

## Effects of Metformin on Serum Levels of Secreted Klotho and Leptin in PCOS Women

Saifi Novashnag S<sup>1\*</sup>, Oryan S<sup>1</sup>, Eidi A<sup>1</sup>, Yaghmaei P<sup>1</sup>

1. Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

\* *Corresponding author.* Tel: +984533740952 Fax: +984533742252 E-mail: Savadali.seifi@gmail.com

Received: Des 15, 2015 Accepted: Feb 23, 2016

### ABSTRACT

**Background & objectives:** PCOS is one of the most prevalent endocrinology disorders and 5-15% of women in fertility age suffer from this disease. The leptin a 167 amino acid peptide is secreted from adipose tissue in a pulsatile fashion. This hormone is essential in regulation of normal body weight and like the klotho hormone that is expressed most prominently in the distal convoluted tubules of kidneys and the choroid plexus of brain, has a role in pathogenesis of reproductive disorders. The secreted klotho has been identified as an anti-aging and anticancer hormone. Metformin is an anti-hyperglycemic drug with anorexic properties that could influence the function of ovaries.

**Methods:** In this case-control study, 45 patients with PCOS who referred to the infertility center of Jihad-e-Daneshgahi in the city of Ardabil from March 2013 through March 2014, were selected in accordance with the NIH criteria. Moreover, 45 healthy women were also selected as the control group. BMIs were calculated by division of weight by square of height and insulin resistance index was calculated by HOMA-IR model. Leptin and klotho serum levels were measured using ELISA kit. In the case group the measurements were repeated after a one-month course of therapy with metformin. Data analysis performed by SPSS software using dependent and independent t-tests.

**Results:** PCOS patients showed significant improvements after receiving metformin for one month.

Patients' weights showed some decline. Fasting plasma glucose levels and insulin resistance decreased significantly ( $p < 0.01$ ). Hormonal assays indicated significant decrease in leptin and insulin levels and rise in Klotho levels. BMIs did not change meaningfully. Measurements of leptin and klotho levels showed a decrease in mean leptin levels from 34.74 to 28.41 ng/l and the level of klotho increased from 4.01 to 5.43 ng/l.

**Conclusion:** This study showed that metformin treatment can cause a rise in klotho and a decrease in leptin levels without considerable effects on the weights of women with PCOS. Probably, leptin exerts its physiological effects in low concentrations while klotho in contrast acts physiologically in higher concentrations.

**Keywords:** Polycystic Ovary Syndrome; Leptin; Klotho; Metformin.

## تأثیر متفورمین بر سطح سرمی هورمون کلوتو و لپتین در زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک

سوادعلی سیفی نوشقی<sup>۱\*</sup>، شهریانو عریان<sup>۱</sup>، اکرم عیدی<sup>۱</sup>، پریچهر یغمایی<sup>۱</sup>

۱. گروه زیست شناسی واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی تهران، ایران

\* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۲۵۳۳۷۴۰۹۵۲ - فاکس: ۰۲۵۳۳۷۴۲۲۵۲ - پست الکترونیک: Savadali.seifi@gmail.com

### چکیده

**زمینه و هدف:** سندرم تخمدان پلی کیستیک یکی از بیماری‌های شایع غدد درون ریز بوده و ۱۵-۵ درصد زنان را در سنین باروری مبتلا می‌کند. هورمون لپتین که از بافت چربی به شکل متناوب ترشح می‌شود یک پپتید ۱۶۷ آمینواسیدی است و در تنظیم وزن نرمال بدن نقش اساسی دارد. مانند هورمون کلوتو (klotho) که بیشترین تجلی ژن آن در سلول‌های لوله پیچیده دور کلیه‌ها و شبکه کورویئید مغز مشاهده می‌شود، دارای نقشی در پاتوژنز اختلالات تولید مثلی می‌باشد. کلوتو به عنوان یک هورمون ضد سرطان و ضد پیری شناخته شده است. متفورمین یک داروی ضد دیابت با خواص ضد اشتها است که عملکرد تخمدان‌ها را نیز تحت تأثیر قرار می‌دهد.

**روش کار:** در این مطالعه ی مورد- شاهده‌ی ۴۵ بیمار مبتلا به PCOS که در سال ۱۳۹۲ به مرکز درمان نازایی جهاد دانشگاهی اردبیل مراجعه کرده بودند، برحسب معیار NIH انتخاب شدند. ۴۵ زن سالم نیز به عنوان گروه شاهد برگزیده شدند. BMI بیماران از تقسیم وزن به مجذور قد محاسبه گردید. شاخص مقاومت به انسولین با مدل HOMA-IR محاسبه شد. سطح سرمی لپتین با کیت الیزا با مارک LDN و سنجش کلوتو با کیت الیزا با مارک Glory انجام شد. در گروه بیماران یک ماه پس از مصرف متفورمین دوباره سنجش‌های مذکور انجام گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط SPSS-20 انجام گرفت. تمامی نتایج بدست آمده به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد، به منظور مقایسه میانگین بین گروه‌ها از آزمون تی مستقل و همبسته استفاده شد.

