

ივანე ჯავახიშვილის სახელობის თბილისის სახელმწიფო
უნივერსიტეტის მედიცინის ფაკულტეტი
სადოქტორო პროგრამა: კლინიკური და ტრანსლაციური
მედიცინა

მანანა ურჯუმელაშვილი

**ჰიპერჰომოცისტეინემიისა და MTHFR გენების
პოლიმორფიზმის როლი პოლიცისტური საკვერცხეების
სინდრომის პათოგენეზში**

მედიცინის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი დისერტაციის

ავტორეფერატი

სამეცნიერო ხელმძღვანელი:
პროფ. ჯენარო ქრისტესაშვილი
თანახელმძღვანელი:
ასისტენტ პროფ. ელენე ასანიძე

თბილისი, საქართველო

2023

შესავალი

თემის აქტუალობა

უშვილობა ცალკეული წყვილისთვის ინდივიდუალური პრობლემაა იმ ქვეყნებშიც კი, სადაც შობადობის მაღალი მაჩვენებელი აღინიშნება (Maya N et al. 2012) მაშინ, როდესაც საქართველოში შობადობის საგანგაშოდ შემცირებული მაჩვენებლის ფონზე უშვილობა განსაკუთრებულ სამედიცინო და სოციალურ მნიშვნელობას იძენს.

პოლიციისტური საკვერცხეების სინდრომის (პსს) ხვედრითი წილი ქალის ენდოკრინული გენეზის უნაყოფობაში 5-15% შეადგენს (Dumont et al. 2015, Maharjan et al. 2018).

შვილოსნობის ფუნქციის განსახორციელებლად ორსულობის მიღწევა არ არის საკმარისი, გადამწყვეტია ამ ორსულობის შენარჩუნება, ვადამდე მიტანა და ცოცხლადშობადობა. ქალებში პსს-ით ორსულობის თვითნებურად შეწყვეტის სიხშირე 25-73% ფარგლებში მერყეობს (Carp 2015, Qin 2013).

მიუხედავად ჩატარებული მრავალრიცხოვანი კვლევებისა პსს-ს ეტიოპათოგენეზი დღემდე ბოლომდე არ არის დაზუსტებული. ბოლო პერიოდამდე პსს-ს პათოგენეზში მოიაზრებდნენ ჰიპერინსულინემიას და ჰიპერანდროგენემიას, თუმცა ბოლო წლებში გაჩნდა მოსაზრებები იმის შესახებ, რომ პსს-ს პათოგენეზში შესალოა მნიშვნელოვან როლს ასრულებდეს ჰიპერჰომოციტინემია (ჰჰც) და ამდენად, ჰჰც შეიძლება იყოს განხილული, როგორც

ჰსს-ის ერთ-ერთი ახლადგამოვლენილი მახასიათებელი (Carp 2015, Qin et al 2013, Maharjan et al 2018).

ცნობილია, რომ ჰომოცისტინი და ინსულინი ახდენენ ურთიერთგავლენას ღვიძლში (Chiang et al 2009).

ჰიპერჰომოცისტინემია წარმოადგენს მნიშვნელოვან რისკ-ფაქტორს მრავალი დაავადებისა და გართულების განვითარებისა, მათ შორისაა თრომბოზების განვითარების ალბათობა დედისა და ნაყოფის სისხლის მიმოქცევის სისტემაში, რასაც შედეგად მოჰყვება ორსულობის არასასურველი გამოსავალი (Esraa et al 2016).

ბოლო ათწლეულის მანძილზე ჩატარდა კვლევები ჰჰც-ის სიხშირის დადგენის მიზნით ქალებში ჰსს-ით (Meng et al 2016, Merviel et al 2017, Maharjan et al 2018). თუმცა მიღებული არაერთგვაროვანი შედეგები არ იძლევა საშუალებას დაზუსტდეს ჰჰც-ის მნიშვნელობა ჰსს-ს პათოგენეზში და შესაბამისად იზღუდება ჰომოცისტინის მაჩვენებლებზე დაყრდნობით პაციენტების მენეჯმენტში რაიმე რეკომენდაციის შეტანა, რაც მიუთითებს ამ მიმართულებით შემდგომი სრულფასოვანი კვლევების ჩატარების აუცილებლობაზე.

დადგენილია ჰჰც-ს კავშირი MTHFR (მეთილტეტრაჰიდროფოლატ რედუქტაზა) გენის გარკვეულ მუტაციებთან. ენზიმი MTHFR-ს აქტივობის დაქვეითებისას ირღვევა ჰომოცისტინის გარდაქმნის მეტაბოლური გზა და მისი შემცველობა სისხლის პლაზმაში იზრდება.

ექსპერიმენტული მონაცემებით ჰჰც შეიძლება იყოს ჩართული ოოციტების მომწიფების, ოვულაციის პროცესებში, გრანულოზას უჯრედების პროლიფერაციასა და

დიფერენციაციაში და სტეროიდოგენეზის პროცესში. ზემოაღნიშნული მონაცემები მიაჩნებენ შესაძლო კორელაციაზე MTHFR-ის დეფიციტსა და პსს-ს შორის (Jain et al 2012).

დადგენილია MTHFR C677T ჰომოზიგოტური მუტაციის მნიშვნელობა ორსულობის განმეორებითი დანაკარგების (ოგდ) პათოგენეზში პსს-ს მქონე პაციენტებში. თუმცა ლიტერატურაში არ არის მიქცეული ყურადღება რთული ჰეტეროზიგოტის (MTHFR C677T-CT /MTHFR A1298C-AC) მნიშვნელობაზე პაციენტებში პსს-თ, რომელსაც შესაძლოა ჰქონდეს ისეთივე კლინიკური მნიშვნელობა, როგორც MTHFR C677T ჰომოზიგოტურ მუტაციას.

MTHFR გენების პოლიმორფიზმი ხასიათდება პოპულაციური განსხვავებებით (Jain et al 2012, Karadeniz 2010). ამდენად MTHFR გენების მუტაციების გამოვლენას პსს-ის მქონე პაციენტებში ჰჰც-ს გენეზის განსაზღვრის მიზნით საქართველოში მეტად მნიშვნელოვანია.

იმის გათვალისწინებით, რომ პსს-ს პათოგენეზში ჰიპერჰომოცისტეინემიის როლის დადგენის მიზნით ჩატარებული კვლევები მცირერიცხოვანია, მიღებული შედეგები კი არაერთგვაროვანი, ამასთან ამ კვლევების უმრავლესობაში არ არის გამოკვლეული ჰჰც-ის გამომწვევი გენეტიკური მიზეზები, მიზანშეწონილად უნდა ჩაითვალოს ამ მიმართულებით კვლევების გაგრძელება გენეტიკური ფაქტორებისა და პოპულაციური თავისებურებების გათვალისწინებით.

კვლევის ჰიპოთეზა

ჰიპერჰომოცისტეინემია და MTHFR გენების პოლიმორფიზმი ასოცირებს პსს-სთან. ინსულინრეზისტენტობის მქონე პაციენტებში პსს-ით, როგორც ანოვულაციური უნაყოფობით, ასევე ორსულობის დანაკარგებით ჰიპერჰომოცისტეინემია არის ხშირი ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე პაციენტებთან შედარებით. პსს-ს მქონე ქალებში MTHFR გენების მუტაციებიდან ოგდ-სთან ასოცირებს MTHFR C677T ჰომოზიგოტა და რთული ჰეტეროზიგოტა (MTHFR C677T-CT/ MTHFR A1298C-AC). MTHFR A1298C-ს გენის ჰომოზიგოტური ფორმა ასოცირებს პსს-სთან ქალებში, რომელთაც არ აღენიშნებათ ოგდ და უვლინდებათ ანოვულაციური მენსტრუაციული ციკლი.

კვლევის მიზანი

ჰიპერჰომოცისტეინემიისა და MTHFR გენების პოლიმორფიზმის როლის დადგენა პსს-ის პათოგენეზში, ასოციაციების გამოვლენა ქალებში პსს-ით ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებსა და პსს-ის სხვა ბიოქიმიურ, ჰორმონულ მარკერებსა და საკვერცხეების მორფოლოგიურ მახასიათებლებს, MTHFR გენების პოლიმორფიზმსა და ორსულობის გამოსავალს შორის.

კვლევის ამოცანები

- ჰომოცისტეინის მაჩვენებლების შეფასება და ჰიპერჰომოცისტეინემიის სიხშირის დადგენა ქალებში პსს-ით;
- ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებსა და პსს-ს ბიოქიმიურ, ჰორმონულ მარკერებსა და საკვერცხეების მორფოლოგიურ მახასიათებლებს შორის კორელაციების გამოვლენა ქალებში პსს-ით;
- ჰიპერჰომოცისტეინემიის სიხშირის შედარებითი ანალიზი პაციენტებში პსს-ით ინსულინრეზისტენტობით და ინსულინრეზისტენტობის გარეშე;
- ჰიპერჰომოცისტეინემიის სიხშირის შედარებითი ანალიზი პსს-ის მქონე ქალებში, ოგდ-ით და ოგდ-ს გარეშე და ასოციაციების გამოვლენა რეპროდუქციულ გამოსავალთან;
- MTHFR C677T და MTHFR A1298C გენების სხვადასხვა მუტაციების სიხშირის და მათი ასოციაციების დადგენა პსს-თან;
- MTHFR გენების სხვადასხვა მუტაციების სიხშირის შედარებითი ანალიზი პსს-ს მქონე ქალებს შორის ოგდ-ით და ოგდ-ს გარეშე

ნაშრომის მეცნიერული სიახლე

- ✚ პირველად საქართველოს პოპულაციაში დადგენილი იქნა პსს-ს მქონე ქალებში ჰიპერჰომოცისტეინემიის სარწმუნოდ მაღალი სიხშირე საკონტროლო ჯგუფის მაჩვენებლებთან შედარებით, რაც ასოცირებს MTHFR C677T და MTHFR A1298C გენების პოლიმორფიზმთან;
- ✚ პირველად საქართველოს პოპულაციაში გამოვლენილი იყო დადებითი კორელაცია ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებსა და ინსულინრეზისტენტობას შორის ქალებში პსს-ით და ასოციაცია ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ინსულინრეზისტენტობას შორის;
- ✚ პირველად დადგენილი იქნა ჰიპერჰომოცისტეინემიისა და MTHFR გენების პოლიმორფიზმის და მათი ასოციაციების მნიშვნელოვანი როლი პსს-ს პათოგენეზში;
- ✚ პირველად ქალებში პსს-ით და ოგდ-ით სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით გამოვლინდა MTHFR C677T მუტაციების ჰომოზიგოტური ფორმა და MTHFR C677T / MTHFR A1298C-ს რთული ჰეტეროზიგოტა პსს-ს მქონე იმ ქალებთან შედარებით, რომელთაც ოგდ არ აღენიშნებათ, რაც მიუთითებს პსს-მქონე ქალებში ოგდ-ის პათოგენეზში აღნიშნული მუტაციების, განსაკუთრებით რთული ჰეტეროზიგოტის როლზე.
- ✚ პსს-ს მქონე ქალებში ოგდ-ს გარეშე სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით გამოვლენილი MTHFR A1298C-ს გენის მუტაციის ჰომოზიგოტური ფორმა პსს-ს მქონე იმ ქალებთან შედარებით, რომელთაც აღენიშნებათ ოგდ, და ასევე დადგენილი MTHFR A1298C-CC ჰომოზიგო-

ტური მუტაციის ასოციაცია ჰსს-სთან ქალებში ანოვულაციური უნაყოფობით მიუთითებს აღნიშნული მუტაციის (MTHFR A1298C-CC) შესაძლო როლზე ანოვულაციის პათოგენეზში ჰსს-მქონე ქალებში.

