مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره بیست و نهم، شماره دهم، دی ۱۴۰۰
تاریخ دریافت:۱۳۹۸/۰۵/۰۷
تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۰۷/۲۰

ارزیابی میزان بیان miR ۲۲۲– و همراهی آن با هورمون AMH جهت تشخیص زود هنگام علایم شبه سندرم تخمدان پلی‌کیستیک در پلاسما بیماران صرعی تحت درمان با والپرات سدیم: یک مطالعه مورد– شاهدی

محیا رجبی[۲و۱]، سیدمحسن میراسماعیلی[۱]، فاطمه منتظری[۲]، مهسا نصراصفهانی[۳]،
سید جلال ضیایی[۴]، سیدمهدی کلانتر[*۵]

مقاله پژوهشی

مقدمه: اختلال نورولوژی صرع، که با داروهایی مانند سدیم والپرات (یکی از اولویت‌های درمانی بیماران مبتلا به صرع) کنترل می‌شود. سندرم تخمدان پلی سیستیک (PCOS) یکی از عارضه‌های مصرف والپروات سدیم است. بیماران مبتلا به PCOs به طور مزمن تخمک‌گذاری نمی‌کنند، در نتیجه با عوارض جدی شامل: هیپرپلازی آندومتر به صورت آتیپیک و تیپیک، افزایش خطرکارسینوم آندومتر، دیابت شیرین و کاهش نرخ باروری روبه‌رو هستند. این مطالعه، مطابق با بررسی‌های بیوانفورماتیکی و مطالعات دیگرمبنی بر ارتباط ۲۲۲-miRNA با ژن‌های دخیل درPCOs و هایپرآندروژنیسم، برای ارزیابی رابطه ابتلا به PCOsدر بیماران تحت درمان با سدیم والپرات با مقایسه هم زمان فاکتور Anti-Mullerian Hormone و مارکر miRNA-۲۲۲ در بازه‌های زمانی خاصی طراحی شد.

روش بررسی: در این مطالعه موردی-شاهدی، ۳۳زن مبتلا به صرع قبل و بعد از مصرف دارو با توجه به معیارهای ورود و خروج انتخاب شدند. پس از خون‌گیری، پلاسمای آن‌ها جدا شد. مطابق دستورالعمل کیت، Total RNA استخراج و سنتز cDNA صورت گرفت و با تکنیک RT-qPCR بیان miRNA-۲۲۲ ارزیابی و تحلیل آماری توسط نرم‌افزار۱۶ SPSS version، آزمون‌های T-test و Anova انجام شد.

نتایج: نتایج، بیانگر تفاوت معنادار ($p<0/01$) میانگین بیان miRNA-۲۲۲ وAMH در افراد بیمار قبل از درمان نسبت به ۳ماه بعد از درمان می‌باشد. نتایج آزمون همبستگی پیرسون نشان داد که افزایش AMH با کاهش بیان miRNA-۲۲۲ ارتباط مستقیم دارد ($p<0/01$).

نتیجه‌گیری: مطابق با نتایج مطالعه حاضر می توان جهت کنترل بهتر عوارض احتمالی دارو، احتمالاً تعویض به موقع دارو و هم‌چنین تشخیص زود هنگام PCOs (علائم شبه PCOs)، از ارزیابی تغییرات بیان miRNA-۲۲۲ هم زمان با سنجش AMHاستفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: صرع، سدیم والپرات، miRNA-۲۲۲ ، PCOs، AMH

IRCT20190213042701N1

ارجاع: رجبی محیا، میراسماعیلی سیدمحسن، کلانتر سیدمهدی، نصراصفهانی مهسا، ضیایی سید جلال. **ارزیابی میزان بیان miR ۲۲۲– و همراهی آن با هورمون AMH جهت تشخیص زودهنگام علایم شبه PCOS در پلاسما بیماران صرعی تحت درمان با والپرات سدیم: یک مطالعه مورد– شاهدی.** مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۴۰۰؛ ۲۹ (۱۰): ۴۲۰۸-۴۱۹۸.

۱-گروه زیست شناسی، دانشگاه علم و هنر، یزد، ایران.
۲- مرکزتحقیقات سقط، پژوهشکده علوم تولید مثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۳-گروه آموزشی بیوشیمی، دانشگاه پیام نور تفت، یزد، ایران.
۴- گروه نورولوژی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
۵-مرکزتحقیقات ناباروری، پژوهشکده علوم تولید مثل یزد، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۱۳۱۵۱۸۹۱۸، پست الکترونیکی: smkalantar@yahoo.com ، صندوق پستی: ۸۹۱۶۸۷۷۳۹۱

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]
[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

