کمک می‌کند (۱۴). علاوه‌بر این، متفورمین می‌تواند

سطحِ AMH را کاهش داده، عملکردِ فولیکولی را بهبود بخشد و در نهایت کیفیتِ اووسیت، جنین و نتایجِ باروری را در زنانِ مبتلا به PCOSارتقا دهد (۱۵، ۱۶).

با توجه به نقشِ مهمِ سیستمِ IGF در عملکردِ تخمدان و نیز اثرهای متفورمین بر تنظیمِ متابولیسم و عملکردِ تولیدمثلی، بررسیِ تأثیرِ این دارو بر بیانِ فاکتورهای رشدِ شبه‌انسولینی در محیطِ فولیکولی از اهمیتِ ویژه‌ای برخوردار است. بنابراین، مطالعهٔ حاضر با هدفِ بررسیِ اثرِ متفورمین بر بیانِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2 در سرم، مایعِ فولیکولی (FF) و سلول‌های کومولوسِ (CCs) زنانِ مبتلا بهPCOS که تحتِ تزریقِ داخلِ سیتوپلاسمیِ اسپرم (ICSI) قرار می‌گیرند انجام شد.

۲| مواد و روش‌ها

۲-۱| گروه‌های موردمطالعه و روشِ درمان

این پژوهشِ مورد-شاهدی شاملِ ۹۰ زوجِ نابارور بود که در بیمارستانِ صارمِ تهران، ایران، تحتِ ICSI قرار گرفتند. نمونه‌ها در فاصلهٔ آبانِ ۱۴۰۰ تا اسفندِ ۱۴۰۱ جمع‌آوری شدند. شرکت‌کنندگان به سه گروه تقسیم شدند: گروهِ کنترلِ سالم (n = 30)، گروهِ کنترلِ بیمارِ مبتلا به سندرمِ تخمدانِ پلی‌کیستیک (n = 30) و گروهِ بیمارانِ مبتلا به سندرمِ تخمدانِ پلی‌کیستیک که متفورمین مصرف می‌کردند (n = 30). همچنین زنانِ ۲۰ تا ۳۵ ساله برای شرکت در این پژوهش انتخاب شدند. عواملِ مداخله‌گری از جمله سبکِ زندگی، مدیریتِ وزن و سطحِ BMI است و معیارهای خروج شاملِ استفاده از مکمل‌های باروری، ناباروریِ چندعاملی، انسدادِ لوله‌های فالوپ، بیماری‌های التهابی یا عفونی، بیماری‌های خودایمنی یا قلبی-عروقی، دیابت، سیگار کشیدن و درمانِ قبلی با فناوری‌های کمک‌باروری (ART) یا داروهای هورمونی بود. سطوحِ IGFها و هورمون‌های غددِ درون‌ریز، شاملِ FSH، PRL، AMH، LH و انسولین، به‌ترتیب با استفاده از دستگاهِ Immulite (ساختِ کشورِ آلمان)، کیتِ AnshLabs (ساختِ کشورِ آمریکا) سنجشِ ایمونوسوربنتِ متصل به آنزیم (ELISA) و دستگاهِ Cobas e411 (ساختِ کشورِ ژاپن) طبقِ دستورالعملِ سازنده، اندازه‌گیری شد.

گروهِ کنترلِ سالم شاملِ ۳۰ زنِ بارور با پروفایلِ هورمونیِ طبیعی و همسرانی بود که ناباروری با عاملِ مردانه در آن‌ها تشخیص داده شده بود. گروهِ بیمارانِ PCOS شاملِ ۳۰ زنِ نابارورِ مبتلا به تخمدانِ پلی‌کیستیک بود (تشخیصِ PCOS شاملِ آندروژنِ اضافی، مقاومت به انسولین با هیپرانسولینمی جبرانی و چاقی است. همچنین، سونوگرافیِ تخمدان می‌تواند تشخیص را تسهیل کند) (۱۷)، درحالی‌که گروهِ PCOS تحتِ درمان با متفورمین شاملِ ۳۰ زن بود که متفورمین دریافت کرده بودند.

یک معیارِ ارزیابی برای پیش‌درمانی با متفورمین در بیمارانِ PCOS قبل از ICSI، هموستاتیکِ مقاومت به انسولین (HOMA-IR) است (HOMA-IR ≥ 3.5 قبل از درمان) (۱۸). بیماران در گروهِ تحت‌درمان با متفورمین با دوزِ روزانه ۵۰۰ میلی‌گرم در هفتهٔ اول شروع کردند که به‌تدریج در هفتهٔ دوم به ۵۰۰ میلی‌گرم دوبار در روز، در هفتهٔ سوم به ۵۰۰ میلی‌گرم سه‌بار در روز و در نهایت به ۵۰۰ میلی‌گرم، چهار بار در روز افزایش یافت. در هفتهٔ چهارم، به دوزِ روزانهٔ کل ۲۰۰۰ میلی‌گرم رسید. متفورمین قبل و در طولِ درمانِ ICSI طبقِ تجویزِ متخصصِ زنان و متخصصِ ناباروری تجویز شد. همچنین همهٔ شرکت‌کنندگان رضایت‌نامهٔ کتبیِ آگاهانه ارائه دادند.

۲-۲| دستورالعملِ جمع‌آوریِ سرم، مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوس

بیماران تحتِ تحریکِ کنترل‌شدهٔ تخمدان با استفاده از دستورالعملِ آنتاگونیستِ هورمونِ آزادکنندهٔ گنادوتروپین (GnRH) قرار گرفتند. پیش از شروعِ درمان، ارزیابیِ ذخیرهٔ تخمدان توسطِ متخصصِ زنان انجام شد. از اواسطِ فازِ فولیکولی، بیماران روزانه آنتاگونیست GnRH (Cetrotide®, Merck Serono, Germany) دریافت کردند. هنگامی‌که حداقل دو فولیکول به قطرِ ۱۷ میلی‌متر رسیدند، بلوغِ نهاییِ اووسیت با تزریقِ گنادوتروپینِ جفتیِ انسانی (hCG؛ Pregnyl®, IBSA, The Netherlands) القا شد. برداشتِ اووسیت‌ها ۳۴ تا ۳۶ ساعت پس از تزریقِ hCG، تحتِ هدایتِ سونوگرافیِ ترانس‌واژینال و بیهوشیِ کوتاه‌مدت انجام شد (۱۹).

در روزِ برداشتِ اووسیت، پیش از آسپیراسیونِ فولیکولی، ۲ میلی‌لیتر خونِ وریدی از هر شرکت‌کننده جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون به‌مدتِ ۱۰ دقیقه و با سرعتِ ۳۰۰۰ ×g سانتریفوژ شدند و سرمِ حاصل تا زمانِ انجامِ آزمایش‌ها در دمایِ ۸۰- درجهٔ

سانتی‌گراد نگهداری شد. از این نمونه‌ها برای اندازه‌گیریِ سطوحِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2 مورداستفاده قرار گرفت (۲۰).