**یافته‌ها:** بیماران PCOS یک ماه پس از مصرف متفورمین بهبودی چشمگیری نشان دادند. وزن بیماران پس از درمان کاهش نشان داد ( $p < 0/05$ ). سطح ناشتای گلوکز، مقاومت به انسولین کاهش چشمگیری داشت ( $p < 0/01$ ). ارزیابی‌های هورمونی نشانگر کاهش چشمگیر سطوح لپتین و انسولین و افزایش سطح کلوتو بودند. در BMI بیماران تغییر چندانی حاصل نشد. سنجش لپتین و کلوتو در ۴۵ بیمار نشان داد که سطح لپتین از ۳۴/۷۴ به ۲۸/۴۱ نانوگرم در لیتر کاهش یافت. ضمناً سطح کلوتو از ۴/۰۱ به ۵/۴۳ نانوگرم در لیتر افزایش یافت.

**نتیجه گیری:** مطالعه حاضر نشان داد مصرف متفورمین بدون تأثیر در BMI زنان PCOS، میزان هورمون کلوتو را افزایش و میزان لپتین را کاهش می‌دهد. احتمالاً لپتین اثرات فیزیولوژیک خود را در غلظت پائین و کلوتو اثرات خود را در غلظت بالا اعمال می‌کند.

**واژه‌های کلیدی:** سندرم تخمدان پلی کیستیک، لپتین، کلوتو، متفورمین

دریافت: ۹۴/۹/۲۴ پذیرش: ۹۴/۱۲/۴

## مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک<sup>۱</sup> (PCOS) از جمله بیماری‌های شایع غدد درون ریز بوده که ۵-۱۵ درصد زنان را در سنین باروری مبتلا می‌کند. بیماران مبتلا به PCOS دارای اختلالات متابولیکی مانند: مقاومت به انسولین، نقص عملکردی سلول‌های بتا در لوزالمعده، عدم تحمل گلوکز، دیابت نوع دو، هیپرآندروژنیسم، چاقی، ترشحات غیرعادی، گنادوتروپین‌ها و هورمون‌های استروئیدی، نازایی و گاهی استئوپروزیس و سرطان آندومتر همراه است [۱،۲]. اولین بار دکتر کیورو<sup>۲</sup> و همکاران در سال ۱۹۹۷ به وجود پروتئینی پی بردند که نقص آن موجب پیری زودرس و متعاقب آن مرگ نابهنگام می‌شد. از طرفی آنها مشاهده نمودند در موش‌هایی که در خون خود مقادیر زیادی از این پروتئین دارند طول عمر بیشتری نیز دارند، به همین خاطر آنها این پروتئین را کلوئو نام نهادند. کلوئو نام یکی از الهه‌های افسانه‌ای یونانی است که طول عمر و سرنوشت انسان‌ها را تعیین می‌کند. در اسطوره‌های یونانی سه الهه طول عمر هر موجود میرایی را از طریق کنترل چرخش ریسمان زندگی در اختیار دارند: klotho آن را می‌ریسد، Lachesis اندازه می‌گیرد و Atropos آن را قطع می‌کند [۳]. ژن کلوئو در انسان بر روی کروموزوم شماره ۱۳ واقع شده است. این ژن حاوی ۵ اگزون می‌باشد که یک پروتئین نوع یک تک عبوری تراغشایی را رمزگذاری می‌کند (دارای ۱۰۱۴ آمینواسید) [۵،۴]. قسمت خارج سلولی پروتئین کلوئو بلافاصله در بالای غشای پلاسمایی به پروتئازهای مستقر در غشا ADAM10 و ADAM17 متصل می‌شود و از این طریق نوع ترشح کلوئو تولید می‌شود [۶]. در واقع تمامی ناحیه خارج سلولی کلوئو به صورت یک پپتید واحد در خون، ادرار و مایع مغزی نخاعی قابل اندازه‌گیری است.