مقدمه

صرع بیماری عصبی و مزمنی است که حداقل ۵۰ میلیون نفر در سرار دنیا به آن مبتلا هستند، مهم‌ترین مشخصه آن تشنجات بدون تحریک و مکرر است که با دارو کنترل می‌شود همچنین در موارد مقاوم به دارو نیاز به جراحی پیشنهاد می‌شود. کنترل حملات صرع با تجویز بیش از ۱۵ نوع داروی ضد صرع دردسترس انجام می‌شود. در این بیماران یکی از اولویت‌های درمانی، داروی سدیم‌والپرات بوده، که دارای فعالیت ضدتشنجی و تثبیت‌کننده خلق و خو می‌باشد همچنین کاربرد فراوانی در نوروپاتوفیزیولوژی شامل: صرع، اختلالات دوقطبی، سردردهای میگرنی، دردهای عصبی مزمن دارد. این دارو با تنظیم سطح گاما بوتیریک اسید و فعالیت کانال سدیمی، سبب مهار فعالیت بیش ازحد نورون‌ها می‌شود. در مطالعات پیشین ثابت شده است که سدیم‌والپرات می‌تواند عوارض جانبی روی هورمون‌ها و نیزتاثیر نامطلوبی روی زندگی فرد ازجمله: افزایش ریسک ابتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک، کاهش املاح معدنی دراستخوان‌ها و کاهش باز جذب کلسیم در استخوان‌ها، کاهش عملکرد جنسی به همراه داشته باشد. همچنین در افراد مسن نیز با ریسک پارکینسون برگشت‌پذیر و اختلالات شناختی حاصل از آن روبه‌رو خواهیم بود (۱). در بعضی مقالات روانپزشکی و نورولوژی، سندرم تخمدان پلی‌سیستیک (Polycystic Ovary Syndrome) به‌عنوان یکی از عارضه‌های مصرف دراز مدت والپروات‌سدیم شناخته می‌شود. این سندرم که شایع‌ترین اختلال غدد درون‌ریز در زنان در سن باروری است، که به‌صورت اختلال عملکرد تخمک‌گذاری، سطح بالای آندروژن بالینی (هیرسوتیسم) و بیوشیمیایی (هورمون‌های مرتبط) و تخمدان‌های پلی‌کیستیک (با تشخیص سونوگرافی) در بیماران دیده می‌شود، که در نتیجه آن با عوارض جدی شامل: هیپرپلازی آندومتر به صورت آتیپیک و تیپیک، افزایش خطر کارسینوم آندومتر، احتمالاً سرطان پستان، چاقی، افزایش خطر بیماری قلبی و عروقی و افزایش خطر دیابت شیرین (T۲DM) روبه‌رو هستند، همچنین در نهایت نیز، این بیماران با کاهش نرخ باروری روبه‌رو خواهند بود (۲). افزایش هورمون AMH ((anti-mullerian hormone نیز در بیماران مبتلا به PCOS (Polycystic Ovary Syndrome) گزارش شده و همچنین از آن به عنوان یک نشانگر افزایش ذخیره تخمدانی یاد می‌شود (۳). AMH یک هورمون گلیکوپروتئینی و عضوی از فاکتور رشد-بتا است که توسط سلول گرانولوزای تخمدان تولید می‌شود. از نقش‌های اصلی فیزیولوژیکی AMHمی‌توان به تعدیل عملکرد FSH (Follicle-stimulating hormone) دراوایل رشد فولیکولی اشاره کرد. در دوران بلوغ نیز افزایش ترشح آن، از سلول‌های گرانولوزای فولیکول‌های در حال رشد تخمدان و کاهش سطح آن در طی سال‌های باروری را خواهیم داشت. به‌طوری‌که پس از یائسگی به علت تهی شدن تخمدان از فولیکول‌های در حال رشد میزان سرمی آن بسیار ناچیز می‌باشد (۴). سطح سرمی AMH با تعداد فولیکول‌های اولیه مرتبط است و در مقایسه با میزان هورمون‌های LH(luteinizing hormone)، FSH، استرادیول، Inhibine B(در سومین روز سیکل ماهیانه) از اختصاصیت بالاتری برخوردار است (۵). در زنان مبتلا به PCOs سطح هورمون AMH نسبت به زنان سالم افزایش چشمگیری دارد (۶). همچنین مطالعات نشان داده است که سطح AMH سرم با تعداد فولیکول آنترال تخمدان (AFC) در زنان مبتلا به PCOS مرتبط است (۷). همچنین مطالعات نشان دادکه سطح AMH، ارتباطی قوی با هایپرآندروژنیسم و AFC دارد. بنابراین می‌توان از سطح AMH به عنوان یک ابزار جایگزین،PCOM (Polycystic Ovary Morphology) در سونوگرافی به منظور تشخیصPCOS استفاده کرد (۸). به نظر می‌رسد استعدادهای ژنتیکی افراد در خصوص پاسخ به درمان دارویی می‌تواند متفاوت باشد (۹). این تحقیق برای بیماران صرعی مصرف کننده سدیم‌والپرات جهت ارزیابی مارکر بیولوژی، miRNA-۲۲۲ همچنین تعیین ارتباط آن با ابتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک طراحی شده که با استفاده از آن به توان قبل از تجویز این دارو بیمار را از نظر ابتلا به این سندرم بررسی کرد. همچنین با بررسی تغییرات پروفایل بیانی miRNA -۲۲۲ به جای بررسی PCOM (Polycystic Ovary