مایعِ فولیکولی (FF) طیِ آسپیراسیونِ فولیکول‌ها تحتِ هدایتِ سونوگرافیِ ترانس‌واژینال جمع‌آوری شد. نمونه‌های آلوده به خون از مطالعه حذف شدند. سپس نمونه‌های FF به‌مدتِ ۱۰ دقیقه در دمای ۵ درجهٔ سانتی‌گراد و با سرعتِ ۳۰۰۰× g سانتریفوژ شدند و مایعِ رویی حاصل تا زمانِ آنالیز در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد ذخیره شد.

پس از جمع‌آوریِ مایعِ فولیکولی، کمپلکس‌های اووسیت–کومولوس (COCs) شناسایی شدند. برای جداسازیِ سلول‌های کومولوس، COCs با آنزیمِ هیالورونیداز (ART-4007, SAGE In-Vitro Fertilization Inc.) تیمار شدند. سپس سلول‌های کومولوس با استفاده از پیپتِ پاستور از محیط خارج شدند و تا زمانِ انجامِ آزمایش‌ها در دمای ۸۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شدند (۲۱).

۳-۲| اندازه‌گیریِ سطحِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2

سطوحِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2 در نمونه‌های سرم، مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوس با استفاده از کیت‌های ELISA (ZellBio GmbH, Germany) و مطابقِ دستورالعملِ شرکتِ سازنده اندازه‌گیری شد. برای استخراجِ پروتئین از سلول‌های کومولوس، نمونه‌ها ابتدا با بافر RIPA لیز شدند.

در این روش، از میکروپلیت‌های از پیش پوشش‌دادهشده با آنتی‌بادیِ اختصاصیِ ضدIGF1 یا IGF2 استفاده شد. پس از افزودنِ نمونه‌ها به چاهک‌ها، پروتئین‌های هدف به آنتی‌بادی‌های تثبیت‌شده متصل شدند. سپس آنتی‌بادی‌های تشخیصی بیوتینیلهٔ اختصاصیِ IGF1 و IGF2 (ZellBio Gmbh)ساختِ کشورِ آلمان افزوده شد و در ادامه، کمپلکسِ استرپتاویدین–پراُکسیدازِ ترب کوهی (Streptavidin-HRP) ساختِ شرکتِ(ZellBio, Germany) به چاهک‌ها اضافه گردید. پس از افزودنِ سوبسترای کروموژنیک، واکنشِ رنگ‌سنجی ایجاد شد و محلولِ بی‌رنگِ اولیه به رنگِ آبی تغییر یافت. واکنش با افزودنِ محلولِ متوقف‌کننده خاتمه داده شد که موجبِ تغییرِ رنگِ محلول از آبی به زرد گردید. در نهایت، میزانِ جذبِ نوریِ نمونه‌ها در طول‌موجِ ۴۵۰ نانومتر با استفاده از دستگاهِ میکروپلیت‌ریدرِ ELISA اندازه‌گیری شد و غلظتِ پروتئین‌های IGF1 و IGF2بر اساسِ منحنیِ استاندارد محاسبه گردید (۲۰).

۴-۲| تحلیلِ آماری

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارِ SPSS نسخهٔ ۲۵ پردازش و تحلیل شدند. برای ارزیابیِ تفاوت‌ها بین گروه‌های آزمایشی و کنترل، از تحلیلِ واریانسِ یک‌طرفه (ANOVA) و برای مقایسه‌های جفتی از آزمونِ تعقیبیِ توکی استفاده شد. علاوه‌بر این، برای تجزیه‌وتحلیلِ داده‌های مربوط به هر نوع نمونه (سرم، FF و CCs) از تحلیلِ واریانسِ یک‌طرفهٔ جداگانه استفاده شد. نتایج به‌صورتِ میانگین ± خطای استاندارد میانگین (SEM) بیان شدند و معناداریِ آماری در آستانه $p < 0.05$ تعیین شد.

۳| نتایج

۱-۳| ارزیابیِ پارامترهای هورمونی

شرکت‌کنندگانِ این مطالعه شاملِ ۹۰ زن بودند که به‌طورِ مساوی به سه گروه تقسیم شدند: گروهِ کنترل (n=30)، PCOS (n=30) و PCOS + متفورمین (n=30).

شرکت‌کنندگان در همهٔ گروه‌ها از نظرِ سن و مدتِ ناباروری باهم مطابقت داشتند. گروه‌های PCOS و PCOS + متفورمین شاخصِ تودهٔ بدنی (BMI) (به‌ترتیب 0.68 ± 35.83 و 0.19 ± 27.58) به‌طورِ قابل‌توجه بالاتری نسبت به گروهِ کنترل (0.85 ± 32.60) داشتند. BMI در گروهِ PCOS + متفورمین در مقایسه با گروهِ PCOS درمان‌نشده به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافت ($p < 0.001$) (جدول ۱).

ارزیابی‌های هورمونی نشان دادند که سطحِ هورمون در بین گروه‌ها متفاوت است. گروهِ PCOS سطحِ FSH کمی پایین‌تری نسبت به گروهِ کنترل داشت. همان‌طور که در جدولِ ۱ نشان داده شده است درمان با متفورمین، سطحِ FSH را در گروهِ PCOS + متفورمین افزایش داد و از گروهِ کنترل بیشتر شد، اگرچه این تغییرها از نظرِ آماری معنی‌دار نبودند ($p > 0.05$). در مقابل، سطحِ LH در گروهِ PCOS به‌طورِ معنی‌داری بالاتر از گروهِ کنترل بود. درمان با متفورمین منجر به کاهشِ جزییِ سطحِ LH در گروهِ PCOS + متفورمین شد. بااین‌حال، این سطوح به‌طورِ معنی‌داری بالاتر از گروهِ کنترل باقی ماند ($p < 0.001$). نسبتِ LH/FSH در گروهِ PCOS در مقایسه با گروهِ کنترل به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.001$). درحالی‌که درمان با متفورمین این نسبت را در بیمارانِ PCOS کاهش داد، امّا همچنان بالاتر از گروهِ کنترل باقی

ماند ($p < 0.001$). به‌طور مشابه، سطحِ PRL در گروهِ PCOS در مقایسه با گروهِ کنترل به‌طورِ قابل‌توجهی افزایش یافت ($p < 0.01$). درمان با متفورمین به‌طورِ مؤثری سطحِ PRL را در گروهِ PCOS + متفورمین در مقایسه با گروهِ PCOS درمان‌نشده کاهش داد ($p < 0.001$)، اگرچه این سطوح هنوز از مقادیرِ مشاهده‌شده در گروهِ کنترل بیشتر بود ($p < 0.01$). برعکس، سطحِ AMH در گروهِ PCOS به‌طور قابل‌توجهی بالاتر از گروهِ کنترل بود ($p < 0.001$)؛ بااین‌حال، درمان با متفورمین هیچ تأثیرِ قابل‌توجهی بر سطحِ AMH در گروهِ PCOS + متفورمین نداشت. سطحِ انسولینِ ناشتا تفاوتِ معنی‌داری را بین سه گروه نشان داد. مقادیرِ HOMA-IR در گروهِ PCOS به‌طورِ معنی‌داری بالاتر بود ($p < 0.001$)، امّا پس از درمان با متفورمین در گروهِ PCOS + متفورمین به‌طورِ قابل‌توجهی کاهش یافت ($p < 0.001$). نکتهٔ قابل‌توجه این است که تفاوتِ معنی‌داری در سطحِ HOMA-IR بین گروه‌های PCOS و PCOS + متفورمین وجود داشت ($p < 0.001$).