بنابراین کلوئو در دو فرم کلی تراغشایی که عمدتاً در توبول‌های کلیوی بیان می‌شود و فرم ترشحي که وارد جریان خون می‌گردد وجود دارد [۷،۸]. فرم تراغشایی کلوئو به عنوان هم گیرنده FGF<sub>23</sub> عمل کرده و در متابولیسم فسفات، کلسیم و ویتامین D نقش دارد. قلمرو خارج سلولی به صورت ترشحي عمل کرده، با ورود به گردش خون به عنوان یک عامل اندوکراین عمل می‌کند. فرم ترشحي کلوئو، چندین کانال یونی، مسیرهای فاکتورهای رشد، انسولین، IGF1 و Wnt را کنترل می‌کند. به طور بالقوه در بیولوژی سلول‌های سرطانی و بنیادی نقش دارد [۹]. در موش‌های کلوئو (موش‌هایی که ژن کلوئو به صورت هموزیگوس در آنها جهش یافته است) فنوتیپ‌های گوناگون ناشی از پیری زودرس از جمله: آترواسکلروزیس، چروکیدگی پوست، آمفیژم ریوی، پوکی استخوان، آتروفی بیضه و تخمدان، اختلال در غده هیپوفیز، نازایی و کوتاه شدن عمر دیده می‌شود [۳]. Leptin پپتید ۱۶۷ آمینواسیدی از خانواده سیتوکین‌های TNF از بافت چربی به شکل متناوب و با افزایش شبانه ترشح می‌شود و در خون به صورت آزاد یا متصل به ایزوفرمن محلول گیرنده‌اش یافت می‌شود [۱۱،۱۰]. Leptin نیز مانند klotho دارای نقش در پاتوژنز اختلالات تولید مثلی است. گیرنده‌های لپتین به فراوانی در سلول‌های تکا و گرانولوزای تخمدان یافت می‌شود [۱۲،۱۳]. تیمار این سلول‌ها در محیط آزمایشگاه با Leptin باعث کاهش قابل توجه تولید استروئید از این سلول‌ها می‌گردد [۱۴]. لپتین با یک مکانیسم انتقالی اشباع‌پذیری از سد خونی-مغزی عبور کرده و وارد مغز می‌شود [۱۵]. نورون‌های هدف لپتین در هسته‌های مجاور برجستگی میانی هیپوفیز واقع هستند که چون مویرگ‌های این ناحیه فاقد اتصالات محکم است، لذا امکان انتشار لپتین به هسته‌های مجاور را می‌دهد [۱۶].

<sup>1</sup> Polycystic Ovarian Syndrome<sup>2</sup> Kuro-o

هسته قوسی- هسته شکمی- میانی و نورون‌های ساقه مغزی بیشترین میزان گیرنده لپتین را دارند، به عنوان مراکز عصبی موثر بر تعادل انرژی و تولید مثل محسوب می‌شوند [۱۷].

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته بر روی جوندگان و پریمات‌ها گیرنده‌های لپتین بر روی نورون‌های GnRH<sup>۱</sup> بیان نمی‌شوند. بنابراین لپتین به واسطه نورون‌های واسطه بر ترشح GnRH تأثیر می‌گذارد [۱۸]. موش‌های جهش یافته فاقد لپتین (Ob/Ob) نابارور بودند و زمانی که توسط لپتین تحت درمان قرار گرفتند، سیستم تولید مثلی این موش‌ها به دلیل ترشح گنادوتروپین‌ها به حالت اول برگردانده شد. اثرات مستقیم لپتین بر روی هیپوفیز در موش و خوک اهلی به اثبات رسیده است. علاوه بر این لپتین به واسطه ترشح GnRH از هیپوتالاموس نیز بر روی هیپوفیز اثر کرده منجر به رهاشدن LH<sup>۲</sup> و FSH<sup>۳</sup> می‌شود [۱۹،۲۰].

اجماع بر این است که لپتین در بیماران PCOS بالا است، چرا هیپرلپتینمی در افراد چاق و PCOS قادر به اصلاح بیلان انرژی و رفتارهای تغذیه‌ای نیست؟ بر اساس یافته‌های فاروک<sup>۴</sup> و همکاران Leptin به گیرنده خود در هیپوتالاموس متصل شده و مسیر JAK-STAT<sub>3</sub> را فعال می‌کند و در نتیجه آن نوروپپتید  $\gamma$  و پروتئین مرتبط با Agouti سرکوب شده (پپتیدهایی که باعث افزایش تغذیه می‌شوند) و پروپومیلانو کورتین و CRH<sup>۵</sup> ترشح می‌گردند (که باعث کاهش تغذیه می‌گردند). در PCOS نوعی مقاومت به لپتین بوجود می‌آید و انتقال لپتین به ورای سد خونی مغزی کاهش می‌یابد [۲۱]. سطح پلاسمایی کلوتو<sup>۶</sup> هم در افراد چاق و هم در