პრაქტიკული ღირებულება

- ✚ ქალებში ჰსს-ით დადგენილი კორელაციები ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ჰსს-ს სხვა ბიოქიმიურ, ჰორმონულ და საკვერცხეების მორფოლოგიურ მახასიათებლებთან მიუთითებს ჰსს-ს კომპლექსურ მკურნალობაში სხვა მეთოდებთან ერთად ჰიპერჰომოცისტეინემიის კორექციის მნიშვნელობაზე საკვერცხეების ფუნქციის გაუმჯობესებასა და ოვულაციური ფუნქციის აღდგენაში;
- ✚ ჰიპერჰომოცისტეინემიის და MTHFR გენების პოლიმორფიზმის მაღალი სიხშირე და ასოციაციები ქალებში ჰსს-ით და ოგდ-ით მიუთითებს ჰსს-ის მენჯემენტში ჰიპერჰომოცისტეინემიის კორექციის აუცილებლობაზე რეპროდუქციული გამოსავლის გასაუმჯობესებლად;
- ✚ ჰიპერჰომოცისტეინემია განხილული უნდა იქნას ჰსს-ს ახალ ბიოქიმიურ მარკერად და ჰომოცისტეინის დონის განსაზღვრა მიზანშეწონილია შეტანილი იქნას ჰსს-ს მქონე ქალების გამოკვლევის ნუსხაში.

დასაცავად გამოტანილი დებულებები

1. პაციენტებში პსს-ით ჰომოცისტეინის საშუალო მაჩვენებლები და ჰიპერჰომოცისტეინემიის სიხშირე სარწმუნოდ მაღალია საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებლებთან შედარებით;
2. პაციენტებში პსს-ით და ინსულინრეზისტენტობით ჰიპერჰომოცისტეინემია სარწმუნოდ ხშირია ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე ქალებთან შედარებით და ასოცირებს ინსულინრეზისტენტობასთან;
3. პსს-ს მქონე ქალებში ინსულინრეზისტენტობით სმი-ს, ჰომა-ინდექსის, იმუნორეაქტიული ინსულინის საშუალო მაჩვენებლები სარწმუნოდ მაღალია ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე ქალებთან შედარებით და დადებითად კორელირებს ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებთან;
4. ჰიპერჰომოცისტეინემია სარწმუნოდ ხშირია პსს-ს მქონე ქალებში ოგდ-ით პსს-ს მქონე იმ ქალებთან შედარებით, რომელთაც არ აღენიშნებათ ოგდ;
5. ჰიპერჰომოცისტეინემია ასოცირებს MTHFR C677T გენის მუტაციის ჰომოზიგოტურ ფორმასთან და MTHFR C677T/MTHFR A1298C-ს რთულ ჰეტეროზიგოტასთან პაციენტებში პსს-ით;
6. ქალებში პსს-ით და ოგდ-ით სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით გამოვლინდა MTHFR C677T გენის მუტაციების ჰომოზიგოტური ფორმა და MTHFR C677T/MTHFR A1298C რთული ჰეტეროზიგოტა პსს-ს მქონე იმ ქალებთან შედარებით, რომელთაც ოგდ არ აღენიშნებათ;

7. MTHFR A1298C-ს გენის ჰომოზიგოტური ფორმა ასოცირებს პსს-სთან ქალებში, რომელთაც არ აღენიშნებათ ოგდ და უვლინდებათ ანოვულაციური მენსტრუაციული ციკლი და ანოვულაციური უნაყოფობა.

ლიტერატურის მიმოხილვა

ენდოკრინული დარღვევები ქალის უნაყოფობის ერთ-ერთი უმნიშვნელოვანესი მიზეზია (Dumont et al 2015, Maharjan et al 2018). დადგენილია, რომ პოლიციისტური საკვერცხეების სინდრომი (ჰსს) არის არა მხოლოდ უნაყოფობის, არამედ ორსულობის თვითნებურად შეწყვეტის ერთ-ერთი მნიშვნელოვანი რისკ-ფაქტორი (Qin et al 2013, Carp 2015).

ჰსს-ს პათოგენეზში მოიაზრებდნენ ჰიპერინსულინემიას და ჰიპერანდროგენემიას, თუმცა ბოლო წლებში გაჩნდა მოსაზრებები იმის შესახებ, რომ ჰსს-ს პათოგენეზში შესაძლოა მნიშვნელოვან როლს ასრულებდეს ჰიპერჰომოცისტინემია (Qin et al 2013, Carp 2015, Maharjan et al 2018).

ცნობილია, რომ ჰომოცისტინი და ინსულინი ახდენენ ურთიერთგავლენას ღვიძლში ცისტათიონინ β-სინთეზას (CBS) ინჰიბირების გზით. შედეგობრივად ეს ვლინდება ჰიპერჰომოცისტინემიით, რომელიც იწვევს კომპენსატორულ ჰიპერინსულინემიას, რომელიც თავის მხრივ ვითარდება ინსულინრეზისტენტობის გამო. ყოველივე ამან შეიძლება დაარღვიოს MTHFR ან CBS ენზიმების აქტივობა, რასაც თან სდევს ჰომოცისტინის დონის მატება სისხლის პლაზმაში (Altug Sen et al 2011, Maharjan et al 2018).

ჰიპერჰომოცისტინემია (ჰჰც) ორსულობის ადრეულ ვადებზე, მათ შორის პრეიმპლანტაციურ პერიოდში ორსულობის დანაკარგების განვითარებას ხელს უწყობს იმპლანტაციის დარღვევით ენდომეტრიუმის სისხლდარ-

ღებში სისხლის ნაკადის შეფერხების გამო (Carp 2015, Esraa et al 2016). ორსულობის გვიან ვადებზე ვითარდება ისეთი გართულებები, როგორცაა: გესტაციური დიაბეტი (GD), პრეეკლამპსია (PE), ნაადრევი მშობიარობა (PTL), პლაცენტის ნაადრევი აცლა (AP), ნაყოფის ზრდაში ჩამორჩენა (IUGR) (Stegers-Theunissen et al 2004).

ბოლო ათწლეულის მანძილზე ჩატარდა კვლევები ჰჰც-ის სიხშირის დადგენის მიზნით ქალებში პსს-ით (Bar-On et al 2000, Meng et al 2016, Merviel et al 2017). გარდა ამისა შესწავლილი იყო ჰიპერჰომოცისტეინემიის კავშირი პსს-ის ისეთ მახასიათებლებთან, როგორცაა ინსულინ-რეზისტენტობა, ანდროგენების მომატებული დონე და სიმსუქნე (Bar-On et al 2000, Meng et al 2016, Merviel et al 2017). თუმცა მიღებული არაერთგვაროვანი შედეგები არ იძლევა საშუალებას დაზუსტდეს ჰიპერჰომოცისტეინემიის მნიშვნელობა პსს-ს პათოგენეზში (Meng et al 2016, Maharjan et al 2018).

დადგენილია ჰჰც-ს კავშირი MTHFR გენის გარკვეულ მუტაციებთან. MTHFR მონაწილეობას იღებს ჰომოცისტეინის მეთიონინად გარდაქმნაში კოფაქტორების პირიდოქსინის (ვიტამინი B6), ციანკობალამინისა (ვიტამინი B12) და სუბსტრატ ფოლიუმის მჟავას (ფოლატის) მონაწილეობით. მათი დეფიციტის შედეგად ირღვევა ჰომოცისტეინის გარდაქმნის მეტაბოლური გზა და მისი შემცველობა სისხლის პლაზმაში იზრდება.

MTHFR დეფიციტი და როგორც შედეგი ჰჰც იწვევს აზოტის ოქსიდის ფორმირების შემცირებას, რეაქტიული

ქანგბადის ფორმების მომატებას და პროანთეზადი ციტოკინების გამოთავისუფლებას. ქალის რეპროდუქციული ფუნქციები, განსაკუთრებით ფოლიკულოგენეზი და ოოგენეზი ძალიან მგრძობიარეა ზემოაღნიშნული ცვლილებების მიმართ (Jain et al 2012). MTHFR გენის პოლიმორფიზმები ამცირებენ MTHFR ენზიმის აქტივობას 30-70%-ით (Chango et al 2000, Weisberg et al 1998).

იმის გათვალისწინებით, რომ პსს-ს პათოგენეზში ჰიპერჰომოცისტეინემიის როლის დადგენის მიზნით ჩატარებული კვლევები მცირერიცხოვანია, მიღებული შედეგები კი არაერთგვაროვანი, მიზანშეწონილად უნდა ჩაითვალოს ამ მიმართულებით კვლევების გაგრძელება გენეტიკური ფაქტორების გამოკვლევით და პოპულაციური თავისებურებების გათვალისწინებით.

კვლევის ეთიკის საკითხები

კვლევის ჩატარებაზე მიღებულია შპს „რეპროდუქციული მედიცინის ცენტრი უნივერსი“-ს ეთიკური კომისიის თანხმობა (ოქმი N 4, 04.06.2020).

კვლევაში მონაწილე ყველა პირი იყო წინასწარ ინფორმირებული, განემარტათ კვლევის არსი და მიზანი და მიღებული იყო წერილობითი ინფორმირებული თანხმობა კვლევაში მონაწილეობაზე.

კვლევა ჩატარდა სასწავლო უნივერსიტეტი გეომედის სამეცნიერო ფონდის გრანტის ფარგლებში (GF-21-01):

„ჰიპერჰომოციტინემიის როლი უნაყოფობის და ორსულობის დანაკარგების პათოგენეზში პაციენტებში პოლიცისტური საკვერცხეების სინდრომით“.

კვლევის მასალა და მეთოდები

კვლევისთვის შერჩეულია შემთხვევა-კონტროლის კვლევის პროსპექტული დიზაინი. Power 0.8, α - 0.05, P value <0.05.

საკვლევი პოპულაცია

კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმები : როტერდამის კონსესუსის კრიტერიუმების შესაბამისად დადგენილი პსს-ს დიაგნოზი; ასაკი ≤ 35 წელი, ≥ 2 წელი მენარხედან.

კვლევაში არჩართვის კრიტერიუმები: პაციენტები ფარისებრი ჯირკვლის დისფუნქციით, ჰიპერპროლაქტინემიით, თანდაყოლილი ადრენალური ჰიპერპლაზიით, ანდროგენმაპროდუცირებელი სიმსივნეებით, კუმინგის სინდრომით, ანამნეზში ქირურგიული ჩარევით რეპროდუქციულ ორგანოებზე, კვლევაში ჩართვამდე ჰორმონოთერაპიიდან და/ან ვიტამინების კომპლექსის მიღებიდან

6 თვეზე ნაკლები გასული პერიოდი, ასაკი > 36 წელი, <2 წელი მენარხედან.

საკვლევი ჯგუფი შეადგინა კვლევაში ჩართვის კრიტერიუმების მიხედვით შერჩეულმა 18-35 წლის 95 პაციენტმა პსს-ით.

საკონტროლო ჯგუფი შეადგინა საკვლევ ჯგუფთან შესაბამისი საშუალო ასაკის 84-მა ჯანმრთელმა ქალმა ცოცხლადშობადობით, რეგულარული მ/ციკლით, ჰიპერანდროგენემიის კლინიკური გამოვლინებების და პსს-ს ოჯახური ანამნეზის გარეშე.

საკვლევი (23.5 ± 3.5) და საკონტროლო ჯგუფის ქალების საშუალო ასაკი (24.5 ± 2.2) სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ერთმანეთისგან ($p > 0.05$).

რეპროდუქციული ფუნქციის თავისებურებების მიხედვით საკვლევი ჯგუფი დაიყო 2 ჯგუფად: პსს ოგდ-თ ($n=58$), პსს ოგდ-ს გარეშე (უნაყოფობით და ცოცხლადშობადობით) – ($n=37$) და გაანალიზებული იყო გამოყოფილი ჯგუფების მიხედვით ჰომოცისტეინის მაჩვენებლები და MTHFR გენების მუტაციები (MTHFR C677T-CT, MTHFR C677T-TT, MTHFR A1298C-AC, MTHFR A1298C-CC).

კვლევის მეთოდოლოგია

კვლევაში ჩართულ ყველა პაციენტს ჩაუტარდა პერსონალური და ოჯახური ანამნეზის, მენსტრუაციული ციკლის შეფასება და ობიექტური კლინიკური, ინსტრუმენტული და ლაბორატორიული გამოკვლევა.

საკვლევი ჯგუფის შერჩევისას პსს-ს დიაგნოზი ემყარებოდა 2003 წელს როტერდამის კონსესუსზე მიღებულ დიაგნოსტიკურ კრიტერიუმებს (The Rotterdam ESHRE ASRM-Sponsored PCOS Concesus. Workshop 2003).

სმი-ს შესაფასებლად გამოყენებული იყო ჯანდაცვის მსოფლიო ორგანიზაციის 2004 წლის გადახედვის შედეგად დამტკიცებული საერთაშორისო კლასიფიკაცია.