۳-۲ | ارزیابیِ سطوحِ پروتئینِ IGF1 در سرم، مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوس در گروه‌های کنترل، PCOS و PCOS+متفورمین

مطابقِ شکلِ ۱ در گروهِ PCOS، غلظتِ پروتئینِ IGF1 در سرم و مایعِ فولیکولی به‌طورِ قابل‌توجهی بالاتر از گروهِ کنترل بود ($p < 0.001$)، درحالی‌که میانگینِ سطحِ پروتئین در سلول‌های کومولوس به‌طورِ معناداری پایین‌تر بود. در مایعِ فولیکولیِ گروهِ PCOS+متفورمین، غلظتِ پروتئینِ IGF1 در مقایسه با گروهِ PCOS درمان‌نشده بدون تغییر بود، درحالی‌که در گروهِ سرم به‌طورِ قابل‌توجهی پایین‌تر بود و برعکس، در سلول‌های کومولوس به‌طورِ قابل‌توجهی بالاتر از گروهِ PCOS درمان‌نشده بود ($p < 0.001$). به‌علاوه، سطوحِ پروتئین در مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوسِ گروهِ PCOS + متفورمین نسبت به سرم بالاتر بود امّا در گروهِ PCOS نسبت به سرم پایین‌تر بود: به‌ترتیب ($p < 0.001, p < 0.01, p < 0.01, p < 0.01$).

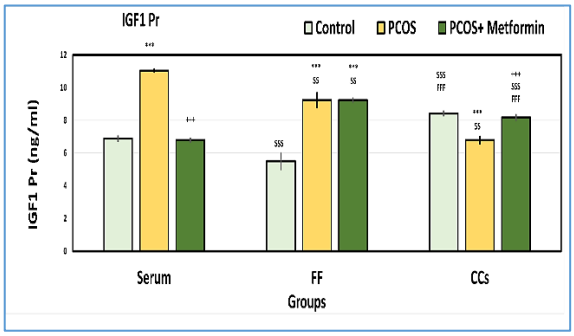
جدول ۱- مقایسهٔ پارامترهای مختلف در گروه‌های کنترل، PCOS، PCOS+Metform.

پارامترها	کنترل (n=30)	PCOS (n=30)	PCOS+Metformin (n=30)
Age (years)	32.60 ± 0.85	32.16 ± 0.96	30.96 ± 0.88
BMI (kg/m2)	23.39 ± 0.20	35.83 ± 0.68 ***	27.58 ± 0.19 *** +++
FSH (IU/L)	5.14 ± 0.25	4.87 ± 0.20	5.40 ± 0.26
LH (IU/L)	5.84± 0.41	15.73± 0.50 ***	14.42± 0.55***
LH/FSH	1.17 ± 0.10	3.24± 0.08***	2.68 ± 0.05 ***
PRL (ng/mL)	12.59 ± 0.83	31.84 ± 1.68**	18.67 ± 1.57 +++**
AMH (ng/mL)	3.65 ± 0.30	12.21 ± 0.55***	12.39 ± 0.62***
Insulin Fasting (m IU/L)	4.04 ± 0.34	38.64 ± 1.38 ***	27.48 ± 0.23+++***
HOMA IR	2 ± 0.17	4 ± 0.16 ***	2 ± 0.8+++

پارامترهای مختلف در گروه‌های کنترل، PCOS و PCOS + متفورمین که تحت ICSI قرار گرفتند، مقایسه شدند. بر اساس آنالیز واریانس یک‌طرفه، تفاوت‌های معنی‌داری بین گروه‌ها وجود داشت. BMI، شاخص تودهٔ بدنی؛ FSH، هورمون محرّک فولیکول؛ LH، هورمون لوتئینی‌کننده؛ PRL، پرولاکتین؛ AMH، هورمون آنتی‌مولرین؛ HOMA-IR، ارزیابی مدل هموستاتیک برای مقاومت به انسولین. نتایج به‌صورت میانگین ± SEM ارائه شده است.

مقایسه با گروه کنترل، $p < 0.001$***، $p < 0.01$**، $p < 0.05$*.

مقایسهٔ گروه PCOS + متفورمین با PCOS، $p < 0.001$ $^{+++}$.



شکل ۱- سطحِ پروتئینِ IGF1 در سرم، مایعِ فولیکولی (FF) و سلول‌های کومولوس (CCs) در گروه‌های کنترل، PCOS و PCOS+Metformin.

بیمارانِ مبتلا به PCOS افزایشِ معنی‌دارِ IGF1 را در سرم و FF و کاهشِ معنی‌دارِ آن را در CCs نسبت به گروهِ کنترل نشان دادند. درمان با متفورمین سطحِ سرمیِ IGF1 را کاهش و سطحِ آن را در CCs افزایش داد، درحالی‌که بر غلظتِ پروتئینِ IGF1 در FF تأثیرِ معنی‌داری نداشت. سطوحِ پروتئین در مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوسِ گروهِ PCOS نسبت به سرم پایین‌تر، امّا در گروهِ PCOS+متفورمین نسبت به سرم بالاتر بود. داده‌ها به‌صورتِ میانگین ± انحراف معیار ارائه شده‌اند.

مقایسه نسبت به گروهِ کنترل $p < 0.001$***،

مقایسه نسبت به گروهِ PCOS $p < 0.001$ $^{+++}$،

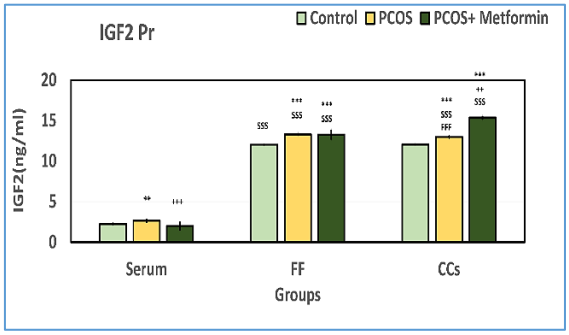
مقایسه نسبت به سرم $p < 0.05$ ^{ss}،

مقایسه نسبت به سرم $p < 0.001$ ^{sss}،

مقایسه نسبت به مایعِ فولیکولی $p < 0.001$ ^{fff}.