بی‌اشتهایی عصبی کاهش می‌یابد [۲۲]. متفورمین یک داروی ضد دیابت با خواص ضد اشتها است. به نظر می‌رسد این ماده از دو راه بر روی عملکرد تخمدان اثر می‌گذارد: از طریق کاهش مقاومت به انسولین و از طریق تأثیر مستقیم بر تخمدان، این دارو باعث کاهش عملکرد cyp<sub>17</sub> در سلول‌های تکا و کاهش تولید استروئید در زنان PCOS می‌گردد [۲۳]. ضمناً ثابت شده است که این دارو بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب را در میتوکندری و پراکسی زوم افزایش می‌دهد و از میزان گلوکونئوژنز می‌کاهد. ضمناً دارای اثر متوسطی بر روی بافت چربی است [۲۴].

اما اثرات متفورمین در ترشح هورمون klotho مطالعه نشده است. مطالعه‌ای نشان داده است که موش‌های فاقد گیرنده انسولین و لپتین نابارورند و در آنها مقاومت به انسولین و مقاومت به لپتین دیده می‌شود. ویژگی‌هایی که یادآور سندرم PCOS در انسان‌ها می‌باشد [۲۵]. مطالعاتی دیگر نشان داده‌اند که در موش‌های کلوتو، آتروفی بیضه و تخمدان، نازایی، اختلالاتی در ترشح GnRH، LH و FSH دیده می‌شود [۲۶،۲۷].

با توجه به علائم مشترکی که در اثر تغییرات هورمون klotho و هورمون Leptin و بیماری PCOS دیده می‌شود و احتمال می‌رود بعضی از اختلالات PCOS ناشی از تغییرات هورمون‌های klotho و لپتین باشد؛ به همین خاطر در مطالعه حاضر تصمیم بر آن شد با توجه به افزایش روز افزون زنان PCOS و جستجوی راهکار برای درمان آنها این تحقیق انجام گیرد، در مطالعه حاضر احتمالاً برای اولین بار سطوح klotho در بیماران PCOS قبل و بعد از درمان با متفورمین اندازه‌گیری شده و ارتباط آن با پارامترهای دیگر از جمله هورمون لپتین مورد بررسی قرار گرفته است.

<sup>1</sup> Gonadotropin Releasing Hormone

<sup>2</sup> Follicle Stimulating Hormone

<sup>3</sup> Luteinizing Hormone

<sup>4</sup> Farooq

<sup>5</sup> Corticotropin Releasing Hormone

<sup>6</sup> Kotho

## روش کار

مطالعه حاضر یک مطالعه Clinical Trial است که در این مطالعه ۴۵ زن مبتلا به PCOS مراجعه کننده به مرکز درمان و نازایی جهاد دانشگاهی اردبیل بر حسب معیار NIH انتخاب شدند و ۴۵ زن دیگر که از نظر سنی و شاخص توده بدنی با گروه بیمار همسان و فاقد علائم بالینی و آزمایشگاهی PCOS بوده و جهت معاینات بالینی و پاپ اسمیر سالانه به کلینیک تخصصی زنان مراجعه کرده بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. از کلیه بیماران و گروه سالم شرح حال مناسب تهیه و معاینات بالینی انجام شد و شاخص توده بدنی از تقسیم وزن (کیلوگرم) به مجذور قد (مترمربع) محاسبه شد. از افراد مورد مطالعه ۵ ml خون وریدی پس از ۱۲-۱۰ ساعت ناشتایی بین ساعت ۹/۵-۹ صبح گرفته شد. سنجش‌های روتین همان روز انجام شد و بقیه سرم بلافاصله در دمای ۸۰- درجه سانتی گراد فریز می‌شد تا برای سنجش klotho و Leptin بطور یکجا مورد استفاده قرار گیرد. سپس گروه بیمار یک ماه متفورمین مصرف کردند، مصرف متفورمین با ۵۰۰ میلی گرم در هفته اول شروع شد. هفته دوم ۱۰۰۰ میلی گرم و هفته سوم با ۱۵۰۰ میلی گرم ادامه یافت. یک ماه بعد دوباره از آنها خون گیری به عمل آمد و سنجش‌های قبلی تکرار شد. بررسی‌های هورمونی به روش ELISA انجام شد. سنجش لپتین با کیت ELISA شرکت LDN و سنجش klotho با کیت ELISA شرکت Glory در آزمایشگاه تخصصی دانش نوین اردبیل انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم افزار آماری SPSS ویراست ۲۰ انجام گرفت. تمامی نتایج بدست آمده به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه پارامترها در گروه کنترل و زنان مبتلا به PCOS قبل از درمان با