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

(Morphology) در سونوگرافی و ارزیابی پروفایل هورمونی دخیل در این سندرم، حین مصرف دارو در بیماران مصروع عوارض دارو را بررسی و از پیشرفت آن جلوگیری کرد. هم‌چنین می‌توان برای بیماران مستعد ابتلا به این سندرم، داروهای دیگری به جای سدیم‌والپرات تجویز نمود و یا با استفاده از درمان‌های کمکی به موقع، سبب پیشگیری از بروز سندرم تخمدان پلی‌کیستیک با تجویز دارویی همانند متفورمین ریسک ابتلا به این سندرم و یا حتی ریسک عوارض بعدی ناشی از سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را کاهش داد. miRNAها قطعه‌ای از RNAهای کوچک الیگونوکلئوتیدی، که قادر به تنظیم بیان ژن در سطح پس از رونویسی هستند (۱۰) و نقش مهمی در مسیرسیگنال‌دهی و در نتیجه بروز بیماری‌ها ایفا می‌کنند (۱۱). بیان miRNA تغییر یافته با اختلالات مختلفی از جمله T۲DM، IR، اختلال لیپید، ناباروری، تصلب شرایین، آندومتریوز و سرطان همراه است. با توجه به اینکه PCOS نیز دارای ویژگی‌های مشابه است (۱۲)، علاقه به بررسی نقش miRNAها در تشخیص و مدیریت PCOS افزایش می‌یابد. در سال‌های اخیر، مطالعات نشان داده است که miRNA در مایعات مختلف بدن از جمله مایع فولیکولی زنان مبتلا به PCOS وجود دارد. بنابراین، می‌تواند به عنوان یک نشانگر زیستی بالقوه عمل کند و می‌تواند به عنوان یک هدف درمانی جدید برای تشخیص و درمان PCOS باشد (۱۳). Mir۲۲۲ ۲۲۱ از یک جفت دسته ژن واقع در کروموزوم X (Xp۳.۱۱) رونویسی می‌شوند که شامل قطعه‌ای حفظ شده و شامل ۷۲۷ باز می‌باشد (۱۴). در بسیاری از مطالعات ارتباط شروع و پیشرفت سرطان و دیگر بیماری‌ها با miRNA-۲۲۲ تایید شده است (۱۵). هایپرآندروژنیسم یکی از ویژگی‌های کلیدی در افراد مبتلا به PCOs است و سطح آندروژن‌های گردشی چون: تستوسترون، اندرواستندیون، دهیدروتستسترون (DHT) در این بیماران بالا می‌باشد (۱۶). در شماری از مدل‌های حیوانی با القای دهیدروآندرواِستندیون، پاتولوژی PCOs مورد بررسی قرار گرفت (۱۷). در گزارش اخیر برروی مدل موشی PCOs مزمن و با القای DHT حالت هایپرآندروژنیک و کیست تخمدان و اختلالات متابولیک شبیه به PCOs در انسان مورد بررسی قرار گرفت (۱۸). محققان با القای دهیدروتستسترون در مدل موشی PCOs و بررسی پروفایل بیانی miRNAهای مرتبط دریافتند که ۲۵ microRNA از جمله بیان miRNA-۲۲۲ پایین و متفاوتی را در بافت کیستیک تخمدان در مقایسه با گروه نرمال داشتند. هم‌چنین محققان بازده سلول‌های رحمی که با DHT تیمار شده‌اند نیز با کاهش بیان miRNA-۲۲۲ تاییدکردند. کاهش بیان ۲۲۲-miRNA در سلول‌های Theca تایید شده که موجب افزایش تکثیر سلولی با هدف قرار دادن۱P/kip۲۷ در این سلول‌ها می‌شود (۱۹). به‌علاوه بیش بیان miRNA-۲۲۲ با کاهش رسپتور استروژن و مسیر سیگنال‌دهی آن و هم‌چنین ژن‌های هدف رسپتور استروژن مرتبط است (۲۰). Sang و همکاران که بیان miRNA-۲۲۲ در مایع فولیکولی افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک گزارش کرده و هم‌چنین microRNAهایی ازجمله: miRNA-۵۲۰c، ۲۲۲-miRNA-۳۲۰، miRNA-۱۳۲، miRNA -۲۴ ، miRNA که نقش مهمی در استروئیدوژنزیز و تنظیم غلظت استرادیول دارند، را گزارش کردند (۲۱). بر اساس مطالعات miRNA-۳۲۰ و miRNA -۱۳۲ در مایع فولیکولی افراد مبتلا به PCOs در مقایسه با افراد سالم کاهش بیان داشتند هم‌چنین miRNA -۲۴ وmiRNA p۵- ۴۸۳- نیز در تغییر غلظت پروژسترون در افراد مبتلا بهPCOs نقش ایفا می‌کنند (۲۲). مطالعات نشان داد که بیان miRNA -۲۲۲ در بیماران مبتلا به دیابت نوع۲ افزایش داشته است (۲۳).

روش بررسی

در این مطالعه موردی-شاهدی، نمونه خون مربوط به ۳۳ زن مبتلا به صرع (از نوع کوچک یا پارشیال ویا فوکال، که توسط پزشک متخصص تشخیص داده شده بود) از میان ۱۰۹ بیماری که جهت درمان صرع به درمانگاه صرع مسیح یاکلینیک خانواده مراجعه کرده بودند وارد مطالعه شدند. بدین شرح که۵۰ بیمار برای اولین بار تحت درمان با سدیم

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

والپرات قرارگرفتند(new case) و ۴۵ بیمار دیگر قبلاً داروهای دیگری مانند فنوباربیتال یا گاباپنتین مصرف می‌کردند یا تحت درمان هم‌زمان با چند داروی ضد صرع بودند. گروه بیماران مورد بررسی در محدوده سنی ۳۵-۱۸ سال و از قومیت‌های مختلف ایرانی بودند (البته ۱۱ بیمار نیز زیر سن ۱۸سال بوده که از مطالعه حذف شدند). از جمله معیارهای ورود و خروج به این مطالعه عبارتند از:۱- بیماران نباید هیچ‌گونه سابقه بیماری کبدی یا کلیوی و یا داروهای مربوط به نارسایی‌های کبد و کلیه را در حین درمان مصرف کنند (تست کبد نرمال: آلانین آمینوترانسفراز و اسپارتات آمینوترانسفراز بیش از ۳ واحد بیشتر از محدوده نرمال بوده و نارسایی کلیویی داشته باشند یعنی کراتینین سرم شان بیش از ۱/۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر باشد). ۲- بیماران نباید هیچ‌گونه داروی ضدبارداری در حین مطالعه مصرف کرده باشند (که در حین مطالعه ۱نفر به علت حاملگی از مطالعه خارج شد). ۳- سابقه بیماری تیروئیدی یا سندرم تخمدان پلی‌کیستیک نداشته باشند (که ۲ بیمار به علت سابقه بیماری تیروئید از مطالعه خارج شدند). بیماران مورد بررسی افراد مصروعی هستند که با سدیم والپرات (۵۰۰ میلی‌گرمی رها دارو) با (مقدار دوز نهایی مورد استفاده بیمار: ۱۰۰۰ میلی‌گرم یعنی قرص ۵۰۰ میلی‌گرمی یکی صبح یکی شب مصرف می‌شود) تحت درمان‌اند و پس از گذشت ۶ ماه ابتلا به PCO آن‌ها طبق معیار (NIH) اثبات شد. لازم به ذکر است از ۵۰ بیمار مورد بررسی ۱۰ بیمار به علت تعویض دارو و یا تجویز داروی دیگری همراه با والپرات سدیم و ۴ مورد نیز به علت مصرف داروهایی مانند متفورمین از مطالعه حذف شدند. با توجه به هدف مطالعه در حین بررسی ۳۶ نفر باقی‌مانده ۳ نفر به علت عدم پیگیری کامل درمان نیز از مطالعه حذف شدند. در این مطالعه طبق قوانین اخلاقی رضایت‌نامه‌ای تنظیم و به‌صورت آگاهانه توسط افراد بیمار در ابتدا پژوهش تکمیل گردید و چنانچه هر یک از شرکت‌کنندگان در این پژوهش طی مطالعه تمایل به قطع همکاری داشتند آزادانه از مطالعه خارج شدند. برخی از اطلاعات مورد نیاز در این مطالعه از گزارش آزمایش بیماران یا پرسش‌نامه پرشده توسط متخصصان استخراج شده است. این موارد شامل سطح هورمون آنتی‌مولرین (AMH)،BMI (Body mass index)، سن، نوع صرع، فراوانی، سابقه خانوادگی و سن بروز علائم تشنج است.