۳-۳ | ارزیابیِ سطوحِ پروتئینِ IGF2 در سرم، مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوس در گروه‌های کنترل، PCOS و PCOS + متفورمین

بر اساس شکلِ ۲ غلظتِ پروتئینِ IGF2 در سرم، مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوسِ گروهِ PCOS در مقایسه با گروهِ کنترل به‌طورِ معنی‌داری بالاتر بود (به‌ترتیب $p < 0.01$، $p < 0.001$، $p < 0.001$). بااین‌حال، درمان با متفورمین به‌طورِ قابل‌توجهی سطحِ پروتئینِ IGF2 سرم را در گروهِ PCOS + متفورمین در مقایسه با گروهِ PCOS درمان‌نشده کاهش داد. در FF و CCs، غلظتِ پروتئینِ IGF2 در گروه‌های PCOS + متفورمین در مقایسه با گروهِ کنترل به‌طورِ قابل‌توجهی افزایش داشت ($p < 0.001$). علاوه‌بر این، سطحِ پروتئینِ IGF2 در سلول‌های کومولوس در گروهِ PCOS + متفورمین در مقایسه با گروهِ PCOS درمان‌نشده به‌طورِ قابل‌توجهی بالاتر بود ($p < 0.01$). در گروهِ PCOS + متفورمین، سطحِ پروتئینِ IGF2 در سلول‌های کومولوس و مایعِ فولیکولی در مقایسه با سرم به‌طورِ قابل‌توجهی افزایش یافت. به‌طورِ مشابه، سطحِ پروتئینِ IGF2 در سلول‌های کومولوس و مایعِ فولیکولی در گروهِ PCOS در مقایسه با سرم افزایش یافت ($p < 0.001$). سطحِ پروتئینِ IGF2 در مایعِ فولیکولی در گروهِ کنترل در مقایسه با سرم افزایش یافت ($p < 0.001$).



شکل ۲- مقایسهٔ غلظتِ پروتئینِ IGF2 در سرم، مایعِ فولیکولی (FF) و سلول‌های کومولوس (CCs) در گروه‌های کنترل، PCOS و PCOS+متفورمین.

سطحِ پروتئینِ IGF2 در هر سه نمونهٔ موردبررسی در گروهِ PCOS نسبت به گروهِ کنترل به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافت. درمان با متفورمین موجبِ کاهشِ معنی‌دارِ سطحِ سرمیِ IGF2 در مقایسه با گروهِ PCOS درمان‌نشده در گروهِ سرم شد. بااین‌حال، غلظتِ IGF2 در مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوس در گروهِ PCOS+متفورمین همچنان نسبت به گروهِ کنترل بالاتر بود و در سلول‌های کومولوس حتی از گروهِ PCOS درمان‌نشده نیز بیشتر بود. همچنین، در هر دو گروهِ PCOS وPCOS+متفورمین، سطحِ IGF2 در مایعِ فولیکولی و سلول‌های کومولوس نسبت به سرم

به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافت. داده‌ها به‌صورتِ میانگین ±انحراف معیار ارائه شده‌اند.

مقایسه نسبت به گروهِ کنترل $p < 0.001$***،

مقایسه نسبت به گروهِ کنترل $p < 0.01$**،

مقایسه نسبت به گروهِ PCOS $p < 0.001$+++،

مقایسه نسبت به گروهِ PCOS $p < 0.01$++،

مقایسه نسبت به سرم $p < 0.001$sss،

مقایسه نسبت به مایعِ فولیکولی $p < 0.001$fff.

۴| بحث

مطالعهٔ حاضر با هدفِ بررسیِ اثرِ متفورمین بر بیانِ پروتئین‌های IGF-1 و IGF-2 در سرم، مایعِ فولیکولی (FF) و سلول‌های کومولوس (CCs) در بیمارانِ مبتلا به PCOS تحتِ درمان با تزریقِ داخلِ سیتوپلاسمیِ اسپرم (ICSI) انجام شد. نتایجِ مطالعه نشان دادند که اختلال در محورِ انسولین-IGF یکی از مکانیسم‌های کلیدی در پاتوفیزیولوژیِ PCOS بوده و متفورمین می‌تواند از طریقِ تعدیلِ این محور، در بهبودِ محیطِ فولیکولی و عملکردِ تخمدان نقشِ مؤثری ایفا کند.

اختلالاتِ هورمونی و بیوشیمیایی در زنانِ مبتلا به PCOS که شاملِ افزایشِ سطحِ FSH، LH، PRL، انسولین و AMH، همراه با BMI بالاتر می‌باشد. اختلالاتِ متابولیک در بیمارانِ PCOS به‌طور مستقیم بر رشدِ تخمدان تأثیر می‌گذارد که توسطِ عواملِ داخلی و خارجی تنظیم می‌شود. عواملِ داخلی شاملِ فاکتورهای رشد، سایتوکین‌ها و اینهیبین در مایعِ فولیکولی هستند، درحالی‌که عواملِ خارجی مانندِ کمبودِ FSH، تولیدِ بیش از حدِ LH، افزایشِ سطحِ آندروژن، مقاومت به انسولین و هیپرانسولینمی این وضعیت را تشدید می‌کنند (۲۲).

در مطالعهٔ حاضر، شاخصِ تودهٔ بدنی (BMI) در زنانِ مبتلا به PCOS به‌طورِ قابل‌توجهی بالاتر بود که نشان‌دهندهٔ اختلالاتِ متابولیکی است که معمولاً با این بیماری مرتبط است. درمان با متفورمین به‌طورِ مؤثری BMI را در گروهِ PCOS + متفورمین در مقایسه با گروهِ PCOS کاهش داد (۲۳). این یافته‌ها با پژوهش‌های گراف اس‌کا[1] و همکارانش در سالِ ۲۰۱۶ همسو است که نشان دادند درمان با متفورمین در زنانِ دارای اضافه‌وزن یا چاقِ مبتلا به PCOS می‌تواند BMI و سلامتِ متابولیک، از جمله آندروژن را بهبود بخشد (۲۴).

در بخشِ دیگری از مطالعه، مشاهده شد که سطحِ FSH در هر دو گروهِ PCOS نسبت به گروهِ کنترل افزایش یافته است. بااین‌حال، پس از درمان با متفورمین، کاهشِ معنی‌داری در سطحِ FSH در گروهِ PCOS+متفورمین مشاهده شد. این یافته نشان‌دهندهٔ اثرهای تعدیل‌کنندهٔ هورمونیِ متفورمین است که می‌تواند در بهبودِ نتایجِ تولیدمثلیِ بیمارانِ مبتلا به PCOS نقش داشته باشد (۲۵، ۲۶).

علاوه‌بر این، سطحِ LH در هر دو گروهِ PCOS در مقایسه با گروهِ کنترل به‌طورِ معنی‌داری بالاتر بود، درحالی‌که در گروهِ متفورمین+ PCOS کاهشِ قابل‌توجهی مشاهده شد. این نتایج با مطالعه‌های پیشین مبنی‌بر اثربخشیِ متفورمین در تنظیمِ سطحِ LH و بهبودِ تعادلِ هورمونی و تخمک‌گذاری مطابقت دارد (۲۷). کاهشِ هم‌زمانِ سطحِ FSH و LH پس از درمان با متفورمین، نقشِ چندبُعدیِ این دارو را در مدیریتِ اختلالاتِ غددِ درون‌ریز در بیمارانِ PCOS نشان می‌دهد.