متفورمین نتایج حاصل با استفاده از آزمون تی تست مستقل و با در نظر گرفتن آمار لون<sup>۱</sup> تحلیل گردید و جهت سنجش تفاوت‌های واقعی در قبل و بعد از مصرف متفورمین و بررسی معنی‌داری این تفاوت‌ها داده‌ها به روش تی تست هم بسته مورد آزمون قرار گرفت و  $p$  کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

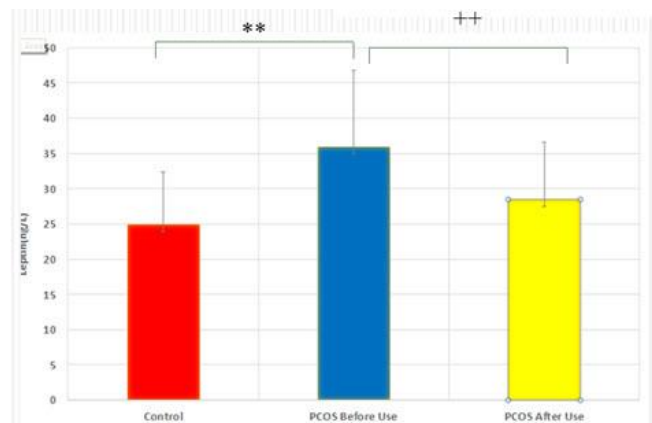
## یافته‌ها

مطالعه حاضر نشان داد در مبتلایان به PCOS یک ماه پس از مصرف متفورمین نتایج زیر حاصل شد: وزن بیماران پس از درمان کاهش نشان داد ( $p < 0/05$ ) سطح ناشتای گلوکز، مقاومت به انسولین کاهش معنی‌دار نشان داد ( $p < 0/01$ ). ارزیابی‌های هورمونی نشانگر کاهش معنی‌دار سطوح لپتین و انسولین و افزایش سطح klotho بودند. در BMI بیماران تغییر معنی‌داری حاصل نشد. در بررسی سطح لپتین در ۴۵ بیمار مشخص شد که سطح لپتین از ۳۴/۷۴ به ۲۸/۴۱ رسیده است ( $p < 0/01$ ). ضمناً سطح klotho از ۴/۰۱ به ۵/۴۳ افزایش یافته بود ( $p < 0/01$ ) (جدول ۱- نمودار ۲ و ۱).

<sup>۱</sup> آزمون لون مربوط به برابری واریانس گروه‌ها قبل از آنالیز آماری می‌باشد و لازم است که گروه‌ها از نظر واریانس تفاوت معنی‌داری نداشته باشند. در صورت عدم برابری واریانس آزمون غیر پارامتری صورت گرفته و گزارش می‌شود.

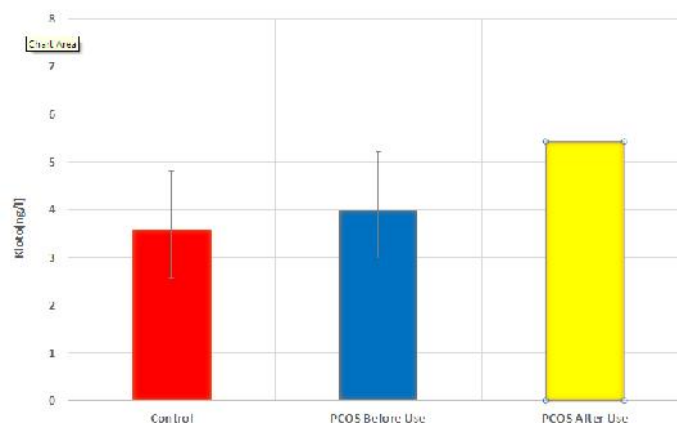
جدول ۱. مقایسه ویژگی‌های دموگرافیک و بیوشیمی در گروه‌های آزمایشی و سالم