نمونه‌گیری خون و استخراج RNA برای بررسی miRNA مورد مطالعه

جهت بررسی حدودCC ۵ خون افراد واجد شرایط در لوله‌های EDTAدار جمع‌آوری شد و سریعاً لوله در یخ خشک قرار داده شد و در کمتر از یک ساعت نمونه‌ها در دورrpm ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند و بعد از آن پلاسما حاصله به تیوپ‌های RNase free منتقل و در فریزر۸۰- و تا زمان جمع‌آوری تمامی نمونه‌ها (۶ ماه) نگهداری گردید. به دلیل مقاوم‌تر بودن miRNAها نسبت به RNA نمونه‌ها از دست نمی‌روند، در این مطالعه miRNAهای مورد نظر از نوع خارج سلولی (ترشحی) می‌باشند بنابراین به پروتئین‌های خارج سلولی نیز متصل بوده، که این خاصیت بر طول مدت نگهداری آن‌ها می‌افزاید. استخراج RNA به کم. High Pure ROCH miRNA Isolation Kit(Cat.No ۰۵۰۸۰۵۷۶۰۰۱) و مطابق با پروتکل ان صورت گرفت. RNA استخراج شده در فریزر ۸۰- را درفریزر نگه‌داری می‌کنیم. جهت ارزیابی مقدار و کیفیت RNA استخراج شده، از دستگاه نانو دراپ (c-Thermo NanoDrop ۲۰۰۰scientific) استفاده شد. این دستگاه بدون نیاز به کووت و تنها با استفاده از ۱ الی ۲ میکرولیتر از نمونه قادر است در زمانی کمتر از ۱۰ ثانیه کلیه طول موج‌های موجود در طیف مورد نظر را با دقت ۱ نانومتر اسکن نماید و غلظت یا جذب نوری ماده مورد نظر را نیز تعیین کند. برای این منظور با استفاده از جذب نمونه در طول موجnm ۲۶۰، غلظت RNA به‌دست آمد. برای تعیین میزان خلوص RNA و بررسی احتمال وجود آلودگی با پروتئین نسبت ۲۶۰A/۲۸۰A محاسبه شده در نمونه‌ها برابر ۲-۱/۸ بود. این نسبت محاسبه شده توسط دستگاه در محدوده استاندارد است، نشان‌دهنده عدم آلودگی نمونه به پروتئین است.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

روش ساخت cDNA و پرایمرهای آن

در این مطالعه، سنتز cDNA با پرایمرهای stem loop که با استفاده از http:// microRNA database (www.mirbase.org) طراحی و توسط شرکت بن یاخته سنتز شد. سنتز cDNA با استفاده از کیت BON-miR 1st-strand cDNA (Cat.BON.209001) synthesis miRNA، انجام شد. در نهایت واکنش QRT-PCR برای miRNA، با استفاده از کیت High-Specificity miRNA QPCR (Cat.BON.209002) Core BON-miR Reagent Kit، پرایمر فوروارد اختصاصی و پرایمر reverse (universal) مورد نظر انجام شد. در انجام یک واکنش، استفاده از کنترل داخلی به منظور یکسان‌سازی تغییرات در مقدار cDNA در نمونه‌های مختلف ضروری است. در کیت حاضر، از پرایمرهای SNORD به‌عنوان کنترل داخلی استفاده شد. هم‌چنین دراین از (Cat. No. A325402) AMPLIQON QReal Plus 2x Green High ROX Master Mix به عنوان معرف فلوئورسنت استفاده شد.

پرایمرهای مورداستفاده برای سنتز cDNA

پرایمرهای stem loop اختصاصی miRNA-۲۲۲ و پرایمر Snord (کنترل داخلی) مورد استفاده دراین مطالعه، توسط شرکت بن یاخته سنتز شد، هم‌چنین توالی این پرایمرها درجدول زیر بیان شد.

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورداستفاده

miRNA	Tm	primer(stem loop)
Hsa- miRNA-۲۲۲	۵/۵۸	AACTACATCTGGCTACTGGGT
hsa- snord۴۷-F	۶۰	ATC ACT GTA AAA CCG TTC CA

بررسی بیان کمی miRNA مورد مطالعه با استفاده از تکنیک Real Time PCR

برای اجرای Real time PCR از پروتکل پیشنهادی شرکت AMPLIQON استفاده شد. زیرا مسترمیکس حاوی سایبرگرین این شرکت مورد استفاده قرارگرفت. پس از مخلوط کردن اجزای واکنش مطابق با دستور العمل کیت BON-miR QPCR انجام شد. کیت مذکور حاوی معرف‌های لازم برای انجام واکنش QPCR بر روی cDNA تهیه شده از miRNAها می‌باشد. دقت معرف‌ها به حدی بالاست که توانایی شناسایی miRNA در مقادیر کم و حتی با یک نوکلئوتید تفاوت را نیز دارا می باشند، واکنش Real time PCR در دستگاه Applied Biosystems StepOne انجام شد. پس از اتمام واکنش، تعیین مقادیر Ct، تحلیل و مقادیر ۲^-Δctگزارش شد.

تجزیه وتحلیل آماری

برای بررسی آماری نتایج از نرم‌افزار SPSS version 16 استفاده شد. از آزمون‌های T-test student, ANOVA, Corralation, Tukey برای آنالیز آماری نتایج آزمایشات و ارزیابی آن‌ها استفاده شد. معنی‌داری نتایج برحسب Pvalue<0/05 سنجیده شد.

ملاحظات اخلاقی

در این تحقیق ملاحظات اخلاقی مورد تایید شورای کمیته اخلاق قرار گرفته است (کداخلاق:IR.SSU.RSI.REC.1396.8).