در مطالعهٔ حاضر، نسبتِ LH/FSH که یکی از شاخص‌های تشخیصیِ PCOS محسوب می‌شود، در گروهِ PCOS درمان‌نشده نسبت به گروهِ کنترل به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافته بود. اگرچه درمان با متفورمین موجبِ کاهشِ این نسبت در گروهِ متفورمین+ PCOS شد، امّا این کاهش از نظرِ آماری معنی‌دار نبود. باوجوداین، روندِ نزولیِ مشاهده‌شده نشان می‌دهد که متفورمین ممکن است در کاهشِ عدم‌تعادلِ هورمونیِ مرتبط با PCOS مؤثر باشد (۲۷، ۲۸). در مجموع، این یافته‌ها بر نقشِ متفورمین به‌عنوانِ یک عاملِ درمانیِ مؤثر در اصلاحِ ناهنجاری‌های غددِ درون‌ریز و متابولیکِ بیمارانِ PCOS تأکید می‌کند.

افزایشِ سطحِ PRL در زنانِ مبتلا به PCOS با یافته‌های سان[2] و همکاران (۲۰۱۵) مطابقت دارد که گزارش کردند متفورمین می‌تواند سطحِ PRL را کاهش دهد (۲۲)، همچنین افزایشِ سطحِ AMH در بیمارانِ PCOS بیانگرِ نقشِ آن به‌عنوانِ شاخصِ ذخیرهٔ تخمدانی است. کاهشِ سطحِ AMH پس از درمان با متفورمین در مطالعهٔ حاضر با نتایجِ Zhou و همکاران (۲۰۲۳) در موردِ اثرهای متفورمین بر هورمونِ آنتی‌مولرین در بیمارانِ مبتلا به PCOS هم‌خوانی داشت (۲۹).

[1] Graff SK

[2] Sun

یافته‌های این مطالعه نشان دادند که سطحِ انسولین در بیمارانِ مبتلا به PCOS به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافته است و درمان با متفورمین توانست این افزایش را به‌طورِ مؤثری کاهش دهد. این نتایج با مطالعه‌های Attia و همکاران (۲۰۲۳) مطابقت دارد که نشان دادند متفورمین از طریقِ بهبودِ حساسیت به انسولین، بازیابیِ چرخهٔ قاعدگی، تحریکِ تخمک‌گذاری و درمانِ ناباروری نقش مؤثری ایفا می‌کند (۲۶). همچنین مطالعه‌ها نشان داده‌اند که متفورمین از طریقِ مسیرِ سیگنالینگِ PI3K/AKT/mTOR به‌طورِ مؤثر هیپرانسولینمی را کاهش داده و پیامدهای متابولیک و تولیدمثلی را بهبود می‌بخشد و در عین حال می‌تواند خطرهای بلندمدت مانند دیابت و بیماری‌های قلبی-عروقی را نیز کاهش دهد (۳۰، ۳۱).

در مطالعهٔ حاضر، سطحِ انسولین در گروهِ PCOS درمان‌نشده به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافته بود که بیانگرِ مقاومت به انسولین است. بااین‌حال، درمان با متفورمین منجر به کاهشِ معنی‌دارِ سطحِ انسولین در گروهِ PCOS+متفورمین نسبت به گروهِ درمان‌نشده شد. علاوه‌بر این، بررسیِ شاخصِ HOMA-IR مقاومت به انسولینِ قابل‌توجهی را در گروهِ PCOS نسبت به گروهِ کنترلِ سالم نشان داد ($p < 0.001$) (۳۲). این یافته‌ها با نتایجِ Shaker و همکاران (۲۰۱۰) همسو است که نقشِ حیاتیِ متفورمین را در بهبودِ اومنتین-۱، گرلین و سایرِ ویژگی‌های بیوشیمیایی و بالینی در زنانِ هیپرانسولینمیکِ مبتلا به PCOS گزارش کردند (۳۳).

مقایسهٔ سطحِ پروتئینِ IGF-1 نشان داد که غلظتِ این پروتئین در سرم و مایعِ فولیکولیِ گروهِ PCOS نسبت به گروهِ کنترل، به‌ویژه در زنانِ دارایِ BMI بالا، به‌طورِ معنی‌داری افزایش یافته است. این افزایش به‌احتمال بازتابی از پاسخِ جبرانی به اختلالاتِ متابولیک و هورمونی در بیمارانِ مبتلا به PCOS است. افزایشِ سطحِ IGF-1 ممکن است با هدفِ مقابله با مقاومت به انسولین و تحریکِ رشدِ فولیکولی رخ دهد، امّا این پاسخ به‌نظر می‌رسد ناکارآمد بوده و در نهایت به فولیکولوژنزِ غیرطبیعی در PCOS منجر می‌شود (۳۴). یافته‌های حاضر با نتایجِ برکر[1] و همکاران که سطحِ بالاترِ IGF-1 را در زنانِ مبتلا به PCOS گزارش کردند، مطابقت دارد (۳۵، ۳۶).

در مقابل، سطحِ پروتئینِ IGF-1 در سلول‌های کومولوسِ گروهِ PCOS به‌طورِ معنی‌داری کمتر از گروهِ کنترل بود. این موضوع نشان می‌دهد که سنتز یا عملکردِ IGF-1 در محیطِ تخمدانی مختل شده و ممکن است موجبِ کاهشِ رشدِ فولیکول و اُفتِ کیفیتِ اووسیت شود. ازآنجاکه IGF-1 در تکثیر و تمایزِ سلول‌های گرانولوزا نقشِ حیاتی دارد، کاهشِ بیانِ آن در سلول‌های کومولوس احتمالاً در اختلالِ فولیکولوژنز و کاهشِ کیفیتِ تخمک در بیمارانِ PCOS مؤثر است (۳۷، ۳۸).

بررسیِ سطحِ پروتئین نشان داد که درمان با متفورمین سببِ کاهشِ سطحِ IGF-1 سرمی در گروهِ PCOS+متفورمین نسبت به گروهِ PCOS شد. بااین‌حال، سطحِ IGF-1 در مایعِ فولیکولی بینِ دو گروهِ PCOS و متفورمین+PCOS تفاوتِ معنی‌داری نداشت و همچنان نسبت به گروهِ کنترل بالا باقی ماند. کاهشِ سطحِ IGF-1 پس از درمان با متفورمین بیانگرِ اثرِ اصلاحیِ این دارو بر مسیرِ سیگنالینگِ IGF-1 است. این تعدیل می‌تواند موجبِ بهبودِ محیطِ فولیکولی و کیفیتِ اووسیت در بیمارانِ مبتلا به PCOS شود (۳۶).

متفورمین از طریقِ فعال‌سازیِ پروتئینِ کینازِ فعال‌شونده با AMP (AMPK) حساسیت به انسولین را افزایش داده، هیپرانسولینمی را کاهش می‌دهد و مسیرهای طبیعیِ سیگنالینگِ انسولین IGF-1 را بازیابی می‌کند. در نتیجه، بیانِ mRNA مربوط به IGF-1در سرم و بافتِ تخمدانی (FF و CCs) کاهش یافته و محیطِ تخمدانیِ سالم‌تری برای رشدِ فولیکول و بلوغِ اووسیت فراهم می‌شود. IGF-1 نقشِ مهمی در تکثیرِ سلول‌های گرانولوزا، تشکیلِ کمپلکسِ کومولوس-اووسیت و فولیکولوژنز دارد.