پارامترهای سنجش شده	بیماران مبتلا به PCOS بعد از مصرف متفورمین n=۴۵	بیماران مبتلا به PCOS قبل از مصرف متفورمین n=۴۵	گروه کنترل n=۴۵
سن (سال)	۳۰/۹۱±۲/۲۶	۳۰/۹۱±۲/۲۶	۳۶/۲±۳/۱۳
قد (cm)	۱۶۱/۳۶±۶/۱۴	۱۶۱/۳۶±۶/۱۴	۱۶۱/۷۵±۴/۱۵
وزن (kg)	۷۰/۴۵±۸/۶۶	۷۱/۹۵±۸/۹۲	۶۸/۱±۸/۲۸
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	۲۷/۳۰±۳/۵۵	۲۸/۳۶±۳/۸۵	۲۶/۰۹±۳/۴۸
انسولین (mIU/ml)	۷/۰۳±۲/۰۶	۱۱/۵۲±۲/۲۴	۷/۹۶±۲/۱۷
مقاومت به انسولین (IR)	۱/۵۰±۰/۴۸	۲/۶۷±۰/۴۹	۱/۹۰±۰/۵۴
گلوکز ناشتا (mg/dl)	۸۶/۱۸±۴/۸۵	۹۳/۵۴±۴/۶۳	۹۴/۴۵±۵/۲۲
کلوتو (ng/L)	۵/۴۳±۱/۲۱	۴/۰۱±۰/۹۷	۳/۶۴±۱/۲۰
لپتین (ng/L)	۲۸/۴۰±۶/۹۲	۳۴/۷۴±۷/۸۸	۲۲/۷۷±۱۰/۶۰



نمودار ۱. مقایسه سطح سرمی لپتین بین گروهها

\* نشان دهنده اختلاف بیماران PCOS قبل از مصرف با گروه کنترل  
 + نشان دهنده اختلاف بیماران PCOS قبل از مصرف با بیماران PCOS بعد از مصرف  
 $p < 0.01(++)^{**}$      $p < 0.05(+)^*$



نمودار ۲. مقایسه سطح سرمی کلوتو بین گروهها

نشان دهنده اختلاف بیماران PCOS قبل از مصرف با گروه کنترل  
 + نشان دهنده اختلاف بیماران PCOS قبل از مصرف با بیماران PCOS بعد از مصرف  
 $P < 0.05(+)^*$      $P < 0.01(++)^{**}$      $P < 0.001(+++)^{***}$

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که درمان با متفورمین باعث کاهش بارز سطوح گلوکز خون، وزن، انسولین و مقاومت به انسولین و لپتین و افزایش Klotho می‌گردد.

ماری<sup>۱</sup> و همکاران نشان دادند که سطوح پلاسمایی هورمون klotho هم در بیماران چاق و هم در بی‌اشتهایی عصبی کاهش می‌یابد. ضمناً سطح پلاسمایی Klotho در افرادی با بی‌اشتهایی عصبی وقتی وزنشان را افزایش می‌دهند به طور چشمگیری افزایش می‌یابد. این مطالعه نشان داد بین سطح پلاسمایی Klotho و BMI ارتباط وجود دارد. آنها اعلام کردند برای جلوگیری از ایجاد بیماری‌های مربوط به پیری زودرس و داشتن طول عمر زیاد داشتن وزن نرمال اهمیت دارد [۲۲]. تویامو<sup>۲</sup> و همکاران نشان دادند که در موش‌هایی که بیان ژن klotho در آنها پائین بود تخمدان‌های آنها دارای فولیکول‌های اولیه و ثانویه بوده ولی فولیکول‌گراف و جسم زرد در آنها دیده نمی‌شود. اگر چه بیان ژن Klotho در تخمدان‌ها قابل شناسایی است، بلوغ ناقص فولیکولی تخمدان‌ها به دلیل نقص در سلول‌های تخمدان نیست، بلکه به نقص در عملکرد هیپوفیز یا هیپوتالاموس (هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروپیک) می‌باشد به دلایل زیر:

۱- سطح LH و FSH در این موش‌ها نسبت به گونه وحشی پایین‌تر است؛

۲- بلوغ فولیکولی و رشد رحم در این موش‌ها با درمان گنادوتروپین به حالت طبیعی برمی‌گردد.

۳- تخمدان‌های این موش‌ها در صورت پیوند به گونه وحشی به صورت طبیعی کار می‌کنند. این مشاهدات نشان می‌دهند که کلتو احتمالاً در تنظیم گنادوتروپین‌ها و تولید و ترشح هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین‌ها در هیپوتالاموس و هیپوفیز