نتایج

بیان miRNA- ۲۲۲ در نمونه پلاسما افراد مبتلا به صرع در بازه‌های زمانی قبل ازدرمان، ۳ و ۶ ماه بعد از درمان اندازه‌گیری و با کمک نرم‌افزار SPSS تحلیل شد. بررسی‌های آماری مشخص کرد که بیان miRNA-۲۲۲ در نمونه پلاسما افراد مبتلا به صرع بعد از مصرف دارو نسبت به نمونه پلاسما افراد صرعی قبل از مصرف دارو، کاهش و سطح هورمون AMH افزایش معنی‌داری داشته است (P>۰/۰۵). با تست TUKey و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

ANOVA بیان ۲۲۲- mir و دیگر متغیرها در سه بازه زمانی مذکور آنالیز شد.که در نتیجه این آنالیز تغییرات سن و BMI در دوبازه زمانی قبل از درمان و ۳ ماه بعد از آن نسبت بازه زمانی ۶ ماه معنادارنیست. بیان miRNA-۲۲۲ و تغییرات هورمونی AMH با توجه به آنالیز صورت گرفته در دو بازه زمانی ۳و۶ ماه نسبت به قبل از درمان معنادار بوده که شرح بیان miRNA-۲۲۲ در هر سه گروه در (نمودار۱) است. بیان miRNA-۲۲۲ و هم‌چنین سطح AMH دربازه زمانی۳ ماه نسبت به ۶ ماه معنی‌دار نبوده است. نتایج به دست آمده از تست correlation که بین بیان miRNA-۲۲۲ در سه بازه زمانی و دو متغیر دیگر سن وBMI انجام شد، نشان داد که در نتیجه تغییرات سن و BMI با تغییرات بیان ۲۲۲-miRNA مرتبط یا هم‌بسته نیست یا به عبارتی این دو عامل بر بیان miRNA-۲۲۲ تاثیرگذار نیستند و هیچ ارتباط معناداری بین آن‌ها پیدا نشد. اما ارتباط معناداری بین بازه زمانی مصرف دارو، میزان AMH و بیان miRNA-۲۲۲ یافت شد (جدول۳).

جدول ۲: مقایسه میانگین وانحراف استاندارد متغیرها در بیماران مبتلا به صرع قبل و بعد از درمان با سدیم والپروات دربازه‌های ۳و ۶ ماه

متغیرها	قبل ازدرمان (تعدادبیماران=۳۳) (میانگین±انحراف معیار)	۳ماه پس ازدرمان (تعدادبیماران=۳۳) (میانگین±انحراف معیار)	۶ماه پس ازدرمان (تعدادبیماران=۳۳) (میانگین±انحراف معیار)	*P-value (بین بازه‌های زمانی) ۰-۳	۳-۶	۰-۶
سن	۲۶/۵ ± ۰/۹۵۰	۲۶/۵ ± ۰/۹۵۰	۲۷/۵ ± ۰/۸۰	-	-	۰/۸۱
شاخص توده بدنی[1] (kg/m^2)	۲۴/۶۴ ± ۰/۵۸۰	۲۵/۰±۶۷/۷۴	۲۸/۴۶ ± ۰/۴۱	۰/۵۱	۰/۳۵	۰/۱۷
آنتی مولرین هورمون[2] (mUI/mL)	۲/±۷۶/۰/۱۴	۶/۰±۳۰/۳۱	۷/۰±۶۰/۵۰	*۰/۰	*۰/۰۳	*۰/۰
بیان($۲^{-\Delta CT}$) miRNA - ۲۲۲	۰/۲۰۹ ±۰/۰۱۳	۰/۱۷۸ ± ۰/۲۱	۰/۰۹۹ ± ۰/۱۶۴	*۰/۰۱۱	۰/۰۷۳	*۰/۰

*P value .۱>۰/۰۵ Body Mass Index .۲ anti-mullerian hormone

جدول۳: همبستگی متغیرهای دموگرافیک و هورمون AMH با میزان بیان miRNA -۲۲۲ بین بازه های زمانی ۳و۶ ماه بعدازمصرف دارو وقبل ازآن

متغیرها	شاخص همبستگی	بیان ($۲^{-\Delta CT}$) miRNA-۲۲۲ N=۳۳	آنتی مولرین هورمون N=33
سن	ضریب همبستگی پیرسون	-۰/۱۱۵	-۰/۱۱۰
	P-value	۰/۲۸۲	۰/۳۰۱
شاخص توده بدنی	ضریب همبستگی پیرسون	-۰/۰۵	۰-/۱۰۱
	P-value	۰/۶۳۸	۰/۳۴۶
بیان ($۲^{-\Delta CT}$) miRNA-۲۲۲	ضریب همبستگی پیرسون	۱	۰/۵۰۱
	P-value		**۰۰۰/۰
آنتی مولرین هورمون	ضریب همبستگی پیرسون	۰/۵۰۱	۱
	P-value	**۰۰۰/۰	

** P-value <۰.۰۱ و همبستگی درسطح ۰.۰۵ و۰.۰۱ هم معناداراست.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

نمودار۱: میانگین و انحراف معیار بیان ($2^{-\Delta CT}$) **۲۲۲** -miRNA در بیماران مبتلا به صرع قبل و بعد از درمان با سدیم والپروات دربازه‌های ۳و ۶ ماه