სხეულის ცხიმოვანი ქსოვილის განაწილების თავისებურებების დადგენის მიზნით ხდებოდა წელისა და თეძოს გარშემოწერილობათა (სმ-ში) თანაფარდობის ინდექსის განსაზღვრა.

ჰირსუტიზმის შეფასება ხდებოდა ფერიმან და გალვეის მოდიფიცირებული ჰირსუტიზმის შეფასების შკალით (mFG). აკნეს შეფასება ხდებოდა 3 კატეგორიის მიხედვით (მსუბუქი, საშუალო და მძიმე), სტრიების - თეთრი და ფერადი (ვარდისფერი, წითელი ან მუქი შინდისფერი). დგინდებოდა ჰიპერჰიგმენტაციის (შავი აკანტოზი) არსებობა.

მენსტრუაციული ციკლის მე-2-3 დღეს ყველა მონაწილეს ჩაუტარდა მცირე მენჯის ღრუს ორგანოების ულ-

ტრასონოგრაფიული გამოკვლევა აპარატით -VOLUSON E10 (General Electric s USA).

ჰომოცისტინის განსაზღვრა სისხლის შრატში ხდებოდა დახურული სისტემის ანალიზატორით (Humalyzer Primus semi-automated Bychemistry analyzer, German) სპექტრომეტრული მეთოდის გამოყენებით, რეფერენსული მაჩვენებლები 4,4-10,8 $\mu\text{mol/l}$ (Queenan 2010).

MTHFR C677T და A1298C პოლიმორფიზმების დადგენა ხდებოდა გენოტიპირების ჩატარებით პოლიმერაზული ჯაჭვური რეაქციის მეთოდის გამოყენებით. gDNA იზოლირებული იყო კვლევაში მონაწილე თითოეული პაციენტის მთლიანი სისხლიდან, სისხლის დნმ-ის მომზადების - სვეტის ნაკრების გამოყენებით (Jena Bioscience), მწარმოებლის მიერ მოწოდებული პროტოკოლის მიხედვით.

კვლევაში ჩართვამდე ყველა პაციენტს ჰორმონული გამოკვლევა ჩატარდა მენსტრუაციული ციკლის მე-2-3 დღეს დიაგნოზის დაზუსტების მიზნით. განისაზღვრა შემდეგი ჰორმონების დონე სისხლის შრატში: FSH, LH, AMH, E2, T, FT, SHBG, HOMA-IR. კვლევაში არჩართვის კრიტერიუმების დასადგენად: PRL, TSH, FT4, anti-TPO, anti-TG, 17OHP, DHEA-S, კორტიზოლი იმუნოფერმენტული მეთოდით (ELISA, Beckman Coulter, USA) .

კვლევის ყველა მონაწილეში ხდებოდა ინსულინრეზისტენტობის შეფასება HOMA-IR-ის მაჩვენებელზე დაყრდნობით.

სტატისტიკური ანალიზი

მონაცემები დამუშავდა სტატისტიკური ანალიზის პროგრამების SPSS 24.0 (Statistical Package for Social Sciences, version 24) და PAST v. 4. 40 გამოყენებით. Odds ratio-ს კალკულაციისთვის იყო გამოყენებული ლოგისტიკური რეგრესიის მეთოდი. მონაცემთა ასაღწერად გამოყენებული იყო: ცენტრალური ტენდენციის საზომი (საშუალო არითმეტიკული), ვარიაბელობის საზომი (სტანდარტული გადახრა), სიხშირეთა პროცენტული განაწილება, კროსტაბულაცია, განაწილების ნორმალურობის შესამოწმებლად კოლმოგოროვ-სმირნოვის ტესტი. ჯგუფების შედარებისათვის გამოყენებული იყო: X^2 (კატეგორიული ცვლადებისთვის), პირსონის კორელაციური ანალიზი მონაცემებს შორის კორელაციური კავშირის დასადგენად. დასკვნითი სტატისტიკიდან იყო გამოყენებული ერთფაქტორიანი დისპერსიული ანალიზი (one way ANOVA). ორი დამოუკიდებელი ჯგუფის შესადარებლად გამოყენებული იყო მან-უიტნის ტესტი. სპირმანის კორელაციური ანალიზი გამოყენებული იყო ორი რაოდენობრივი ცვლადის კავშირის შესაფასებლად. მონაცემები შემოწმდა სანდოობის 0.05 დონეზე ($p < 0,05$ იყო მიჩნეული სტატისტიკურად სარწმუნოდ). რაოდენობრივი ცვლადები წარმოდგენილია \pm სტანდარტული გადახრებით, ხოლო კატეგორიული ცვლადები - პროცენტებით.

შედეგები და დისკუსია

მენარხეს ასაკის საშუალო მაჩვენებლები პაციენტებში პსს-ით (13.8 ± 3.5 წელი) და საკონტროლო ჯგუფში (12.4 ± 4.2 წელი) სტატისტიკურად სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდნენ ერთმანეთისგან ($p > 0.05$). პსს-ს მქონე პაციენტებს მენსტრუაციული ციკლის დარღვევები აღენიშნებოდათ შემთხვევათა 84,2%-ში (80 პაციენტი).

საკვლევი ჯგუფის პაციენტების ზოგადი დახასიათება განხილულია ქვემოთ ინსულირეზისტენტობის სტატუსის მიხედვით.

საკვლევ ჯგუფსა და საკონტროლო ჯგუფში განისაზღვრა ჰომოცისტეინის დონე. ჰომოცისტეინის საშუალო მაჩვენებელი ($36-11.04 \mu\text{mol/l}$) სარწმუნოდ აღემატებოდა შესაბამის მაჩვენებელს საკონტროლო ჯგუფში ($36-7.75 \mu\text{mol/l}$, $p < 0.05$). მსგავსი შედეგები მიიღეს Suleiman-მა (2018) და სხვა ავტორებმა თავის კვლევებში (Wu et al 2016, Maharjan et al 2018, Diwaker et al 2018). თუმცა ზოგიერთ კვლევაში ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებს შორის სხვაობა ვერ ინახა პაციენტებში პსს-ით და საკონტროლო ჯგუფში (Palomba et al 2010).

ჩვენს მიერ ასევე გაანალიზებული იყო ჰპც-ის სიხშირე საკვლევ და საკონტროლო ჯგუფებში. პსს-ს მქონე ქალებში ჰპც-ის სიხშირე (50,5%, $n=48$) სარწმუნოდ მაღალი იყო საკონტროლო ჯგუფის ქალებთან შედარებით (4,8%, $n=4$, $p < 0,001$). ჩვენი კვლევის მონაცემებს ემთხვევა სხვა კვლევების მონაცემები (Maleedhu et al 2014, Maharjan et al

2018, Suleiman et al 2018, Diwaker et al 2018), თუმცა ზო-გიერთმა ავტორმა თავის კვლევაში ვერ ნახა სხვაობა ჰო-მოცისტინის მაჩვენებლებს შორის პსს-ს მქონე და საკონტროლო ჯგუფის ქალებს შორის (Palomba, 2010).

პსს-ის მქონე პაციენტებში ოგდ-თ (n=39, Hhcy 67,2%) და ოგდ-ს გარეშე (n=9, Hhcy 27.3%) ჰპვ გამოვლინდა სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (n=4, Hhcy 4.8%, $p < 0.05$). მსგავსი შედეგები მიღებულია რამდენიმე კვლევაში ოგდ-თან მიმართებაში (Carp 2015, Esraa et al 2016).

ცხრილი 1. ასოციაცია ჰიპერჰომოცისტინემიასა და რეპროდუქციულ გამოსავლებს შორის საკვლევ ჯგუფში

რეპროდუქციული ფუნქცია	პაციენტების რაოდენობა (n-95)	Pirson chi-square	95% სარწმუნოების ინტერვალი		Odds ratio	P
			ქვედა	ზედა		
პსს-ს მქონე პაციენტები ჰიპერჰომოცისტინემიით და ოგდ-თ	39 (41%)	16.645	2.520	16.184	6.386	< 0.001
პსს-ს მქონე პაციენტები ჰიპერჰომოცისტინემიით და ოგდ-ს გარეშე	9 (9.5 %)	16.645	0.062	0.397	0.157	< 0.001

ჩვენს მასალაზე ჰპვ-სა და რეპროდუქციულ გამოსავლებს შორის ანალიზის ჩატარებისას აღმოჩნდა, რომ პაციენტებში პსს-ით ჰპვ სარწმუნოდ ასოცირებს როგორც ოგდ-თან, ასევე ანოვულაციურ უნაყოფობასთან ($p < 0.001$)

(ცხრ.1). რეპროდუქციული გამოსავლების მიხედვით განალიზებული მსგავსი მონაცემები ლიტერატურაში არ მოიპოვება.

განალიზებული იყო კლინიკური, ჰომოცისტინის და ჰორმონული მაჩვენებლები, საკვერცხეების მორფოლოგიური მახასიათებლები პსს-ის მქონე პაციენტებში ინსულინრეზისტენტობის სტატუსის მიხედვით. ჰპც-ის მქონე პაციენტებში პსს-ით და ინსულინრეზისტენტობით საშუალო და მძიმე ხარისხის აკნეს (79%) და ჰირსუტიზმის (89,5%) სიხშირე სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე ქალების ჯგუფის მონაცემებისგან ჰპც-ით (შესაბ. 71% და 81%, $P>0.05$). შავი აკანტოზი აღინიშნა მხოლოდ ინსულინრეზისტენტობის მქონე პაციენტებში პსს-ით (28,9%). ლიტერატურაში არ არის შედარებული დერმატოპათიების გამოვლენის სიხშირე ჰპც-ს მქონე პაციენტებში პსს-ით ინსულინრეზისტენტობით და ინსულინრეზისტენტობის გარეშე.

ცხიმის აბდომინურად განაწილების სიხშირე (წელითემოს გარშემოწერილობის ფარდობა $>0,8$) ინსულინრეზისტენტობის მქონე ქალებში პსს-ით და ჰპც-ით, როგორც მომატებული, ასევე ნორმალური სმი-ს შემთხვევებში (91%, $n=35$) სარწმუნოდ ხშირი იყო ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე პაციენტებთან შედარებით (19%, $n=6$, $p<0.001$). ლიტერატურაში არსებულ კვლევებში ასევე არ არის განხილული ცხიმის განაწილების მონაცემები პსს-ს მქონე პაციენტებში ჰპც-ით ინსულინრეზისტენტობით და ინსულინრეზისტენტობის გარეშე.

ჩვენი კვლევის მონაცემებით ინსულინრეზისტენტობის მქონე პსს-ს მქონე 57 პაციენტს (60%) და ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე 38 პაციენტს (40%) აღნიშნებოდა მენსტრუაციული ციკლის დარღვევები უპირატესად ოლიგომენორიის (61,6%) და ანოვულაციური მენსტრუაციული ციკლის სახით (20,6%).

პსს-ს მქონე პაციენტებში ინსულინრეზისტენტობით და მის გარეშე ჩატარდა შემდეგი მაჩვენებლების შედარებითი ანალიზი: ასაკი, სმი, ინსულინი, ჰომა-ინდექსი, საერთო და თავისუფალი ტესტოსტერონი, სჰპგ, მლ/ფმჰ, ამჰ, საკვერცხეების მოცულობა, აფრ, ჰომოცისტეინი. სტატისტიკური ანალიზით გამოვლინდა, რომ შედარებული ჯგუფები ერთმანეთისგან სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა მაჩვენებლების უმეტესობაში. სარწმუნო სხვაობა გამოვლინდა ჰომოცისტეინის (შესაბ. 12.74± 2.792 და 9.21± 2.336μmol/l, p<0.001), სმი-ს (შესაბ. 24,18±3,935 და 21,4±1,67, p<0.05), ჰომა-ინდექსის (შესაბ. 3,369±0,816 და 1,21±0,499, p<0,001) და ინსულინის (შესაბ. 14,4±2,06 და 4,4±1,67 MU/ml, p<0.001) მაჩვენებლებს შორის. მსგავსი შედეგები მიიღეს სხვა ავტორებმაც (Maharjan et al 2018, Chang et al 2019).

ჰჰც-სა და ინსულინრეზისტენტობას შორის კავშირის არსებობის გაანალიზებისას გამოვლინდა სარწმუნო ასოციაცია ჰჰც-სა და ინსულინრეზისტენტობას შორის პაციენტებში პსს-თ (P<0,001) (ცხრ.2). მსგავსი მონაცემები მიღებული იყო რამდენიმე კვლევაში (Rekha et al 2013, Maharjan et al 2018, Esmaeilzadeh et al 2017). თუმცა Yuming Meng და თანაავტორების მიერ ჩატარებული

მეტა-ანალიზით (2016) ვერ დადგინდა კავშირი პსს-ს მქონე პაციენტებში ჰპც-სა და სიმსუქნის ხარისხსა და ინსულინ-რეზისტენტობას შორის.