همچنین، تفاوتِ معنی‌داری در سطحِ پروتئینِ IGF-2 در سرم و سلول‌های کومولوسِ گروهِ متفورمین+PCOS نسبت به گروهِ PCOS مشاهده شد. این یافته نشان می‌دهد که متفورمین از طریقِ بهبودِ حساسیت به انسولین و کاهشِ هیپرانسولینمی می‌تواند تنظیمِ IGF-2 را تعدیل کند. متفورمین با فعال‌سازیِ مسیرِ AMPK عملکردِ طبیعیِ محورِ انسولین-IGF را بازیابی کرده و بیانِ پروتئینِ IGF-2 را در سرم، فولیکول‌ها و سلول‌های تخمدانی کاهش می‌دهد.

IGF-2 نیز همانندِ IGF-1 در تکثیرِ سلول‌های گرانولوزا، بلوغِ اووسیت و رشدِ فولیکولی نقشِ اساسی دارد (۳۹، ۴۰). مطالعه‌های جدید نشان داده‌اند که متفورمین با کاهشِ نقشِ IGF-2 در افزایشِ تکثیرِ سلولی و مهارِ آپوپتوز، سطحِ این پروتئین را در سرم به‌ویژه در زنانِ با BMI بالا، کاهش می‌دهد (۴۰، ۴۱).

نتایجِ این مطالعه نشان دادند که سطحِ پروتئینِ IGF-2 در مایعِ فولیکولی هر دو گروهِ PCOS و متفورمین+PCOS نسبت به گروهِ

[1] Berker

کنترل به‌طورِ معنی‌داری بالاتر است. افزایشِ سطحِ IGF-2 در گروهِ PCOS احتمالاً نشان‌دهندهٔ اختلال در مکانیسم‌های تنظیمیِ موضعیِ این فاکتور است که می‌تواند در اختلالِ پویاییِ فولیکولیِ مشاهده‌شده در PCOS نقش داشته باشد. جالبِ توجه اینکه افزایشِ بیشترِ غلظتِ IGF-2 در مایعِ فولیکولیِ گروهِ متفورمین+PCOS نسبت به گروهِ کنترل نشان می‌دهد که متفورمین ممکن است فعالیتِ IGF-2 را در محیطِ فولیکولی تقویت کند. این اثر می‌تواند در بهبودِ سلامتِ فولیکول‌ها و کیفیتِ اووسیت مؤثر باشد (۴۲).

در مطالعهٔ حاضر، سطحِ پروتئینِ IGF-2 در سلول‌های تخمدانیِ گروهِ PCOS نسبت به گروهِ کنترل افزایش یافته بود که می‌تواند بیانگرِ یک مکانیسمِ جبرانی در فولیکول برای مقابله با اثرهای منفیِ PCOS باشد (۴۳). مطالعه‌های وتیلینن[1] و همکاران نیز افزایش سطحِ IGF-2 در سلول‌های تخمدانی را تأیید کرده‌اند. این یافته‌ها بر نقشِ محوریِ IGF-2 در سیستمِ IGF تخمدانی و اهمیتِ آن در حمایت از عملکردِ سلول‌های گرانولوزا، فولیکولوژنز و بلوغِ اووسیت تأکید دارند (۴۴).

در نهایت، انجامِ مطالعه‌های آینده‌نگر برای تعیینِ غلظتِ بهینهٔ IGF-1 در سرم و مایعِ فولیکولی به‌منظورِ حمایت از بلوغِ اووسیت و دستیابی به جنین‌های باکیفیت، ضروری به‌نظر می‌رسد. بااین‌حال، مطالعهٔ حاضر دارای محدودیت‌هایی بود که باید در تفسیرِ نتایج موردتوجه قرار گیرد؛ نخست، عواملِ مرتبط با سبکِ زندگی از جمله رژیم‌غذایی، میزانِ پایبندی به مصرفِ متفورمین و سطحِ فعالیتِ بدنی به‌طورِ کامل کنترل نشدند که این موضوع می‌تواند بر کاهشِ مشاهده‌شده در شاخصِ تودهٔ بدنی (BMI) تأثیرگذار بوده باشد. علاوه‌بر این، کوتاه بودنِ مدتِ درمان با متفورمین (چهار هفته) ممکن است مانع از مشاهدهٔ کاملِ اثرهای درمانیِ این دارو شده باشد. بنابراین، انجامِ مطالعه‌های آینده با دورهٔ مداخلهٔ طولانی‌تر و گروه‌های کنترلِ همسان از نظرِ BMI برای تأییدِ یافته‌های حاضر توصیه می‌شود.

۵| نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اختلال در محور انسولین ـIGF نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دارد و تغییرات بیان پروتئین‌های IGF-1 و IGF-2 در سرم، مایع فولیکولی و سلول‌های کومولوس می‌تواند با اختلال فولیکولوژنز، کاهش کیفیت اووسیت و ناباروری در این بیماران مرتبط باشد. افزایش سطح IGF-1 و IGF-2 در بیماران مبتلا به PCOS بیانگر برهم خوردن تعادل متابولیک و هورمونی و ایجاد ریزمحیط غیرطبیعی در فولیکول‌های تخمدانی است. با این حال، انجام مطالعات گسترده‌تر برای روشن شدن دقیق مکانیسم‌های مولکولی مرتبط با محور IGF و ارتباط آن با کیفیت جنین و پیامدهای بارداری ضروری به نظر می‌رسد.

۶| ملاحظات اخلاقی

تمامیِ شرکت‌کنندگان رضایت‌نامهٔ آگاهانهٔ کتبی ارائه کردند و این مطالعه توسطِ کمیتهٔ اخلاق در پژوهش‌های انسانی با کُد IR.IAU.VARAMIN.REC.1401.009 موردتأیید قرار گرفت.

۷| تشکر و قدر دانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامهٔ تخصصی می‌باشد و بدین وسیله نویسندگان از مرکزِ درمانِ ناباروریِ بیمارستانِ صارمِ ایران قدردانی می‌کنند.

۸| تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچگونه تعارضِ منافعی وجود ندارد.

۹| سهم نویسندگان

زهرا کرمی: انجامِ پژوهش، تأمینِ منابعِ مالی، گردآوریِ داده‌ها، نرم‌افزار و نگارشِ پیش‌نویسِ اولیهٔ مقاله.

پروین خدارحمی: مفهوم‌سازی، آنالیزِ آماری، روش‌شناسی، مدیریتِ پروژه، نرم‌افزار، نظارت، بازبینی و ویرایشِ مقاله.

فرزانه تفویضی: مشاورهٔ پژوهش، آنالیزِ آماری.

معرفت نوین غفاری: آنالیزِ آماری.

۱۰| کد اخلاق

IR.IAU.VARAMIN.REC.1401.009

۱۱| استفاده از هوش مصنوعی

نویسندگان اعلام می‌دارند که از هوش مصنوعی در نگارش مقاله استفاده نشده است و اصالت نگارش علمی مقاله تایید می‌شود.