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که AMH به صورت مشهود با کاهش بیان miRNA-۲۲۲ ارتباط مستقیم دارد. سدیم والپرات یک ترکیب استیک بوده، که به عنوان ضدتشنج در درمان صرع، mood stabilizing agent در درمان مانیا و بیماری دو قطبی، سردردهای میگرنی، دردهای عصبی مزمن، به خوبی عمل می‌کند. در بیماران مبتلا به صرع یکی از اولویت‌های درمانی، داروی سدیم والپرات است، با وجود این، تحقیقات نشان داد در مبتلایان به صرع که این دارو را مصرف می‌کنند در بعضی موارد عوارضی مانند PCOs گزارش شده است، به نظر می‌رسد استعدادهای ژنتیکی افراد می‌تواند روی میزان پاسخ درمانی به این دارو تاثیرگذار باشد. با استفاده از تکنیک microarray که توسط Long و همکاران انجام شد، آنالیز پروفایل بیانی microRNAهای سرم در افراد مبتلا به PCOs مورد بررسی قرار گرفت که در این مطالعه افزایش بیان ۸ microRNA شامل: miRNA-۲۲۲, miRNA-۱۶، miRNA-۱۸۶، miRNA-۱۹a، miRNA- ۲۴, miRNA- ۱۴۶ a، miRNA -۱۰۶b، miRNA -۳۰c گزارش شد. یافته‌های Q-PCR نیزبیش بیان miRNA - ۲۲۲، miRNA -۳۰ c را درافراد مبتلا به PCOs تایید کرد (۲۴). نتیجه چند آنالیز لجستیک نیز بیان این ۲ microRNA را به عنوان بیومارکرهای مهمی در PCOs معرفی کرد (۲۵). در مطالعات اخیر نشان داده شده که سطح بیان miRNA-۲۲۲, به طور معناداری در پلاسما و بافت تخمدان زنان مبتلا به PCOs نسبت به سالم کاهش دارد (۲۶). و در نهایت باتوجه به آنالیزهای آماری بیوانفورماتیکی نشان داده شده که ژن هدف این miRNA درگیر در آپپتوزیس، چرخه سلولی و مسیرآندوکرینی شامل مسیرهای: JAK-STA, WNT, MAPK می‌شود (۲۷). در مطالعات انجام شده روی بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک این چنین مطرح شد که افزایش سیگنالینگ گابا در آن‌ها سبب ازدیاد فعالیت سیستم GnRH/LH و در نتیجه ارتباط موثر با پایین دست خودش باشد. خانم‌های مبتلا به PCOs در مایع مغزی نخاعی خود دارای سطح GABA بالاتری نسبت به گروه شاهد می‌باشند. استفاده از والپرات سدیم نیز (که خود افزایش دهنده سطح گابا است) جهت درمان بیماران صرعی نیز تجویز می‌شود، با ابتلا به PCOs همبستگی دارد. مطالعات نشان داد که، بیان miRNA-۲۲۲ علاوه بر تاثیر در رشد سرطان سینه، تهاجم و مهاجرت سلول‌ها، با هدف قرار دادن مسیرPTEN/AKT در افزایش توانایی خود نوسازی سلول‌های بنیادی نیز نقش ایفا می‌کند (۲۸). کاهش بیان miRNA-۲۲۲ با کاهش تنظیمی هیستون داستیلاز که در فعالیت سلول‌های NK/c-Jun و فعال کردن فاکتور هسته‌ای NF-κBp۶۵ نقش دارند موجب پیشرفت سرطان بعضی سرطان‌ها از جمله سرطان کبد نیز می‌شود (۲۹). Tanaka و همکاران دریافتند که متفورمین با مهار بیان miRNA-۲۲۲ سبب توقف سلول در فازG1، افزایش فرایند آپوپتوز و تنظیم بالایP۲۷ می‌شود(۳۰).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

با خاموش‌کردن miRNA-۲۲۲ با الیگونوکلئوتید anti-miRNA می‌توان به واسطه بیش تنظیمی PTEN رشد سلول‌های سرطانی را مهار و تهاجم سلولی را کنترل نمود، هم‌چنین سبب افزایش حساسیت به رادیواکتیو در سلول‌های سرطانی به واسطه بیش تنظیمی این پروتئین را خواهیم داشت. بیان miRNA-۲۲۲ در پلاسما هبستگی معناداری با متاستاز غددلنفاوی و بقای آن‌ها دارد (۳۱). در حقیقت والپرات باعث افزایش آندروژنزیز از طریق مهار سیتوکروم P۴۵۰ که منجر به مهار تبدیل تستورون به استروژن می‌شود، یک حالت هایپرآندروژنیک را ایجاد می‌کند. آندروژنزیز در تخمدان در اولین مرحله توسط سلول‌های thecal که ژن cytochromeP ۴۵۰c را بیان می‌کنند، LH را به DHEA) dehydroepiandrosterone) و androstenedione تبدیل می‌کند (۳۲). بیشتر این پیش‌سازها توسط سلول‌های گرانولار که آنزیم aromatase P۴۵۰ را داشته باشند، تبدیل به استروژن می‌شوند البته، معمولاً تخمدان‌ها بر خلاف غدد آدرنال مستقیماً آندروژن تولید می‌کنند، معمولاً به‌صورت تستوسترون و آندرواستندیون. ۴۵۰c یکی از مهم‌ترین آنزیم‌ها، جهت تولید استروئید و بیوژنز آندروژن‌ها است. این آنزیم توسط یک ژن توسط سلول‌های thecal کد می‌شود که هم فعالیت ۱۷,۲۰-lyase و ۱۷α - hydroxylase را دارند، که در تولید کورتیزول، آلدوسترون و DHEA نقش ایفا می‌کنند (۳۳). افزایش هورمون AMH که خود نشان‌دهنده افزایش ذخایر فولیکولی در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک است، اما در این مطالعه با بررسی این هورمون می‌توان مانند بیان miRNA-۲۲۲ به شناسایی افراد مبتلا وکنترل عوارض کمک کرد(۳۴).

نتیجه گیری

مطابق با نتایج مطالعه حاضر، مبنی بر افزایش هورمون AMH که خود نشان‌دهنده افزایش ذخایر فولیکولی در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک است و هم‌چنین باتوجه به نتایج تست correlation که بیانگر ارتباط معناداری بین بازه زمانی مصرف دارو، میزان AMH و بیان miRNA-۲۲۲ بود. پس درنتیجه می توان جهت کنترل بهتر عوارض احتمالی دارو، احتمالاً تعویض به موقع دارو و هم‌چنین تشخیص زود هنگام PCOs(علائم شبه PCOs)، ازارزیابی تغییرات بیان miRNA-۲۲۲ هم زمان با سنجش AMH استفاده کرد

سپاس‌گزاری

این پژوهش ماحصل بخش اولیه طرح تحقیقاتی مصوب در مرکزتحقیقات سقط، پژوهشکده علوم تولید مثل یزد می‌باشد. با سپاس و قدردانی فراوان از استاد بزرگوار دکتر سیدمهدی کلانتر و مدیر مرکز و تمامی پرسنل آزمایشگاه ژنتیک این مرکز از جمله سرکار خانم دکتر فاطمه منتظری و هم‌چنین از آقای دکتر سیدمسعود اعتمادی‌فر و تمامی پرسنل زحمت‌کش آزمایشگاه ژنوم تحت مدیریت آقای دکتر منصور صالحی و آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان الزهرا اصفهان که در امر نمونه‌گیری یاری رساندند، کمال تشکر را دارم. از تمامی اساتید راهنما و مشاور نیز سپاس‌گزار هستم.