ცხრილი 2. ასოციაცია ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ინსულინ-რეზისტენტობას შორის პაციენტებში პსს-ით

	პაციენტების რაოდენობა (n-95)	პირსონის chi-square	სარწმუნოების ინტერვალი 95%		Odds Ratio	P
			ქვედა	ზედა		
ჰიპერჰომოცისტეინემია	37 (62,7%)	21,102	0,015	0,222	0,059	<0,001

პაციენტებში პსს-ით ინსულინრეზისტენტობით და ინსულირეზისტენტობის გარეშე, სიმპტომების რისკის ნამეტის თანაფარდობა (Odds ratio) შეფასდა ლოგისტიკური რეგრესიის საფუძველზე. კვლევის შედეგად გამოვლინდა, რომ ქალებში პსს-ით და ინსულინრეზისტენტობით ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე ქალებთან შედარებით მომატებული იყო: ჰომოცისტეინის, ინსულინის მაჩვენებლები, ჰომა-ინდექსი, აფრ და საკვერცხეების საშუალო მოცულობა (ცხრ.3). ლიტერატურაში არსებული მონაცემები ემთხვევა ჩვენი კვლევის მონაცემებს (Lin 2013, Meng 2016).

ცხრილი 3. ლოგისტიკური რეგრესიით შედეგები ცვლადების-
თვის

მაჩვენებლები	ბეტა (B)	სტანდ. ცდომილება	უაილდის ინდექსი	თ/ხ	P	Exp B	Exp B ქვედა	Exp B ზედა
AMH	0.050	0.150	0.109	1	0.741	1.051	0.783	1.409
IRI	1.344	0.430	9.770	1	0.002	3.834	1.651	8.904
HOMA-IR	5.604	1.931	8.422	1	0.004	2.715	6.167	11.956
Ov/vol	-0.396	0.176	5.085	1	0.024	0.673	0.477	0.949
AFC	0.138	0.079	3.043	1	0.041	1.148	0.983	1.341
LH	0.143	0.154	0.853	1	0.356	1.153	0.852	1.561
TT	0.157	2.985	0.003	1	0.958	1.170	0.003	4.062
FT	0.342	0.477	0.514	1	0.473	1.408	0.553	3.588
17OHP	1.615	0.924	3.057	1	0.080	5.029	0.822	3.756
SHBG	-0.005	0.032	0.029	1	0.865	0.995	0.935	1.058
FAI	-0.021	0.145	0.020	1	0.886	0.980	0.738	1.301
Homo-cysteine	-0.545	0.718	9.535	1	0.001	2.834	4.966	2089
Constant	16.14	6.261	6.653	1	0.010	0.000		

პაციენტებში პსს-ით ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებსა და ჰორმონულ და საკვერცხეების მორფოლოგიურ მახასიათებლებს შორის კორელაციების შესწავლისას გამოვლინდა, რომ პაციენტებში პსს-ით ჰომოცისტეინთან სარწმუნოდ დადებითად კორელირებს მხოლოდ სმი (R=0.37,

$P < 0.05$), ჰომა-ინდექსი ($R = 0.695$, $P < 0.001$), თავისუფალი ტესტოსტერონი ($R = 0.373$, $P < 0.001$), საერთო ტესტოსტერონი ($R = 0.552$, $P < 0.001$), ამჰ ($R = 0.552$, $P < 0.001$) და საკვერცხეების მოცულობა ($R = 0.647$, $P < 0.001$). სხვა კლინიკურ და ჰორმონულ მონაცემებთან ჰომოცისტინის მაჩვენებლები სარწმუნოდ არ კორელირებს. მსგავსი შედეგები გამოვლინდა რამდენიმე კვლევაში (Guzelmeric et al 2007, Lin et al 2013), თუმცა ზოგიერთ კვლევაში ვერ დაადასტურეს პსს-ის ამ მახასიათებლებს შორის სხვაობა ინსულინრეზისტენტობის მაჩვენებლის მიხედვით (Moti et al 2015, Meng et al 2016, Al-Gareeb et al 2016).

პაციენტებში პსს-ით ჰომოცისტინის მაჩვენებლებსა და ჰორმონულ და საკვერცხეების მორფოლოგიურ მახასიათებლებს შორის კორელაციების შესწავლისას გამოვლინდა, რომ პაციენტებში პსს-ით ჰომოცისტინთან სარწმუნოდ დადებითად კორელირებს მხოლოდ სმი ($R = 0.37$, $P < 0.05$), ჰომა-ინდექსი ($R = 0.695$, $P < 0.001$), თავისუფალი ტესტოსტერონი ($R = 0.373$, $P < 0.001$), საერთო ტესტოსტერონი ($R = 0.552$, $P < 0.001$), ამჰ ($R = 0.552$, $P < 0.001$) და საკვერცხეების მოცულობა ($R = 0.647$, $P < 0.001$). სხვა კლინიკურ და ჰორმონულ მონაცემებთან ჰომოცისტინის მაჩვენებლები სარწმუნოდ არ კორელირებს. მსგავსი შედეგები გამოვლინდა რამდენიმე კვლევაში (Guzelmeric et al 2007, Lin et al 2013), თუმცა ზოგიერთ კვლევაში ვერ დაადასტურეს პსს-ის ამ მახასიათებლებს შორის სხვაობა ინსულინრეზისტენტობის მაჩვენებლის მიხედვით (Moti et al 2015, Meng et al 2016, Al-Gareeb et al 2016).

ჩვენი კვლევის მონაცემებით ჰომოცისტეინის საშუალო მაჩვენებელი ინსულინრეზისტენტობის მქონე პაციენტებში პსს-ით და ოგდ-ით ($11.5 \pm 2.24 \mu\text{mol/l}$) სტატისტიკურად სარწმუნოდ მაღალი იყო და სარწმუნოდ ხშირი (78,9%) ოგდ-ს გარეშე პსს-ის მქონე პაციენტებთან შედარებით ($7.55 \pm 2.45 \mu\text{mol/l}$, 21,1% $p < 0.001$). ლიტერატურაში არსებული კვლევები ემთხვევა ჩვენს მონაცემებს (Chang et al 2019, Feng et al 2021).

ჰპკ-ის სიხშირის გაანალიზებისას რეპროდუქციული გამოსავლების მიხედვით პაციენტებში პსს-ით ინსულინრეზისტენტობის სტატუსის მიხედვით გამოვლინდა, რომ ჰპკ-სა და ოგდ-ს მქონე პაციენტებში პსს-ით ინსულინრეზისტენტობა აღინიშნებოდა 78,9%-ში, რაც სარწმუნოდ უფრო ხშირი იყო ვიდრე პაციენტებში პსს-ით ოგდ-ს გარეშე (54,3%, $p < 0.001$). მსგავსი მონაცემები ლიტერატურაში არ მოიპოვება.

პაციენტებში პსს-თ და საკონტროლო ჯგუფში გაანალიზდა MTHFR გენების მუტაციების სიხშირეები სახეების მიხედვით (ცხრ.4). Szafarowska-ს მიერ ჩატარებულ კვლევაში (2016) არ არის განხილული MTHFR გენების ყველა მუტაციის სიხშირე.

ცხრილი 4. MTHFR გენების პოლიმორფიზმი ქალებში პსს-ით

MTHFR პოლიმორფიზმები	პაციენტები პსს-ით n-95	საკონტროლო ჯგუფი n-84	P value
MTHFR C677T-TT (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	11 (11.6 %)	1 (1.2 %)	< 0.05
MTHFR C677T-TT (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	19 (20 %)	5 (5.9 %)	< 0.05
MTHFR A1298C-CC (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	11 (11.6 %)	1 (1.2 %)	< 0.05
MTHFR A1298c-AC (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	15 (15.8 %)	9 10.7 %	> 0.05
MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (რთული ჰეტეროზიგოტა)	19 (20 %)	2 (2.4 %)	< 0.05

ჩვენს კვლევაში ასევე გაანალიზებული იყო MTHFR გენების მუტაციების სიხშირე სახეების მიხედვით ჰპც-ს მქონე პაციენტებში პსს-ით (n-48) და საკონტროლო ჯგუფის იმ ქალებში, რომელთაც აღენიშნებოდათ ჰპც (n-4). ქალებში პსს-ით და ჰპც-თ MTHFR C677T ჰომოზიგოტური მუტაციის და MTHFR C677T/ MTHFR A1298C რთული ჰეტეროზიგოტის სიხშირე (45.8%) სარწმუნოდ მაღალი იყო საკონტროლო ჯგუფის ქალებთან შედარებით (0%, p<0,05). ასევე სარწმუნოდ მაღალი აღმოჩნდა MTHFR A1298C ჰომოზიგოტური მუტაციის სიხშირე (8.3%) ქა-

ლებში χ^2 -ით საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით (0%, $p < 0,05$). საინტერესო აღმოჩნდა ასევე ის ფაქტი, რომ საკონტროლო ჯგუფის ქალებში χ^2 -ით ($n=4$, 100%) არცერთ შემთხვევაში არ გამოვლინდა MTHFR გენების კლინიკურად მნიშვნელოვანი მუტაცია. მსგავსი მონაცემები ლიტერატურაში არ მოიპოვება.

χ^2 -ს მქონე პაციენტებში χ^2 -ით MTHFR გენების მუტაციების სახეების მიხედვით რეპროდუქციული ფუნქციის სხვადასხვა დარღვევების გაანალიზებისას გამოვლინდა MTHFR C677T ჰომოზიგოტის და რთული ჰეტეროზიგოტის MTHFR C677T/MTHFR A1298C სარწმუნოდ მაღალი სიხშირე χ^2 -ს ჯგუფში ოგდ-ით ($n=20$, 51,3%) ოგდ-ს გარეშე χ^2 -ს მქონე პაციენტებთან ($n=2$, 22%, $P < 0,05$) და საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ($n=0$, 0%, $P < 0,001$). პაციენტებში χ^2 -ით ოგდ-ს გარეშე საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით აღნიშნული მუტაციების სიხშირე ასევე სარწმუნოდ მაღალი აღმოჩნდა ($P < 0,001$). MTHFR A1298C ჰომოზიგოტური მუტაცია პაციენტებში χ^2 -ით ოგდ-ს გარეშე ($n=2$, 22%) სარწმუნოდ ხშირი აღმოჩნდა χ^2 -ს მქონე პაციენტებთან ოგდ-ით ($n=2$, 5.13%, $p < 0,05$) და საკონტროლო ჯგუფის ქალებთან შედარებით ($n=0$, 0%, $p < 0,001$). მსგავსი მონაცემები არ მოიპოვება ლიტერატურაში.

ცხრილი 5. MTHFR გენების მუტაციების სახეების განაწილება და ასოციაციები პაციენტებში პსს-თ

MTHFR პოლიმორფიზმები	პაციენტების პსს-თ (n-95)	Pirson chi-square	95% სარწმუნოების კოეფიციენტი		Odds ratio	P
			ქვედა	ზედა		
MTHFR C677T-TT (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	11 (11.6%)	5.501	0.41	0.877	0.189	< 0.05
MTHFR C677T-TT (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	21 (22.1%)	2.465	0.239	1.179	0.531	> 0.05
MTHFR A1298C-CC (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	11 (11.6%)	5.6	0.04	2.58	0.186	< 0.05
MTHFR A1298c-AC (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	18 (18.9%)	0.367	0.606	2.58	1.25	> 0.05
MTHFR C677T- CT/MTHFR A1298C-AC (რთული ჰეტეროზიგოტა)	18 (18.9%)	8.322	0.069	0.661	0.214	< 0.005

ასევე გაანალიზებული იყო MTHFR გენების სახეების განაწილება და ასოციაციები პაციენტებში პსს-თ. როგორც ცხრილი 5-დან ჩანს MTHFR გენების მუტაციების სხვადასხვა სახეებიდან MTHFR C677T-TT (ჰომოზიგოტური მუტაცია), MTHFR A1298C-CC (ჰომოზიგოტური მუტაცია) და MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (რთული ჰეტეროზიგოტა) სარწმუნოდ ასოცირებს პოლიციისტური საკვერცხეების სინდრომთან ($p < 0.05$). ლიტერატურაში არსე-

ბულ კვლევებში არ არის სრულფასოვნად განხილული MTHFR გენების მუტაციების სიხშირე და ასოციაცია პსს-თან (Wu J.B et al 2016). Szafarowska-მ (2016) ვერ ნახა კავშირი MTHFR გენების მუტაციებსა და პსს-ს შორის. თუმცა მათ კვლევებში განხილულია მხოლოდ MTHFR C677T გენის მუტაციების ასოციაციების ანალიზი ჰომოცისტეინის მაჩვენებლებსა და პსს-სთან, მათ არ აქვთ გამოკვლეული MTHFR A1298C გენის მუტაციები და რთული ჰეტეროზიგოტა (MTHFR C677T-CT/MTHFR 1298C-AC) (Choi et al 2009, Karadeniz et al 2010, Qi et al 2015).