[1] Voutilainen

| Extended Abstract

The Role of Metformin in Modulating IGF1 and IGF2 Protein Expression in Patients with Polycystic Ovary Syndrome Undergoing Intracytoplasmic Sperm Injection |

Background and Aim: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the most common endocrine disorders in women of reproductive age and is associated with ovulatory dysfunction, infertility, hyperandrogenism, insulin resistance, and metabolic abnormalities. These disturbances may adversely affect follicular development and oocyte maturation. The insulin-like growth factor (IGF) system, particularly IGF-1 and IGF-2, plays an important role in ovarian function, granulosa cell activity, folliculogenesis, and oocyte development. Alterations in IGF signaling may contribute to the abnormal ovarian microenvironment observed in women with PCOS. Metformin, an insulin-sensitizing agent commonly prescribed for PCOS, may influence this system by improving metabolic and endocrine regulation. However, its effects on IGF-1 and IGF-2 protein levels in different biological compartments remain incompletely understood. This study aimed to investigate the association between metformin treatment and IGF-1 and IGF-2 protein levels in serum, follicular fluid (FF), and cumulus cells (CCs) of women with PCOS undergoing intracytoplasmic sperm injection (ICSI).

Materials and Methods: This case–control study included 90 women aged 20–35 years undergoing ICSI at Sarem Hospital, Tehran, Iran. Participants were divided into three groups: healthy controls (n = 30), women with untreated PCOS (n = 30), and women with PCOS receiving metformin treatment (n = 30). Samples were collected between November 2021 and March 2023. Metformin was prescribed by fertility specialists, with the daily dose gradually increased from 500 mg during the first week to 2,000 mg during the fourth week. Serum samples were collected before follicular aspiration. Follicular fluid was obtained during ultrasound-guided oocyte retrieval, and blood-contaminated samples were excluded. Cumulus cells were isolated from cumulus–oocyte complexes using hyaluronidase treatment and mechanical separation. IGF-1 and IGF-2 protein concentrations in serum, FF, and CCs were measured using enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA). Statistical analyses were performed using SPSS version 25. One-way analysis of variance followed by Tukey's post hoc test was used for group comparisons, and $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: IGF-1 protein levels showed distinct patterns across biological compartments. In women with untreated PCOS, IGF-1 concentrations were significantly higher in serum and FF but significantly lower in CCs than in controls ($p < 0.001$). In the metformin-treated group, serum IGF-1 levels were significantly lower than those in untreated PCOS, whereas FF levels remained largely unchanged. Conversely, IGF-1 levels in CCs were significantly higher in the metformin-treated group than in the untreated PCOS group ($p < 0.001$). IGF-2 concentrations were significantly elevated in serum, FF, and CCs in untreated PCOS compared with controls. Metformin treatment significantly reduced serum IGF-2 levels relative to untreated PCOS. Nevertheless, IGF-2 concentrations in FF and CCs remained significantly higher than those in controls ($p < 0.001$). Furthermore, IGF-2 levels in CCs were significantly higher in the metformin-treated group than in the untreated PCOS group ($p < 0.01$). These findings demonstrate that the changes associated with metformin differed between systemic circulation and the local ovarian environment. The findings indicate that PCOS is associated with compartment-specific alterations in IGF-1 and IGF-2 protein levels in serum, follicular fluid,

and cumulus cells. Metformin treatment was associated with reduced circulating IGF-1 and IGF-2 levels and altered protein profiles in cumulus cells, while elevated IGF-2 levels persisted in follicular fluid and cumulus cells.
Conclusion: These observations suggest that the systemic and local ovarian components of the IGF system may respond differently to metformin treatment. The findings provide additional insight into the potential relationship between metabolic regulation and ovarian growth-factor signaling in women with PCOS undergoing ICSI. However, because of the observational design and relatively short treatment period, causal effects of metformin cannot be established. Further prospective studies with larger sample sizes, longer treatment periods, and direct assessment of oocyte quality, embryo development, implantation, and pregnancy outcomes are required to clarify the clinical significance of these changes.

| Keywords
PCOS, IGF1 Protein, IGF2 Protein, ICSI

| منابع

1. Mai Z, Liu M, Pan P, Li L, Huang J, Chen X. Comparison of cumulative live birth rate between aged PCOS women and controls in IVF/ICSI cycles. Front Endocrinol (Lausanne). 2021; 12: 724333. 2021.
2. Qiao J, Feng HL. Extra-and intra-ovarian factors in polycystic ovary syndrome: impact on oocyte maturation and embryo developmental competence. Human reproduction update. 2011;17(1):17-33.
3. Cui Y, Shi Y, Cui L, Han T, Gao X, Chen Z-J. Age-specific serum antimüllerian hormone levels in women with and without polycystic ovary syndrome. Fertility and sterility. 2014;102(1):230-6. e2.
4. Dumitrescu R, Mehedintu C, Briceag I, Purcarea V, Hudita D. The polycystic ovary syndrome: an update on metabolic and hormonal mechanisms. Journal of medicine and life. 2015;8(2):142.
5. Azziz R. PCOS: a diagnostic challenge. Reproductive biomedicine online. 2004;8(6):644-8.
6. Ferahtia A. See discussions, stats, and author profiles for this publication at: https://www. researchgate. net/publication/350567414 Surface water quality assessment in semi-arid region (el hodna watershed, algeria) based on water quality index (wqi). Université de M'sila. 2021.
7. BURGHEN GA, GIVENS JR, KITABCHI AE. Correlation of hyperandrogenism with hyperinsulinism in polycystic ovarian disease. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1980;50(1):113-6.
8. Giovanni Artini P, Monteleone P, Parisen Toldin MR, Matteucci C, Ruggiero M, Cela V, et al. Growth factors and folliculogenesis in polycystic ovary patients. Expert review of endocrinology & metabolism. 2007;2(2):215-23.
9. Erickson GF, Shimasaki S. The physiology of folliculogenesis: the role of novel growth factors. Fertility and sterility. 2001;76(5):943-9.
10. Hoeger KM, Dokras A, Piltonen T. Update on PCOS: consequences, challenges, and guiding treatment. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2021;106(3):e1071-e83.
11. Nawrocka-Rutkowska J, Ciecwiez S, Marciniak A, Brodowska A, Wisniewska B, Kotlega D, et al. Insulin resistance assessment in patients with polycystic ovary syndrome using different diagnostic criteria–impact of metformin treatment. Annals of Agricultural and Environmental Medicine. 2013;20(3).
12. Nowak K, Olejarz Z, Drygała Z, Wyrwał J, Zielińska Z, Słowik M, et al. Role of metformin in polycystic ovary syndrome. Journal of Education, Health and Sport. 2024;52:131-44.
13. LaMoia TE, Shulman GI. Cellular and molecular mechanisms of metformin action. Endocrine reviews. 2021;42(1):77-96.
14. Genazzani AD, Ricchieri F, Lanzoni C. Use of metformin in the treatment of polycystic ovary syndrome. Women's health. 2010;6(4):577-93.
15. Notaro ALG, Neto FTL. The use of metformin in women with polycystic ovary syndrome: an updated review. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2022;39(3):573-9.
16. Løvvik TS, Carlsen SM, Salvesen Ø, Steffensen B, Bixo M, Gómez-Real F, et al. Use of metformin to treat pregnant women with polycystic ovary syndrome (PregMet2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. The lancet Diabetes & endocrinology. 2019;7(4):256-66.
17. Chang RJ. A practical approach to the diagnosis of polycystic ovary syndrome. American journal of obstetrics and gynecology. 2004;191(3):713-7.
18. Gao R, Qin L, Li Z, Min W. The homeostasis model assessment of insulin resistance is a judgment criterion for metformin pre-treatment before IVF/ICSI and embryo transfer cycles in patients with polycystic ovarian syndrome. Frontiers in Endocrinology. 2023;14:1106276.
19. Nargund G, Waterstone J, Bland JM, Philips Z, Parsons J, Campbell S. Cumulative conception and live birth rates in natural (unstimulated) IVF cycles. Human Reproduction. 2001;16(2):259-62.
20. Jenabi M, Khodarahmi P, Tafvizi F, Bostanabad SZ. Evaluation of the potential of miR-21 as a diagnostic marker for oocyte maturity and embryo quality in women undergoing ICSI. Scientific Reports. 2023;13(1):1440.
21. Best D, Avenell A, Bhattacharya S. How effective are weight-loss interventions for improving fertility in women and men who are overweight or obese? A systematic review and meta-analysis of the evidence. Human reproduction update. 2017;23(6):681-705.
22. Sun X, Wu X, Zhou Y, Yu X, Zhang W. Evaluation of apelin and insulin resistance in patients with PCOS and therapeutic effect of drospirenone-ethinylestradiol plus metformin. Medical science monitor: international medical