حامی مالی:پژوهشکده علوم تولیدمثل یزد

تعارض در منافع : ندارد

References:

1-Shorvon S. ***Handbook of Epilepsy Treatment.*** 3th ed. Progress in Neurology and Psychiatry. American: John Wiley & Sons(Wiley); 2010; 4.

2-Lizneva D, Suturina L, Walker W, Brakta S, Gavrilova-Jordan L, Azziz R. ***Criteria, Prevalence, and Phenotypes of Polycystic Ovary Syndrome***. Fertility and Sterility 2016: 106(1): 6-15 .

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

3-Wang L, Fan H, Zou Y, Yuan Q, Hu X, Chen X, et al. ***Aberrant Expression of Long Non-coding RNAs in Exosomes in Follicle Fluid from PCOS Patients.*** Front Genet 2021; 11: 1-10 .

4-Bedenk J, Vrtačnik-Bokal E, Virant-Klun I. ***The Role of Anti-Müllerian Hormone (AMH) in Ovarian Disease and Infertility.*** J Assist Reprod Genet 2020; 37(1): 89-100 .

5-Qin L, Zhao S, Yang P, Cao Y, Zhang J, Chen ZJ, et al. ***Variation Analysis of Anti-Müllerian Hormone Gene in Chinese Women with Polycystic Ovary Syndrome***. Endocrine 2021; 72(1): 287-93 .

6-Stracquadanio M, Ciotta L, Palumbo MA. ***Relationship between Serum Anti-Mullerian Hormone and Intrafollicular AMH Levels in PCOS Women***. Gynecol Endocrinol 2018; 34(3): 223-8. Available

7-Sova H, Unkila-Kallio L, Tiitinen A, Hippeläinen M, Perheentupa A, Tinkanen H, et al. ***Hormone Profiling, Including Anti-Müllerian Hormone (AMH), for the Diagnosis of Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) and Characterization of PCOS Phenotypes***. Gynecol Endocrinol 2019; 35(7): 595-600 .

8-Dewailly D, Barbotin AL, Dumont A, Catteau-Jonard S, Robin G. ***Role of Anti-Müllerian Hormone in the Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome***. Front Endocrinol (Lausanne) 2020; 11: 641 .

9-Gerhard L. ***Impact of Epilepsy and AEDs on Reproductive Health***. In: Harden CL, Thomas SV, Tomson T, editors. Epilepsy in Women. 1rd ed. American: John Wiley & Sons(Wiley); 2013; 53-63 .

10-Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. ***Horizontal Transfer of Micrornas: Molecular Mechanisms and Clinical Applications.*** Protein Cell 2012; 3(1): 28-37 .

11-Wang J, Chen J, Sen S. ***MicroRNA as Biomarkers and Diagnostics***. J Cell Physiol 2016; 231(1): 25-30 .

12-Chen Z, Ou H, Wu H, Wu P, Mo Z. ***Role of microRNA in the Pathogenesis of Polycystic Ovary Syndrome.*** DNA Cell Biol 2019; 38(8): 754-62 .

13-Abdalla M, Deshmukh H, Atkin SL, Sathyapalan T. ***Mirnas as a Novel Clinical Biomarker and Therapeutic Targets in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): A Review***. Life Sci 2020; 259:118174 .

14-Han SH, Kim HJ, Gwak JM, Kim M, Chung YR, Park SY. ***Microrna-222 Expression as a Predictive Marker for Tumor Progression in Hormone Receptor-Positive Breast Cancer***. J Breast Cancer 2017; 20(1): 35-44 .

15-Kim EJ, Jang M, Choi JH, Park KS, Cho IH. ***An improved dehydroepiandrosterone-induced rat model of polycystic ovary syndrome (Pcos): Post-pubertal improve pcos's features***. Front Endocrinol (Lausanne) 2018; 9: 1-7 .

16-Guedikian AA, Lee AY, Grogan TR, Abbott DH, Largaespada K, Chazenbalk GD, et al**. *Reproductive and Metabolic Determinants of Granulosa Cell Dysfunction in Normal-Weight Polycystic Ovary.*** Fertil Steril 2019; 109(3): 508-15.

17-Rababa'h AM, Matani BR, Ababneh MA. ***The Ameliorative Effects of Marjoram in Dehydroepiandrosterone Induced Polycystic Ovary Syndrome in Rats***. Life Sci 2020; 261: 118353 .

18-Hossain MM, Cao M, Wang Q, Kim JY, Schellander K, Tesfaye D, et al. ***Altered Expression***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

of Mirnas in a Dihydrotestosterone-Induced Rat PCOS Model. J Ovarian Res 2013; 6: 1-11 .

19-Sun Y, Chen G, He J, Huang ZG, Li SH, Yang YP, et al. ***Clinical Significance and Potential Molecular Mechanism of Mirna-222-3p in Metastatic Prostate Cancer***. Bioengineered 2021; 12(1): 325-40 .

20-Hossain MM, Cao M, Wang Q, Kim JY, Schellander K, Tesfaye D, et al. ***Altered Expression of Mirnas in a Dihydrotestosterone-Induced Rat PCOS Model***. J Ovarian Res 2013; 6(1): 36 .

21-Sørensen AE, Wissing ML, Salö S, Englund ALM, Dalgaard LT. ***Micrornas Related to Polycystic Ovary Syndrome (Pcos).*** Genes (Basel) 2014; 5(3): 684-708 .

22-Liu S, Sun X, Wang M, Hou Y, Zhan Y, Jiang Y, et al. ***A Microrna 221- And 222-Mediated Feedback Loop Maintains Constitutive Activation of Nfκb and STAT3 in Colorectal Cancer Cells***. Gastroenterology 2014; 147(4): 847-59.e11 .