განალოზდა პსს-ს მქონე პაციენტების განაწილება ჰომოცისტეინემიის მაჩვენებლების, MTHFR გენების მუტაციების სახეების სიხშირის მიხედვით რეპროდუქციული ფუნქციის სხვადასხვა დარღვევებით. აღსანიშნავია, რომ MTHFR A1298C ჰომოზიგოტური მუტაციის სიხშირე სარწმუნოდ არ განსხვავდებოდა პაციენტებში პსს-ით ოგდ-თ და ოგდ-ს გარეშე ქალებში ჰიპერჰომოცისტეინემიით ($P > 0,05$), მაგრამ სარწმუნოდ ხშირი იყო საკონტროლო ჯგუფთან შედარებით ($P < 0,05$). მსგავსი მონაცემები ლიტერატურაში არ მოიპოვება (ცხრ.6)

პაციენტებში პსს-თ გამოვლინდა ასოციაციები ოგდ-სა და MTHFR C677T-TT ჰომოზიგოტურ მუტაციას, MTHFR C677T-CT ჰეტეროზიგოტურ მუტაციას, MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC რთულ ჰეტეროზიგოტას შორის ($P < 0,05$) და არ გამოვლინდა MTHFR A1298C-CC ჰომოზიგოტური მუტაციის და MTHFR A1298C-AC ჰეტეროზიგოტური მუტაციის ასოციაციები ოგდ-სთან ($P > 0,05$) (ცხრ.7).

ცხრილი 6. შსს-ს მქონე პაციენტების განაწილება ჰომოცისტეინემიის მაჩვენებლების, MTHFR გენების მუტაციების სახეების სიხშირის მიხედვით რეპროდუქციული ფუნქციის სხვადასხვა დარღვევებით

რეპროდუქციული გამოსავალი	პაციენტები შსს და ოგდ-ს (n=58)		პაციენტები შსს და ოგდ-ს გარეშე (n=33)		საკონტროლო ჯგუფი (n=84)		p*	p**	p***
	>10.8	<10.8	>10.8	<10.8	>10.8	<10.8			
ჰომოცისტეინი (μmol/l)									
MTHFR C67T-TT (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	8 13.8%	0 0%	1 3%	0 0%	0 0%	0 0%	< 0.05	< 0.05	< 0.05
MTHFR C67T-TT (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	12 20.7%	4 6.9%	3 9.1%	2 6.1%	0 0%	10 11.9%	<0.001	<0.05	<0.001
MTHFR A1298C-CC (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	3 5.2%	2 3.5%	2 6.1%	2 6.1%	0 0%	2 2.4%	< 0.05	< 0.05	> 0.05
MTHFR A1298c-AC (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	5 8.6%	3 5.2%	1 3%	9 27.3%	2 2.4%	16 19.1%	> 0.05	> 0.05	> 0.05
MTHFR C67T-CT/MTHFR A1298C-AC (რთული ჰეტეროზიგოტა)	14 24.1%	2 3.5%	1 3%	0 0%	0 0%	2 2.4%	<0.001	<0.05	<0.001

Botto-ს მიერ (2000) ჩატარებულ კვლევაში ნახსენებია, რომ რთულ ჰეტეროზიგოტას შესაძლოა ჰქონდეს კავშირი ოგდ-თან, მაგრამ არ არის დადასტურებული შესაბამისი მონაცემები.

ცხრილი 7. პაციენტებში χ^2 -ს მTHFR გენების მუტაციების სახეების განაწილება და ასოციაციები ოგდ-სთან

MTHFR პოლიმორფიზმი	პაციენტები χ^2 -ს-ით (n-58)	Pirson chi- square	95% სარწმუნოობის ს ინტერვალი		Odds ratio	P
			ქვედა	ზედა		
MTHFR C677T-TT (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	8 (13.8%)	5.433	1.157	11.906	3.712	< 0.05
MTHFR C677T-TT (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	16 (27.6%)	5.509	1.146	5.453	2.5	> 0.05
MTHFR A1298C-CC (ჰომოზიგოტური მუტაცია)	5 (8.6%)	0.235	0.416	4.268	1.333	> 0.05
MTHFR A1298c-AC (ჰეტეროზიგოტური მუტაცია)	8 (13.8%)	2.475	0.216	1.194	0.508	> 0.05
MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (რთული ჰეტეროზიგოტა)	16 (27.6%)	18.622	2.679	19.899	7.302	< 0.001

პაციენტებში χ^2 -ს ოგდ-ს გარეშე MTHFR გენების სახეების განაწილების და რეპროდუქციულ გამოსავალთან მათი ასოციაციების გაანალიზებისას სარწმუნო ასოციაცია აღმოჩნდა მხოლოდ MTHFR A1298C-CC (ჰომოზიგოტურ მუტაციასთან) ($p < 0.05$) (ცხრ.8). მსგავსი მონაცემები მიიღეს Feng (2021) და Xiong-მა (2020) თანაავტორებთან ერთად ჩატარებულ კვლევებში.

ბილით, ორსულობა პროგრესირებს შემთხვევითა 20,5%, პრეგრავიდარულ მომზადებას იტარებს 12,8%, ორსულობა შეწყდა შემთხვევითა 18%-ში, არ დაორსულდა 7 პაციენტი (18%). ოვულაციის მედიკამენტოზური სტიმულირების ჩატარება საჭირო გახდა შემთხვევითა 46%-ში. მსგავსი მონაცემები ლიტერატურაში არ მოიპოვება.

ოგდ-ს გარეშე პსს-ის მქონე 37 ქალიდან 9-ს აღენიშნებოდა ჰჰც. მათი რეპროდუქციული გამოსავლების გაანალიზებისას ჰჰც-ის კორექციისა და პრეგრავიდარული მომზადების შემდეგ მიღებულია შემდეგი მონაცემები: ინტენსიური ანტენატალური მეთვალყურეობით და ლაბორატორიული მონაცემების (მათ შორის ჰომოცისტეინის მაჩვენებლების) კონტროლით შემთხვევითა 44,4% დასრულდა ცოცხლადშობადობით ჯანმრთელი ახალშობილით, ორსულობა პროგრესირებს შემთხვევითა 22,2%, პრეგრავიდარულ მომზადებას იტარებს 22,2%, ორსულობა არ დადგა შემთხვევითა 11,1%. ოვულაციის მედიკამენტოზური სტიმულირების ჩატარება საჭირო გახდა ყველა პაციენტთან. მსგავსი მონაცემები ლიტერატურაში არ მოიპოვება.

დასკვნები

1. პაციენტებში პსს-ით ჰომოცისტეინის საშუალო მაჩვენებელი სარწმუნოდ მაღალია საკონტროლო ჯგუფის შესაბამის მაჩვენებელთან შედარებით;
2. პაციენტებში პსს-ით ჰიპერჰომოცისტეინემია სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით გვხვდება საკონტროლო ჯგუფის ქალებთან შედარებით და ასოცირებს პსს-სთან, რაც მიუთითებს იმაზე, რომ ჰიპერჰომოცისტეინემია შეიძლება განხილული იყოს პსს-ს ერთ-ერთ მახასიათებლად;
3. პაციენტებში პსს-ით და ინსულინრეზისტენტობით ჰიპერჰომოცისტეინემიის სარწმუნოდ მაღალი სიხშირე ინსულინრეზისტენტობის გარეშე პსს-ს მქონე ქალებთან შედარებით და ჩვენს მიერ დადგენელი ასოციაცია ჰიპერჰომოცისტეინემიასა და ინსულინრეზისტენტობას შორის მიუთითებს მათ შორის კავშირის არსებობაზე;
4. პსს-ს მქონე ქალებში ინსულინრეზისტენტობით ჰიპერჰომოცისტეინემია დადებითად კორელირებს სმი-ს, ჰომა-ინდექსის, ინსულინის მაჩვენებლებთან;
5. ჰიპერჰომოცისტეინემია სარწმუნოდ ხშირია პსს-ს მქონე ქალებში ოგდ-ით იმ ქალებთან შედარებით პსს-ით, რომელთაც არ აღენიშნებათ ოგდ, რაც პსს-ს მქონე ქალებში ოგდ-ის პათოგენეზში ჰიპერჰომოცისტეინემიის როლზე მიუთითებს;
6. ჰიპერჰომოცისტეინემია ასოცირებს MTHFR C677T გენის მუტაციის ჰომოზიგოტურ ფორმასთან და MTHFR

C677T/ MTHFR A1298C რთულ ჰეტეროზიგოტასთან პაციენტებში პსს-ით, რაც პსს-ს პათოგენეზში MTHFR გენების პოლიმორფიზმის მნიშვნელობას ავლენს;

7. ქალებში პსს-ით და ოგდ-ით სარწმუნოდ მაღალი სიხშირით გამოვლინდა MTHFR C677T გენის მუტაციების ჰომოზიგოტური და ჰეტეროზიგოტური ფორმები და MTHFR C677T/MTHFR A1298C-ს რთული ჰეტეროზიგოტა პსს-ს მქონე იმ ქალებთან შედარებით, რომელთაც ოგდ არ აღენიშნებათ, რაც მეტყველებს აღნიშნული მუტაციების, განსაკუთრებით, რთული ჰეტეროზიგოტის კლინიკურ მნიშვნელობაზე ოგდ-ს პათოგენეზში პაციენტებში პსს-თ;
8. MTHFR A1298C-ს გენის ჰომოზიგოტური ფორმა ასოცირებს პსს-სთან ქალებში, რომელთაც არ აღენიშნებათ ოგდ და უვლინდებათ ანოვულაციური მენსტრუაციული ციკლი და ანოვულაციური უნაყოფობა;
9. ჰიპერჰომოცისტემია და MTHFR გენების პოლიმორფიზმი ასოცირებს პსს-სთან და მნიშვნელოვან როლს ასრულებს პსს-ს პათოგენეზში;
10. ჰიპერჰომოცისტემიის კორექცია მომდევნო ორსულობამდე და ორსულობისას წარმოადგენს ორსულობის დანაკარგების პრევენციის, ორსულობის ვადამდე მიტანის და ჯანმრთელი ახალშობილის დაბადების საწინდარს.

პრაქტიკული რეკომენდაციები

- ✚ ჰიპერჰომოცისტეინემია განხილული უნდა იქნას პსს-ს ახალ ბიოქიმიურ მარკერად და ჰომოცისტეინის დონის განსაზღვრა მიზანშეწონილია შეტანილი იქნას პსს-ს მქონე ქალების გამოკვლევის ნუსხაში.
- ✚ ქალებში პსს-ით მიზანშეწონილია ჰომოცისტეინის მაჩვენებლების განსაზღვრა და საჭიროებისამებრ ჰიპერჰომოცისტეინემიის კორექცია მომდევნო ორსულობამდე საკვერცხეების ფუნქციის გაუმჯობესებისა და ოვულაციური ფუნქციის აღდგენის მიზნით;
- ✚ ჰიპერჰომოცისტეინემიისა და MTHFR გენების პოლიმორფიზმის მაღალი სიხშირის გამო ქალებში პსს-ით და ოგდ-ით მიზანშეწონილია ჰომოცისტეინის დონის და MTHFR გენების მუტაციების განსაზღვრა და ჰიპერჰომოცისტეინემიის კორექცია მომდევნო ორსულობამდე და ორსულობისას რეპროდუქციული გამოსავლის გასაუმჯობესებლად;
- ✚ ჰიპერჰომოცისტეინემიის მქონე პაციენტებში პსს-ით და ოგდ-ით პრეგრავიდარული მომზადება რეკომენდებულია დაიწყოს დაგეგმილ ორსულობამდე არანაკლებ 3 თვით ადრე ფოლატით, B ჯგუფის სხვა ვიტამინებით და ანტიაგრეგანტებით და გაგრძელდეს მთელი ორსულობის მანძილზე. დაგეგმილი ორსულობის მენსტრუაციულ ციკლში ოვულაციის შემდეგვე მკურნალობის სქემაში დაემატოს ანტიკოაგულანტები და აღნიშნული მკურნალობა გაგრძელდეს მთელი ორსულო-

ბის მანძილზე ინტენსიური ანტენატალური მეთვალყურეობით ლაბორატორიული მონაცემების კონტროლით. ეს მიდგომა უზრუნველყოფს ორსულობის ვადამდე მიტანას და ცოცხალი ჯანმრთელი ახალშობილის დაბადებას.