نقش دارد [۲۷]. اجماع بر این است که Leptin در بیماران PCOS بالا است. مطالعات فراوان نشان داده است رابطه قوی بین Leptin و BMI وجود دارد [۳۱-۲۹]. تیفون<sup>۳</sup> و همکاران اعلام کردند اگرچه تولید لپتین به طور عمده در بافت چربی رخ می‌دهد پس از اصلاح تفاوت توده چربی بدن بین PCOSها و کنترل‌ها، تفاوت سطوح سرمی Leptin بین این دو گروه همچنان بالا بوده است. این یافته موجب ظن قوی نسبت به وجود دلایل دیگری برای افزایش غلظت سرمی لپتین در بیماران PCOS می‌گردد [۳۳]. در مطالعه حاضر سطح سرمی لپتین پس از یک ماه درمان با متفورمین در زنان PCOS به طور بارزی کاهش یافت. باور ما بر این است که تغییرات Leptin پس از درمان با متفورمین ارتباطی با وزن نداشته چرا که BMI بیماران در طول مطالعه ثابت بوده است. این نتیجه دقیقاً همسو با مطالعه است که تیفون و همکاران انجام دادند. بارکان<sup>۴</sup> و همکاران نشان دادند که در موش‌های ob/ob نابارور مصرف لپتین باعث ترشح نرمال گنادوتروپین‌ها و عاقبت تخمک گذاری شد [۳۴]. تویامو و همکاران نقش klotho را در ترشح طبیعی گنادوتروپین‌ها و تخمک گذاری ثابت کردند [۲۷]. پررنا<sup>۵</sup> و همکاران نشان دادند که مصرف متفورمین در بیماران PCOS پس از دو ماه باعث شروع تخمک گذاری در آنها گردید [۳۵].

در مطالعه حاضر مشخص شد که مصرف متفورمین باعث افزایش klotho و کاهش Leptin می‌شود، از برآیند این یافته‌ها می‌توان نتیجه گرفت که Leptin اثرات خود را در غلظت پائین اما klotho اثرات خود را در غلظت بالا ایفا می‌کند.

<sup>3</sup> Tayfun

<sup>4</sup> Barkan

<sup>5</sup> Prerna

<sup>1</sup> Marie

<sup>2</sup> Toyamo

**نتیجه گیری**

مطالعه حاضر نشان داد مصرف متفورمین در زنان PCOS میزان هورمون klotho را افزایش و هورمون Leptin را کاهش می‌دهد.

**تشکر و قدردانی**

در نهایت از تمام مسئولین و کارکنان آزمایشگاه دانش نوین اردبیل که محقق را در این پژوهش یاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

**References**

- 1- Tang T, Lord JM, Norman RJ, Yasmin E, Balen AH. Insulin- sensitizing drugs (metformin, rosiglitazone, pioglitazone, D-chiro-inositol) for women with polycystic ovary syndrome, oligo amenorrhoea and subfertility. *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Jan;(1):CD003053
- 2- Tarlatzis BC, Fauser BC, Legro RS, Norman RJ, Hoeger K, Pasquali R, et al. Consensus on infertility treatment related to polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2008 Mar;23(3):462-77.
- 3- Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature*. 1997 Nov 6;390(6655):45-51.
- 4- Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-Iida T, Nagai R, Kuro-o M, Nabeshima Y. Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998 Jan 26;242(3):626-30.
- 5- Shiraki-Iida T, Aizawa H, Matsumura Y. Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein. *FEBS Lett*. 1998 Mar;424(4):6-10.
- 6- Chen CD, Podvin S, Gillespie E, Leeman SE, Abraham CR. Insulin stimulates the cleavage and release of the extracellular domain of Klotho by ADAM10 and ADAM17. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007 Dec 11;104(50):19796-19801.
- 7- Kurosu H, Yamamoto M, Clark JD, Pastor JV, Nandi A, Gurnani P, et al. Suppression of Aging in Mice by the Hormone Klotho. *Science*. 2005 Sep;309(5742):1829-1833.
- 8- Imura A, Iwano A, Tohyama O, Tsuji Y, Nozaki K, Hashimoto N, et al. Secreted Klotho protein in sera and CSF: implication for post-translational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane. *FEBS Lett*. 2004 May;565(1-3):143-147.
- 9- Kuro-o M. klotho and aging. *Biochim Biophys Acta*. 2009 Oct;1790(10):1049-58.
- 10- Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol*. 2000 Jul;21(3):413-37.
- 11- Caprio M, Fabbri E, Isidori AM, Aversa A, Fabbri A. Leptin in reproduction *Trends Endocrinol Metab*. 2001 Mar;12(2):65-72.
- 12- Karlsson C, Lindell K, Svensson E, Bergh C, Lind P, Billig H, et al. Expression of functional leptin receptors in human ovary. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Dec;82(12):4144-8.
- 13- Kennedy GC, Mitra J. Body weight and food intake as initiating factors for puberty. *J Physiol*. 1963 Apr;166(2):408-18.
- 14- Lenhard JM, Kliewer SA, Paulik MA, Plunket KD, Lehmann JM, Weiel JE. Effects of troglitazone and metformin on glucose and lipid metabolism: alterations of two distinct molecular pathways. *Biochem Pharmacol*. 1997 Oct;54(7):801-8.
- 15- Partridge WM. Receptor-mediated peptide transport through the blood-brain barrier. *Endocr Rev*. 1986 Aug;15:314-30.
- 16- Schwartz MW, Peskind E, Raskind M, Boyko EJ, Porte D. Cerebrospinal fluid leptin levels: relationship to plasma levels and to adiposity in humans. *Nat Med*. 1996 May;2(5):589-93.
- 17- Clarke IJ, Henry BA. Leptin and reproduction. *Rev Reprod*. 1999 Jan;4(1):48-55.
- 18- Cunningham MJ, Clifton DK, Steiner RA. Leptin's actions on the reproductive axis: perspectives and mechanisms. *Biol Reprod*. 1999 Feb;60(2):216-22.
- 19- Zeiba DA, Amstalden M, Williams GL. Regulatory roles of leptin in reproduction and metabolism: a comparative review. *Domest Anim Endocrinol*. 2005 Jul;29(1):166-85.
- 20- Baratta M. Leptin-from a signal of adiposity to a hormonal mediator in peripheral tissues. *Med Sci Monit*. 2002 Dec;8(2):RA282-92.