23-Balasubramanyam M, Aravind S, Gokulakrishnan K, Prabu P, Sathishkumar C, Ranjani H, et al. ***Impaired Mir-146a Expression Links Subclinical Inflammation and Insulin Resistance in Type 2 Diabetes***. Mol Cell Biochem. 2011; 351(1-2): 197-205 .

24-Long W, Zhao C, Ji C, Ding H, Cui Y, Guo X, et al. ***Characterization of Serum Micrornas Profile of PCOS and Identification of Novel Non-Invasive Biomarkers***. Cell Physiol Biochem 2014; 33(5): 1304-15 .

25-Trikudanathan S. ***Polycystic Ovarian Syndrome***. Medical Clinics of North America 2015; 99: 221-35 .

26-Chen B, Xu P, Wang J, Zhang C. ***The Role of Mirna in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)***. Gene 2019; 706: 91-6 .

27-Imbar T, Eisenberg I. ***Regulatory Role of Micrornas in Ovarian Function***. Fertility and Sterility 2014; 101(6): 1524-30 .

28-Li B, Lu Y, Wang H, Han X, Mao J, Li J, et al. ***Mir-221/222 Enhance the Tumorigenicity of Human Breast Cancer Stem Cells Via Modulation of PTEN/Akt Pathway***. Biomed Pharmacother 2016; 79: 93-101 .

29-Bae HJ, Jung KH, Eun JW, Shen Q, Kim HS, Park SJ, et al. ***Microrna-221 Governs Tumor Suppressor HDAC6 to Potentiate Malignant Progression of Liver Cancer***. J Hepatol 2015; 63(2): 408-19 .

30-Tanaka R, Tomosugi M, Horinaka M, Sowa Y, Sakai T. ***Metformin Causes G1-Phase Arrest Via Down-Regulation of MIR-221 and Enhances TRAIL Sensitivity Through DR5 Up-Regulation in Pancreatic Cancer Cells.*** PLoS One 2015; 10(5): e0125779 .

31-Fu Z, Qian F, Yang X, Jiang H, Chen Y, Liu S. ***Circulating Mir-222 in Plasma and its Potential Diagnostic and Prognostic Value in Gastric Cancer.*** Med Oncol 2014; 31(9): 164 .

32-Zore T, Joshi NV, Lizneva D, Azziz R. ***Polycystic Ovarian Syndrome: Long-Term Health Consequences***. Semin Reprod Med 2017; 35(3): 271-81 .

33-Dewailly D, Robin G, Peigne M, Decanter C, Pigny P, Catteau-Jonard S. ***Interactions between Androgens, FSH, Anti-Mullerian Hormone and Estradiol During Folliculogenesis in the Human Normal and Polycystic Ovary.*** Hum Reprod Update 2016; 22(6): 709-24 .

34-Cavallo GP, Cavallo R. ***New Perspectives on the Pathogenesis of Rhinitis.*** G Batteriol Virol Immunol 2018; 84(1-12): 107-24.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol 29| NO 10 | Jan 2022

Received: 7 July 2019
Accepted: 12 Oct 2019

Evaluating Mirna-222 Expression Level and Its Association with AMH for Early Diagnosis of Pcos-Like Symptoms in Epileptic Patients Plasma Treated with Sodium Valproate: A Case – Control Study

Mahya Rajabi[1,2], Seyed Mohsen Miresmaeili[1], Fatemeh Montazri[2], Mahsa Nasresfahani[3], Seyed Jalal Zieai[4], Seyed Mehdi Kalantar[*5]

Original Article

Introduction: Epileptic neurological disorder, which is controlled with medications such as sodium valproate (one of the treatment priorities for the patients with epilepsy). Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of complication of sodium valproate. Ovulation in PCOs Patients is disrupted, resulting in serious complications, including endometrial hyperplasia with typical and atypical forms, increased the risk of endometrial endometrial cancer, diabetes mellitus, and decreased fertility rates. This study, in accordance with bioinformatics studies and other studies based on the association of miRNA-222 with genes involved in PCOs and hyperandrogenism, was designed to evaluate the association of PCOs in the patients treated with sodium valproate by simultaneously comparing the AMH factor and miRNA-222 marker at specific time periods .

Methods: In this case-control study, 33 women with epilepsy before and after use the drug were selected based on inclusion and exclusion criteria. After blood sampling, their plasma was isolated. According to the instructions of the Total RNA extracted kit , cDNA synthesized and miRNA-222 expression was evaluated by RT-qPCR technique and statistical analysis was performed by SPSS 23 software, T-test and ANOVA tests.

Results: The results of statistical tests such as T-test and ANOVA test (done with SPSS software) which showed a significant difference ($p<0/01$) between the mean expression of mir-222 and AMH in the patients before treatment compared to 3 month after treatment. The results of Pearson correlation test showed that the increase in AMH is directly related to the decrease in miRNA-222 expression ($p<0/01$) .

Conclusion: According to the results of the present study, in order to better control the possible side effects of the drug and possibly timely drug change and early diagnosis of PCOs (PCOs-like symptoms), evaluation of miRNA-222 expression changes can be used at the same time with AMH assay.

Keywords: Epilepsy, Sodium valproate, miRNA-222, PCOs, AMH

Citation: Rajabi M, Miresmaeili S.M, Montazri F, Nasresfahani M, Zieai S.J, Kalantar S.M. **Evaluating Mirna-222 Expression Level and Its Association with AMH for Early Diagnosis of Pcos-Like Symptoms in Epileptic Patients Plasma Treated with Sodium Valproate: A Case – Control Study.** J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2022; 29(10): 4198-4208.

[1]Department of Biology, Science and Arts University, Yazd, Iran.
[2]Abortion Research Center, Yazd Reproductive Sciences Institute, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.
[3]Department of Biochemistry, Payame Noor Taft University, Yazd, Iran.
[4]Department of Neurology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[5]Infertility Research Center, Yazd Reproductive Sciences Research Institute, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences and Health Services, Yazd, Iran.
***Corresponding author: Tel:** 09131518918**, email:** smkalantar@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2022-11-28]

[DOI: 10.18502/ssu.v29i10.8211]