გამოქვეყნებული ნაშრომები:

- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Asanidze E. Role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome Literature review. Translational and Clinical Medicine - Georgian Medical Journal, Vol 7, No 3 (2022): 9-16 ISSN: 2346-8491
- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Asanidze E. Homocysteine level in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) with and without insulin resistance. Georgian Medical News, 2022 VOL. 331 No. 10 : 72-76 ISSN 1512-0112
- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Asanidze E. Relationship between homocysteine level and morphological characteristics of ovaries in PCOS patients with and without insulin resistance. Translational and Clinical Medicine - Georgian Medical Journal, Vol 7, No 4 (2022) : 25-29 ISSN: 2346-8491
- ✓ Asanidze E., Kristesashvili J., Parunashvili N., Urjumelashvili M., Tsetskhladze Z., Asanidze Al. Hyperhomocysteinemia and pregnancy outcomes in women with

polycystic ovary syndrome: a case-control study. International Journal of Reproductive BioMedicine. 2023; 21(2):167-174 doi:10.18502/ijrm. v 21i2.12807

კვლევის შედეგები მოხსენებულია შემდეგ სამეცნიერო ფორუმებზე:

- ✓ Asanidze E., Kristesashvili J., Urjumelashvili M., Asanidze AI. Recurrent Pregnancy Loss in Patients with Polycystic Ovary Syndrome, and the Role of Hyperhomocysteinemia. GREM Abstracts of The 20th World Congress of the International Society of Gynecological Endocrinology. 2022
- ✓ Kristesashvili J., Asanidze E., Urjumelashvili M. Correlation Between Levels of Homocysteine, Anti - Mullerian Hormone and Insulin Resistance in PCOS Patients with Recurrent Pregnancy Loss. European Gynecology & Obstetrics. Supplement 1. Book of abstracts of 14th Congress of The European Society of Gynecology 2021; 3 : 98
- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Gagnidze T., Kobaladze L. Association of Infertility with Recurrent Pregnancy Loss (RPL) in Georgia. Gynecological and Reproductive Endocrinology & Metabolism. Supplement 1. Book of Abstracts the 19th World Congress Gynecological Endocrinology 2020:473

Ivane Javakhishvili Tbilisi State University
Faculty of Medicine
Doctoral Program: Clinical and Translational Medicine

Manana Urjumelashvili

**Role of hyperhomocysteinemia and MTHFR gene
polymorphism in the pathogenesis of polycystic ovary
syndrome**

The Thesis

of the dissertation submitted for the academic
degree of Doctor of Medicine (PhD)

Scientific supervisor:

Prof. Jenaro Kristesashvili, MD, PhD, ScD.

Co supervisor:

Assistant Prof. Elene Asanidze

Tbilisi, Georgia

2023

Introduction

Infertility is individual problem for particular couples even in countries with high birth rates (Maya et al. 2012) while in Georgia, amid alarmingly low birth rate, infertility is gaining special medical and social significance.

Share of polycystic ovary syndrome (PCOS) in female infertility of endocrine genesis makes up 5-15% (Dumont et al. 2015, Maharjan et al. 2018).

Achieving pregnancy is not enough to perform the function of childbirth. It is very important to maintain this pregnancy, bring it to term and give live birth. The rate of pregnancy loss in PCOS women varies between 25-73% (Carp 2015, Qin 2013).

Despite the numerous studies, etiopathogenesis of PCOS is not yet fully specified. Hyperinsulinemia and hyperandrogenemia were considered in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome, but in recent years, some authors have been considered that spontaneous abortions in patients with polycystic ovary syndrome are associated with hyperhomocysteinemia (HHcy), therefore, HHcy may be considered as one of the newly identified characteristics of PCOS (Carp 2015, Qin et al 2013, Maharjan et al 2018).

Homocysteine and insulin are known to induce each other in the liver (Chiang et al 2009).

Hyperhomocysteinemia is an important risk factor for development of many diseases and complications, including the possibility of developing thrombosis in the blood circulation

system of mother and fetus, which results in unfavorable pregnancy outcome (Esraa et al 2016).

Over the last decade studies were conducted to determine the rate of hyperhomocysteinemia in women with PCOS (Meng et al 2016, Merviel et al 2017, Maharjan et al 2018). However, obtained diverse results do not allow specifying the role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of PCOS and therefore, addition of any recommendation in patient's management based on homocysteine levels is limited, which indicates the need for further comprehensive research in this direction.

Association of HHcy with certain mutations of the MTHFR gene has been established. When the activity of MTHFR enzyme decreases, the metabolic pathway of homocysteine conversion is disrupted and its level in the blood plasma increases.

According to experimental data, HHcy may be involved in oocyte maturation, ovulation, proliferation and differentiation of granulosa cells, and steroidogenesis. These data suggest possible correlation between MTHFR deficiency and PCOS (Jain et al 2012).

Significance of the MTHFR C677T homozygous mutation in the pathogenesis of recurrent pregnancy loss (RPL) in patients with PCOS has been established. However, significance of the compound heterozygous mutation (MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC) in patients with PCOS, which may have the same clinical significance as the MTHFR C677T homozygous mutation, has not been found in the literature.

MTHFR gene polymorphism is characterized by population differences (Jain et al 2012, Karadeniz 2010). Thus, detection of MTHFR gene mutations in patients with PCOS in order to determine the genesis of HHcy in Georgia is very important.

Taking into account that the studies conducted to determine the role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of PCOS are few, and the results obtained are heterogenous, and most of these studies do not investigate the genetic causes of HHcy, it should be considered appropriate to continue research in this direction, taking into account genetic factors and population peculiarities.

Hypothesis of the study

Hyperhomocysteinemia and MTHFR gene polymorphisms are associated with PCOS. In PCOS patients with insulin resistance with both anovulatory infertility and pregnancy loss, hyperhomocysteinemia is more common than in PCOS patients without insulin resistance. Among MTHFR gene mutations, MTHFR C677T homozygous and compound heterozygous mutations (MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC) are associated with RPL in women with PCOS. Homozygous form of the MTHFR A1298C gene is associated with PCOS in women without RPL and with anovulatory menstrual cycles.

Aim of the study

Determination of the role of hyperhomocysteinemia and MTHFR gene polymorphism in the pathogenesis of PCOS, detection of associations between homocysteine levels and other biochemical and hormonal markers of PCOS and morphological characteristics of ovaries, polymorphism of MTHFR genes and pregnancy outcome in women with PCOS.

Objectives of the study

- Assessment of homocysteine levels and determination of the rate of hyperhomocysteinemia in women with PCOS;
- Detection of correlations between homocysteine levels and biochemical, hormonal markers and ovarian morphological characteristics in women with PCOS;
- Comparative analysis of the rate of hyperhomocysteinemia in PCOS patients with and without insulin resistance;
- Comparative analysis of the rate of HHcy in PCOS women with and without RPL and association of HHcy with reproductive outcome;
- Determination of the rate of different mutations of MTHFR C677T and MTHFR A1298C genes and their associations with PCOS;
- Comparative analysis of the rate of different MTHFR gene mutations among PCOS women with and without RPL.

Scientific novelty of the study

- ✚ For the first time in the population of Georgia, significantly higher rate of hyperhomocysteinemia in women with PCOS compared to the control group was determined, which is associated with MTHFR C677T and MTHFR A1298C gene polymorphism;
- ✚ For the first time, positive correlation between homocysteine levels and insulin resistance in women with PCOS and association between hyperhomocysteinemia and insulin resistance were identified in the Georgian population;
- ✚ For the first time hyperhomocysteinemia and MTHFR gene polymorphism and their associations with PCOS was established, which indicates their important role in the pathogenesis of PCOS;
- ✚ For the first time, significantly higher rate of MTHFR C677T homozygous and MTHFR C677T/MTHFR A1298C compound heterozygous mutations were found in women with PCOS and RPL compared to women with PCOS without RPL, which indicates the role of these mutations, especially the compound heterozygous mutation, in the pathogenesis of RPL in women with PCOS;
- ✚ Significantly higher rate of homozygous MTHFR A1298C gene mutation in PCOS women without RPL compared to PCOS women with RPL, and established association of MTHFR A1298C-CC homozygous mutation with PCOS in women with anovulatory infertility suggests possible role

of this mutation (MTHFR A1298C-CC) in the pathogenesis of anovulation in women with PCOS.

Practical importance

- ✚ Established correlations between hyperhomocysteinemia and other biochemical, hormonal and ovarian morphological characteristics of PCOS in women with PCOS, along with other methods, indicate the importance of correction of hyperhomocysteinemia in the complex treatment of PCOS in improving ovarian function and restoring ovulation;
- ✚ High rate and associations of hyperhomocysteinemia and MTHFR gene polymorphism in women with PCOS and RPL suggest the need to correct hyperhomocysteinemia in the management of PCOS to improve reproductive outcome;
- ✚ Hyperhomocysteinemia should be considered as a new biochemical marker of PCOS, and determination of homocysteine level should be included in the list of examinations of women with PCOS.

Provisions issued for the defense of the thesis

1. Average levels of homocysteine and frequency of hypohomocysteinemia in patients with PCOS are significantly higher compared to the relevant values in the control group;
2. In patients with PCOS and insulin resistance, hyperhomocysteinemia is significantly more common than in PCOS women without insulin resistance and is associated with insulin resistance;
3. In women with PCOS with insulin resistance, the average values of BMI, HOMA-IR and insulin are significantly higher compared to PCOS women without insulin resistance and positively correlate with homocysteine level;
4. Hyperhomocysteinemia is significantly common in PCOS women with RPL compared to PCOS women without RPL;
5. Hyperhomocysteinemia in PCOS patients is associated with homozygous MTHFR C677T and compound heterozygous (MTHFR C677T/MTHFR A1298C) mutations;
6. Homozygous form of MTHFR C677T mutation, compound heterozygous form of MTHFR C677T/MTHFR A1298C were detected at a significantly higher rate in women with PCOS and RPL compared to PCOS women without RPL; Homozygous form of the MTHFR A1298C gene mutation is associated with PCOS in women without RPL with anovulatory menstrual cycle and anovulatory infertility.

Literature review

Endocrine disorders are one of the leading causes of infertility in women (Dumont et al 2015, Maharjan et al 2018). It is determined that polycystic ovary syndrome is one of the most important risk factors not only for infertility but also for spontaneous abortion of pregnancy (Qin et al 2013, Carp 2015).

Hyperinsulinemia and hyperandrogenemia were considered in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome, however, in recent years opinions have emerged that hyperhomocysteinemia may play important role in the pathogenesis of PCOS (Qin et al 2013, Carp 2015, Maharjan et al 2018).

Homocysteine and insulin are known to induce each other in the liver through inhibition of cystathionine β -synthetase (CBS). This results in hyperhomocysteinemia, which leads to compensatory hyperinsulinemia, which in turn develops due to insulin resistance. All of these can disrupt the activity of MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase) or CBS enzymes, which is followed by increase in plasma homocysteine levels (Altug Sen et al 2011, Maharjan et al 2018).

In the early terms of pregnancy, including preimplantation period, hyperhomocysteinemia contributes to the development of pregnancy loss with implantation failure due to disruption of the blood flow in the endometrial vessels (Carp 2015, Esraa et al 2016). In the late terms of pregnancy HHcy develops complications such as: gestational diabetes (GD), preeclampsia (PE), preterm labor (PTL), preterm placental ab-

ruption (AP), *intrauterine growth restriction* (IUGR) (Steegers-Theunissen et al 2004).