journal of experimental and clinical research. 2015;21:2547.
23. Guan Y, Wang D, Bu H, Zhao T, Wang H. The effect of metformin on polycystic ovary syndrome in overweight women: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. International journal of endocrinology. 2020;2020(1):5150684.
24. Graff SK, Mario FM, Ziegelmann P, Spritzer PM. Effects of orlistat vs. metformin on weight loss-related clinical variables in women with PCOS: systematic review and meta-analysis. International journal of clinical practice. 2016;70(6):450-61.
25. Hu Y, Song X, Hamiti S, Ma Y, Yusufu M, Wang X, et al. Comparison of exenatide alone or combined with metformin versus metformin in the treatment of polycystic ovaries: a systematic review and meta-analysis. BMC Endocrine Disorders. 2023;23(1):250.
26. Attia GM, Almouteri MM, Alnakhli FT, Almouteri M, Alnakhli F. Role of metformin in polycystic ovary syndrome (PCOS)-related infertility. Cureus. 2023;15(8).
27. Kjøtrød S, von Düring V, Carlsen S. Metformin treatment before IVF/ICSI in women with polycystic ovary syndrome; a prospective, randomized, double blind study. Human Reproduction. 2004;19(6):1315-22.
28. Kaur S, Anjali G, Bhardwaj P, Taneja J, Singh R. Data in support of FSH induction of IRS-2 in human granulosa cells: Mapping the transcription factor binding sites in human IRS-2 promoter. Data in Brief. 2016;6:162-7.
29. Zhou Z, Chen H, Chu L, Zou Q, Chen Q, Yang J, et al. The effects of metformin on anti-Müllerian hormone levels in patients with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. Journal of Ovarian Research. 2023;16(1):123.
30. Xu B, Dai W, Liu L, Han H, Zhang J, Du X, et al. Metformin ameliorates polycystic ovary syndrome in a rat model by decreasing excessive autophagy in ovarian granulosa cells via the PI3K/AKT/mTOR pathway. Endocrine Journal. 2022;69(7):863-75.
31. Tong C, Wu Y, Zhang L, Yu Y. Insulin resistance, autophagy and apoptosis in patients with polycystic ovary syndrome: association with PI3K signaling pathway. Frontiers in endocrinology. 2022;13:1091147.
32. Fux Otta C, Wior M, Iraci GS, Kaplan R, Torres D, Gaido MI, et al. Clinical, metabolic, and endocrine parameters in response to metformin and lifestyle intervention in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, and placebo control trial. Gynecological Endocrinology. 2010;26(3):173-8.
33. Shaker M, Zohair IA, Mehdi AA. Effect of treatment with metformin on omentin-1, ghrelin and other biochemical, clinical features in PCOS patients. Oman medical journal. 2010;25(4):289.
34. Wu XK, Zhou SY, Liu JX, Pöllänen P, Sallinen K, Mäkinen M, et al. Selective ovary resistance to insulin signaling in women with polycystic ovary syndrome. Fertility and sterility. 2003;80(4):954-65.
35. Berker B, Emral R, Demirel C, Corapcioglu D, Unlu C, Kose K. Increased insulin-like growth factor-I levels in women with polycystic ovary syndrome, and beneficial effects of metformin therapy. Gynecological endocrinology. 2004;19(3):125-33.
36. Al-Deresawi MS, Al-Rekaabi AR, Edee AARKA. Evaluation of hormonal profile and insulin growth factor-1 gene expression before and after metformin treatment in women with polycystic ovary syndrome. Drug Invent Today. 2019;12(11).
37. Stubbs SA, Webber LJ, Stark J, Rice S, Margara R, Lavery S, et al. Role of Insulin-like growth factors in initiation of follicle growth in normal and polycystic human ovaries. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 2013;98(8):3298-305.
38. Li X, Lin S, Yang X, Chen C, Cao S, Zhang Q, et al. When IGF-1 meets metabolic inflammation and polycystic ovary syndrome. International Immunopharmacology. 2024;138:112529.
39. Palomba S, Falbo A, Orio F, Zullo F. Insulin-sensitizing agents and reproductive function in polycystic ovary syndrome patients. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. 2008;20(4):364-73.
40. Ünlühizarci K, Keleştimur F, Bayram F, Şahin Y, Tutuş A. The effects of metformin on insulin resistance and ovarian steroidogenesis in women with polycystic ovary syndrome. Clinical Endocrinology. 1999;51(2):231-6.
41. Xie Y, Wang Y-l, Yu L, Hu Q, Ji L, Zhang Y, et al. Metformin promotes progesterone receptor expression via inhibition of mammalian target of rapamycin (mTOR) in endometrial cancer cells. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. 2011;126(3-5):113-20.
42. Zhang D, Yang X, Li J, Yu J, Wu X. Effect of hyperinsulinaemia and insulin resistance on endocrine, metabolic and fertility outcomes in women with polycystic ovary syndrome

undergoing ovulation induction. Clinical Endocrinology. 2019;91(3):440-8.
43. Kwon H, Choi D-H, Bae J-H, Kim J-H, Kim Y-S. mRNA expression pattern of insulin-like growth factor components of granulosa cells and cumulus cells in women with and without polycystic ovary syndrome according to oocyte maturity. Fertility and sterility. 2010;94(6):2417-20.
44. Voutilainen R, Franks S, Mason HD, Martikainen H. Expression of insulin-like growth factor (IGF), IGF-binding protein, and IGF receptor messenger ribonucleic acids in normal and polycystic ovaries. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1996;81(3):1003-8.