- 21- Farooqi IS, Matarese G, Lord GM, Keogh JM, Lawrence E, Agwu C, et al. Beneficial effects of leptin on obesity, T cell hyporesponsiveness, and neuroendocrine/metabolic dysfunction of human congenital leptin deficiency. *J Clin Invest*. 2002 Oct;110(8):1093-103.
- 22- Amitani M, Asakawa A, Amitani H, Kaimoto K, Sameshima N, Koyama KI, et al. Plasma klotho levels decrease in both anorexia nervosa and obesity. *Nutrition*. 2013 Sep;29(9):1106-1109.
- 23- Nestler JE, Jakubowicz DJ. Decreases in ovarian cytochrome P450c17 alpha activity and serum free testosterone after reduction of insulin secretion in polycystic ovary syndrome. *N Engl J Med*. 1996 Aug;335(9):617-23.
- 24- Lenhard JM, Klierer SA, Paulik MA Plunket KD, Lehmann JM, Weiel JE. Effect of troglitazone and metformin on glucose and lipid metabolism: alterations of two distinct molecular pathways. *Biochem Pharmacol*. 1997 Oct;54(7):801-8.
- 25- Caro JF, Sinha MK, Kolaczynski JW, Zhang PL, Considine RV. Leptin: the tale of an obesity gene. *Diabetes*. 1996 Nov;45(11): 1455-62.
- 26- Toyama R, Fujimori T, Nabeshima Y, Itoh Y, Tsuji Y, Osamura RY, et al. Impaired regulation of gonadotropins leads to the atrophy of the female reproductive system in klotho-deficient mice. *Endocrinology*. 2006 Jan;147(1):120-9
- 27- Brzechffa PR, Jakimiuk AJ, Agarwal SK, Weitsman SR, Buyalos RP, Magoffin DA. Serum immunoreactive leptin concentrations in women with polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996 Nov;81:4166-9.
- 28- Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest*. 2007 Dec;117(12):4003-8.
- 29- Vicennati V, Gambineri A, Calzoni F, Casimirri F, Macor C, Vettor R, et al. Serum leptin in obese women with polycystic ovary syndrome is correlated with body weight and fat distribution but not with androgen and insulin levels. *Metabolism*. 1998 Aug; 47(8):988-992.
- 30- Micic D, Macut D, Popovic V, Sumarac-Dumanovic M, Kendereski A, Colic M, et al. Leptin levels and insulin sensitivity in obese and non-obese patients with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol*. 1997 Oct;11(3):315-320.
- 31- Mantzoros CS, Dunaif A, Flier JS. Leptin concentrations in the polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997 Oct; 82(10):1687-1691.
- 32- Remsberg KE, Talbott EO, Zborowski JV, Evans RW, McHugh-Pemu K. Evidence for competing effects of body mass, hyperinsulinemia, insulin resistance, and androgens on leptin levels among lean, overweight, and obese women with polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2002 Sep;78(3):479-486.
- 33- Tayfun A, Hakki k. Serum leptin and body composition in polycystic ovarian syndrome. *Ann Saudi Med*. 2004 Aug;80(10):9-12.
- 34- Barkan D, Hurgin V, Dekel N, Amsterdam A, Rubinstein M. Leptin induces ovulation in GnRH-deficient mice. *FASEB*. 2005 Jun;19(1):133-5.
- 35- Prerna U, S.Rehan H, vikas S, serum Leptin changer with metformin treatment in polycystic ovarian syndrome: Correlation with ovulation , insulin and testosterone levels. *EXCIL*. 2011 Feb;10(24):9-15.