Over the last decade studies were conducted to determine the rate of hyperhomocysteinemia in women with PCOS (Bar-On et al 2000, Meng et al 2016, Merviel et al 2017). In addition, it was studied the association of hyperhomocysteinemia with such characteristics of PCOS as insulin resistance, increased androgen levels and obesity (Bar-On et al 2000, Meng et al 2016, Merviel et al 2017). However, obtained diverse results do not allow specifying the role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of PCOS (Meng et al 2016, Maharjan et al 2018).

Association of HHcy with certain mutations of MTHFR gene has been established. MTHFR is involved in the conversion of homocysteine to methionine with the cofactors pyridoxine (vitamin B6), cyanocobalamin (vitamin B12) and the substrate folic acid (folate). As a result of their deficiency, metabolic pathway of homocysteine conversion is disrupted and its level in the blood plasma increases.

MTHFR deficiency, and as a result HHcy, leads to reduced nitric oxide formation, increased reactive oxygen forms and release of pro-inflammatory cytokines. Female reproductive functions, especially *folliculogenesis* and oogenesis, are very sensitive to the above mentioned changes (Jain et al 2012). MTHFR gene polymorphisms reduce MTHFR enzyme activity by 30-70% (Chango et al 2000, Weisberg et al 1998).

Taking into account the fact that the studies conducted to determine the role of hyperhomocysteinemia in the pathogen-

esis of PCOS are few, and the results obtained are heterogeneous, it should be considered appropriate to continue research in this direction by investigating genetic factors and taking into account population characteristics.

Ethics issues of the study

Consent for conducting the study was received from the Ethical Commission of the "Center for Reproductive Medicine Universe" Ltd. (Protocol N4, 04.06.2020).

All individuals included in the study were informed in advance, essence and purpose of the study were explained, and written informed consent was obtained for participation in the study.

Acknowledgement

This study was supported by the Research Foundation of Teaching University Geomedi, LLC under Grant [GF-21-01], Tbilisi, Georgia: "The role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of infertility and pregnancy loss in patients with polycystic ovary syndrome".

Materials and methods

Prospective case-control study design was selected for the study. Power 0.8, α - 0.05, P value<0.05

The study population

Inclusion criteria: diagnosis of PCOS according to the Rotterdam Consensus criteria; Age ≤ 35 years, ≥ 2 years since menarche.

Exclusion criteria: patients with thyroid dysfunction, hyperprolactinemia, congenital adrenal hyperplasia, androgen-producing tumors, Cushing's syndrome, history of surgical intervention on reproductive organs, less than 6 months of hormone therapy and/or vitamin complex intake before inclusion in the study, age > 36 years, < 2 years since menarche.

Study group consisted of 95 patients with PCOS aged 18-35, selected according to the inclusion criteria.

Control group consisted of 84 healthy women of average age corresponding to the study group with live births, regular menstrual cycle, without clinical manifestations of hyperandrogenemia and family history of PCOS.

Average age of women of the study group (23.5 ± 3.5) and control group (24.5 ± 2.2) did not statistically differ from each other ($p > 0.05$).

According to the characteristics of the reproductive function, the study group was divided into 2 groups: PCOS with RPL (n=58), PCOS without RPL (with infertility and live birth)

- (n=37). Homocysteine levels and MTHFR gene mutations (MTHFR C677T-CT, MTHFR C677T-TT, MTHFR A1298C-AC, MTHFR A1298C-CC) were analyzed according to separate groups.

Methodology

All patients included in the study underwent personal and family anamnesis, menstrual cycle assessment and objective clinical, instrumental and laboratory examination.

During selection of the study group, diagnosis of PCOS was based on the diagnostic criteria adopted in the Rotterdam Consensus in 2003 (The Rotterdam ESHRE ASRM-Sponsored PCOS Concesus. Workshop 2003).

Assessment of BMI was based on the international classification approved after 2004 revision by the World Health Organization.

In order to determine the features of body fat distribution, the index of the ratio of waist and hip circumferences (in cm) was determined.

Hirsutism was assessed using modified Ferriman-Gallwey score (mFG). Acne was assessed according to 3 categories (mild, medium and severe), stretch marks (white and colored-pink, red or dark burgundy). Presence of hyperpigmentation (acanthosis nigricans) was determined.

On the 2nd-3rd days of menstrual cycle, all participants underwent gynecological ultrasound examination using the VOLUSON E10 (General Electrics USA) device.

Homocysteine in blood serum was measured with closed system analyzer (Humalyzer Primus semi-automated Bychemistry analyzer, German) using the spectrometric method, reference values 4,4-10,8 $\mu\text{mol/l}$ (Queenan 2010).

MTHFR C677T and A1298C polymorphisms were determined by genotyping using the polymerase chain reaction method. gDNA was isolated from whole blood of each patient recruited in the study, using Blood DNA Preparation - Column Kit (Jena Bioscience), according to the protocol provided by manufacturer.

In order to clarify the diagnosis before inclusion in the study, all patients underwent hormonal examination on the 2nd-3rd days of menstrual cycle. The levels of following hormones in the blood serum were determined: FSH, LH, AMH, E2, T, FT, SHBG, HOMA-IR. To determine exclusion criteria: PRL, TSH, FT4, anti-TPO, anti-TG,17OHP, DHEA-S, cortisol by immunoenzymatic method (ELISA, Beckman Coulter, USA).

In all participants of the study insulin resistance was assessed based on the HOMA-IR.

Statistical analysis

Data were processed using statistical analysis programs SPSS 24.0 (Statistical Package for Social Sciences, version 24) and PAST v. 4. 40. Logistic regression method was used to calculate Odds ratio. The following were used to describe the data: measure of central tendency (arithmetic mean), measure of variability (standard deviation), percentage distribution of frequencies, crosstabulation, Kolmogorov-Smirnov test for normality of distribution. For group comparison we used: X^2 (for categorical variables), *Pearson correlation coefficient* to determine correlation between data. One-way analysis of variance was used from the inferential statistics (one way ANOVA). Mann-Whitney test was used to compare two independent groups. Spearman's correlation was used to assess the relationship between two quantitative variables. Data were tested at the 0.05 level of confidence ($p < 0.05$ was considered statistically significant). Quantitative variables are presented as means \pm standard deviations, and categorical variables as percentages.

Results and Discussion

Average age of menarche in patients with PCOS (13.8 ± 3.5 years) and in the control group (12.4 ± 4.2 years) statistically did not significantly differ from each other ($p>0.05$). 84.2% of patients (80 patients) with PCOS had menstrual cycle disorders.

General characteristics of patients in the study group are discussed below according to insulin resistance status.

Homocysteine levels in the study and control groups were determined. The mean level of homocysteine (Hcy- $11.04 \mu\text{mol/l}$) in the study group was significantly higher than the corresponding level in the control group (Hcy- $7.75 \mu\text{mol/l}$, $p<0.05$). Similar results have been obtained by Suleiman (2018) and other authors in their studies (Wu et al 2016, Maharjan et al 2018, Diwaker et al 2018). However, some studies have found no difference between homocysteine levels in patients with PCOS and control group (Palomba et al 2010).

We also analyzed the frequency of HHcy in the study and control groups. The frequency of HHcy in women with PCOS (50.5%, n-48) was significantly higher compared to women in the control group (4.8%, n-4, $p<0.001$). Data from our study are consistent with data from other studies (Maharjan et al 2018, Suleiman et al 2018, Diwaker et al 2018), however, some authors found no difference in their studies in homocysteine levels between women with PCOS and control group (Palomba, 2010).

In PCOS patients with and without RPL HHcy (resp. 67.2%, 27.3%) was detected with significantly higher frequency compared to the control group (4.8%,) ($p < 0.05$). Similar results have been obtained in several studies with respect to RPL (Carp 2015, Esraa et al 2016).

Based on our analysis HHcy was found to be significantly associated with both RPL and anovulatory infertility in PCOS patients ($p < 0.001$) (Tab.1). Similar data analyzed according to reproductive outcomes are not available in the literature.

Table 1. Association between hyperhomocysteinemia and reproductive outcomes in PCOS patients

Fertility	Number of patients (n-95)	Pirson chi-square	95% Confidence interval		Odds ratio	P
			Lower	upper		
PCOS patients with hyperhomocysteinemia and RPL	39 (41%)	16.645	2.520	16.184	6.386	< 0.001
PCOS patients with hyperhomocysteinemia without RPL	9 (9.5 %)	16.645	0.062	0.397	0.157	< 0.001

In patients with PCOS homocysteine level, clinical characteristics, levels of hormones and morphological characteristics of ovaries, were analyzed according to the status of insulin resistance. The rate of moderate and severe acne (79%) and hirsutism (89.5%) in PCOS patients with HHcy and insulin resistance did not differ significantly from the data of the PCOS

women with HHcy without insulin resistance (71% and 81% respectively, $P>0.05$). Acanthosis nigricans was observed only in PCOS patients with insulin resistance (28,9%). In the literature, the incidence of dermatopathies in PCOS patients with HHcy with and without insulin resistance has not been compared.

The rate of abdominal fat distribution (waist-to-hip ratio > 0.8) in insulin resistant women with PCOS and HHcy in both elevated and normal BMI cases (91%, $n=35$) was significantly more common than in PCOS women without insulin resistance (19%, $n=6$, $p<0.001$). Data on fat distribution in PCOS patients with HHcy with and without insulin resistance have also not been reviewed in the literature.

According to the data of our study, 57 PCOS patients with insulin resistance (60%) and 38 PCOS patients without insulin resistance (40%) had menstrual cycle disorders mainly in the form of oligomenorrhea (61.6%) and anovulatory menstrual cycles (20,6%).

In PCOS patients with and without insulin resistance, a comparative analysis of the following parameters was performed: age, BMI, insulin, HOMA-IR, total and free testosterone, SHBG, LH/FSH, AMH, ovarian volume, AFC, homocysteine. Statistical analysis revealed that the compared groups did not significantly differ from each other in most of the indicators. Significant difference was found in homocysteine (resp. 12.74 ± 2.792 and 9.21 ± 2.336 $\mu\text{mol/l}$, $p<0.001$), BMI (resp. 24.18 ± 3.935 and 21.4 ± 1.67 , $p<0.05$), Homa-IR (resp. $3,369\pm$

0,816 and $1,21 \pm 0,499$, $p < 0,001$) and insulin (resp. $14,4 \pm 2,06$ and $4,4 \pm 1,67$ MU/ml, $p < 0,001$) data. Other authors also obtained similar results (Maharjan et al 2018, Chang et al 2019).

Analysis of the association between HHcy and insulin resistance revealed a strong association between HHcy and insulin resistance in PCOS patients ($P < 0,001$) (Tab. 2). Similar data were obtained in several studies (Rekha et al 2013, Maharjan et al 2018, Esmaeilzadeh et al 2017). However, a meta-analysis by Yuming Meng et. al (2016) found no association between HHcy and degree of obesity and insulin resistance in PCOS patients.

Table 2. Association between hyperhomocysteinemia and insulin resistance in patients with PCOS

	პაციენტების რაოდენობა (n-95)	პირსონის chi-square	სარწმუნოების ინტერვალი 95%		Odds Ratio	P
			ქვედა	ზედა		
ჰიპერჰომოცისტეინემია	37 (62,7%)	21,102	0,015	0,222	0,059	<0,001

In patients with PCOS with and without insulin resistance, the odds ratio for symptoms was estimated based on logistic regression. As a result it was found that women with PCOS and insulin resistance compared to women with PCOS without insulin resistance had increased: average volume of ovaries,

AFC, HOMA-IR, insulin and homocysteine levels (Tab. 3). The data available in the literature are consistent with the data of our study (Lin 2013, Meng 2016).

Table 3. Results by logistic regression for variables

Variables	Beta (B)	St.dev.	Wildes index	F	P	Exp B	Exp B lower	Exp B Upper
AMH	0.050	0.150	0.109	1	0.741	1.051	0.783	1.409
IRI	1.344	0.430	9.770	1	0.002	3.834	1.651	8.904
HOMA-IR	5.604	1.931	8.422	1	0.004	2.715	6.167	11.956
Ov/vol	-0.396	0.176	5.085	1	0.024	0.673	0.477	0.949
AFC	0.138	0.079	3.043	1	0.041	1.148	0.983	1.341
LH	0.143	0.154	0.853	1	0.356	1.153	0.852	1.561
TT	0.157	2.985	0.003	1	0.958	1.170	0.003	4.062
FT	0.342	0.477	0.514	1	0.473	1.408	0.553	3.588
17OHP	1.615	0.924	3.057	1	0.080	5.029	0.822	3.756
SHBG	-0.005	0.032	0.029	1	0.865	0.995	0.935	1.058
FAI	-0.021	0.145	0.020	1	0.886	0.980	0.738	1.301
Homocysteine	-0.545	0.718	9.535	1	0.001	2.834	4.966	2089
Constant	16.14	6.261	6.653	1	0.010	0.000		

When assessing correlations between homocysteine levels and hormonal and ovarian morphological characteristics in PCOS patients, it was revealed that only BMI (R-0.37, P<0.05),

HOMA-IR (R-0.695, P<0.001), free testosterone (R-0.373, P<0.001), total testosterone (R-0.552, P<0.001), AMH (R-0.552, P<0.001) and ovarian volume (R-0.647, P<0.001) positively correlate with homocysteine level in PCOS patients. Homocysteine levels do not correlate significantly with other clinical and hormonal data. Several studies have shown similar results (Guzelmeric et al 2007, Lin et al 2013). However, some studies failed to confirm a difference between these characteristics of PCOS in terms of insulin resistance (Moti et al 2015, Meng et al 2016, Al-Gareeb et al 2016).

According to our study, mean level of homocysteine in PCOS patients with insulin resistance and RPL (11.5 ± 2.24 $\mu\text{mol/l}$) was significantly higher and significantly more frequent (78.9%) compared with PCOS patients without RPL (7.55 ± 2.45 $\mu\text{mol/l}$, 21,1% p<0.001). The data available in the literature are consistent with the data of our study (Chang et al 2019, Feng et al 2021).

Based on the analysis of the rate of HHcy according to reproductive outcomes in patients with PCOS according to the status of insulin resistance, it was found that insulin resistance in PCOS patients with HHcy and RPL was observed in 78.9%, which was significantly more frequent than in PCOS patients without RPL (54,3%, p<0.001). Similar data are not available in the literature.

In patients with PCOS and in the control group, the rates of MTHFR gene mutations were analyzed by types (Tab.4). The study by Szafarowska (2016) did not address the frequency of all MTHFR gene mutations in PCOS patients.

Table 4. MTHFR gene polymorphism in women with PCOS

MTHFR polymorphisms	PCOS patients n-95	Control n-84	P value
MTHFR C677T-TT (Homozygous mutation)	11 (11.6 %)	1 (1.2 %)	< 0.05
MTHFR C677T-TT (Heterozygous mutation)	19 (20 %)	5 (5.9 %)	< 0.05
MTHFR A1298C-CC (Homozygous mutation)	11 (11.6 %)	1 (1.2 %)	< 0.05
MTHFR A1298C-AC (Heterozygous mutation)	15 (15.8 %)	9 10.7 %	> 0.05
MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation)	19 (20 %)	2 (2.4 %)	< 0.05

In our study, the frequency of MTHFR gene mutations was analyzed by mutation types in PCOS patients with HHcy (n-48) and women with HHcy in control group (n-4). In women with PCOS and HHcy, the frequency of MTHFR C677T homozygous mutation and MTHFR C677T/MTHFR A1298C compound heterozygous mutation (n-22, 45.8%) was significantly higher compared to the women in control group (n-0, 0%, $p < 0.05$). The frequency of MTHFR A1298C homozygous mutation was also significantly higher (n-4, 8.3%) in women with PCOS compared to the women in control group (n-0, 0%, $p < 0.05$). The fact that clinically significant mutation of

MTHFR genes was not detected in women with HHcy of the control group (n=4, 0%) in any case was also interesting. Similar data cannot be found in the literature.

Analyzing various disorders of reproductive function according to the types of MTHFR gene mutations in PCOS patients with HHcy, MTHFR C677T homozygous and MTHFR C677T/MTHFR A1298C compound heterozygous mutations were found to have significantly higher frequency in the PCOS group with RPL (51,3%) compared to women with PCOS without RPL and in the control group (22%, $P<0.05$, 0%, $P<0.001$, respectively). Compared to the control group, the frequency of these mutations in PCOS patients without RPL was also significantly higher ($P<0,001$). MTHFR A1298C homozygous mutation in PCOS patients without RPL (22%) was significantly more frequent compared to PCOS patients with RPL (5.13%, $p<0.05$) and women in the control group (0%, $p<0.001$). Similar data cannot be found in the literature.

Distribution and associations of MTHFR gene mutations in patients with PCOS were also analyzed. As can be seen from Table 5, among different types of MTHFR gene mutations, MTHFR C677T-TT (homozygous mutation), MTHFR A1298C-AC (homozygous mutation) and MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation) is significantly associated with polycystic ovary syndrome ($p<0.05$). The frequency of all MTHFR gene mutations and their association with PCOS have not been comprehensively addressed in literature (Wu et al 2016). Szafarowska (2016) found no association between MTHFR gene mutations and PCOS. It is

note-worthy that in the literature is not evaluated the compound heterozygous mutation (MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC) (Choi et al 2009, Karadeniz et al 2010, Qi et al 2015).

Table 5. Distribution and associations of MTHFR gene mutations in patients with PCOS

MTHFR polymorphisms	PCOS patients (n-95)	Pirson chi-square	95% Confidence interval		Odds ratio	P
			lower	upper		
MTHFR C677T-TT (Homozygous mutation)	11 (11.6%)	5.501	0.41	0.877	0.189	< 0.05
MTHFR C677T-TT (Heterozygous mutation)	21 (22.1%)	2.465	0.239	1.179	0.531	> 0.05
MTHFR A1298C-CC (Homozygous mutation)	11 (11.6%)	5.6	0.04	2.58	0.186	< 0.05
MTHFR A1298c-AC (Heterozygous mutation)	18 (18.9%)	0.367	0.606	2.58	1.25	> 0.05
MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation)	18 (18.9%)	8.322	0.069	0.661	0.214	< 0.05

Distribution of patients with PCOS and frequency of hyperhomocysteinemia and types of mutations of MTHFR genes according to the various disorders of reproductive function were analyzed (Tab.6). It should be noted, that MTHFR A1298C

homozygous mutation was not significantly different among PCOS patients with and without RPL ($P>0.05$), but was significantly more frequent compared to the control group ($P<0.05$). Similar data cannot be found in the literature (Tab.6).

Table 6. Distribution of patients with PCOS and various disorders of reproductive function according to the frequency of homocysteinemia, types of mutations of MTHFR genes

Reproductive outcome	PCOS with RPL (n=58)		PCOS without RPL (n=33)		Control (n=84)		P*	P**	P***
	>10.8	<10.8	>10.8	<10.8	>10.8	<10.8			
Homocysteine level ($\mu\text{mol/l}$)									
MTHFR C677T-TT (Homozygous mutation)	8 13.8%	0 0%	1 3%	0 0%	0 0%	0 0%	< 0.05	< 0.05	<0.05
MTHFR C677T-TT (Heterozygous mutation)	12 20.7%	4 6.9%	3 9.1%	2 6.1%	0 0%	10 11.9%	<0.001	<0.05	<0.001
MTHFR A1298C-CC (Homozygous mutation)	3 5.2%	2 3.5%	2 6.1%	2 6.1%	0 0%	2 2.4%	< 0.05	<0.05	> 0.05
MTHFR A1298C-AC (Heterozygous mutation)	5 8.6%	3 5.2%	1 3%	9 27.3%	2 2.4%	16 19.1%	> 0.05	> 0.05	> 0.05
MTHFR C677T-TT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation)	14 24.1%	2 3.5%	1 3%	0 0%	0 0%	2 2.4%	<0.001	<0.05	< 0.001

When analyzing the distribution of MTHFR gene mutation types and their associations with RPL in patients with PCOS, significant associations between RPL and MTHFR C677T-TT (homozygous mutation) and MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation) were revealed ($P < 0,05$) and no associations of MTHFR A1298C-CC (homozygous mutation) and MTHFR A1298C-AC (heterozygous mutation) with RPL were detected ($P > 0,05$) (Tab. 7). Botto (2000) mentioned in his study that compound heterozygous mutation may be associated with RPL, but no relevant data have been confirmed.

Table 7. Distribution of MTHFR gene mutations in PCOS patients and associations with RPL

MTHFR polymorphism	PCOS patients (n-58)	Pirson chi-square	95% Confidence interval		Odds ratio	P
			lower	upper		
MTHFR C677T-TT (Homozygous mutation)	8 (13.8 %)	5.433	1.157	11.906	3.712	< 0.05
MTHFR C677T-TT (Heterozygous mutation)	16 (27.6 %)	5.509	1.146	5.453	2.5	> 0.05
MTHFR A1298C-CC (Homozygous mutation)	5 (8.6%)	0.235	0.416	4.268	1.333	> 0.05
MTHFR A1298c-AC (Heterozygous mutation)	8 (13.8%)	2.475	0.216	1.194	0.508	> 0.05
MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation)	16 (27.6%)	18.622	2.679	19.899	7.302	< 0.001

Analysis of the distribution of MTHFR gene types and their associations with anovulation in PCOS patients without RPL, showed significant association only with MTHFR A1298C-CC (homozygous mutation) ($p < 0.05$) (Table 8). Similar data were obtained by Feng (2021) and Xiong (2020) in studies conducted with co-authors.

Table 8. Distribution of MTHFR gene types and associations with anovulation in PCOS patients without RPL

MTHFR polymorphism	Number of patients (n-37)	Pirson chi-square	95% Confidence interval		Odds ratio	P
			lower	upper		
MTHFR C677T-TT (Homozygous mutation)	3 (8.1%)	0.45	0.301	4.433	1.156	> 0.05
MTHFR C677T-TT (Heterozygous mutation)	5 (13.5%)	0.605	0.237	1.817	0.665	> 0.05
MTHFR A1298C-CC (Homozygous mutation)	6 (16.2%)	5.552	1.172	11.886	3.733	< 0.05
MTHFR A1298c-AC (Heterozygous mutation)	10 (27%)	1.149	0.682	3.646	1.578	> 0.05
MTHFR C677T-CT/MTHFR A1298C-AC (compound heterozygous mutation)	2 (5.4%)	2.051	0.078	1.564	0.349	> 0.05

From the 58 women with PCOS and RPL, 39 had HHcy. Analyzing their reproductive outcomes after correction of HHcy, preconceptional preparation the following data were obtained: after intensive care during pregnancy (taking into account managing of HHcy), 35.9% of cases ended in live birth with a healthy newborn, pregnancy progresses in 20.5% of cases, 12.8% underwent preconceptional preparation, pregnancy loss occurred in 18% of cases, pregnancy was not achieved in 18%. Medication stimulation of ovulation was necessary in 46%. Similar data cannot be found in the literature.

Of the 37 women with PCOS without RPL, 9 had HHcy. Analyzing their reproductive outcomes after HHcy correction and preconceptional preparation, the following data were obtained: after intensive care during pregnancy (taking into account managing of HHcy), 44.4% of cases ended in live birth with a healthy newborn, pregnancy progresses in 22.2% of cases, 22.2% undergo preconceptional preparation, pregnancy was not achieved in 11.1%. Medication stimulation of ovulation was necessary in all patients. Similar data cannot be found in the literature.

Conclusions

1. Average level of homocysteine in patients with PCOS is significantly higher compared to the corresponding value in the control group;
2. In patients with PCOS, hyperhomocysteinemia occurs at a significantly higher frequency compared to control women and is associated with PCOS, suggesting that hyperhomocysteinemia may be considered as one of the features of PCOS;
3. Significantly higher frequency of hyperhomocysteinemia in patients with PCOS and insulin resistance compared to women with PCOS without insulin resistance, and association revealed between hyperhomocysteinemia and insulin resistance, indicates a relationship between them;
4. In women with PCOS with insulin resistance, hyperhomocysteinemia positively correlates with BMI, HOMA-IR, and insulin values;
5. Hyperhomocysteinemia is significantly more common in PCOS women with RPL compared with PCOS women without RPL, suggesting a role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of RPL in PCOS women;
6. In patients with PCOS, hyperhomocysteinemia is associated with homozygous form of MTHFR C677T and MTHFR C677T/MTHFR A1298C compound heterozygous mutation, which shows importance of MTHFR gene polymorphisms in the pathogenesis of PCOS;

7. In women with PCOS and RPL, homozygous and heterozygous forms of MTHFR C677T mutations and compound heterozygous mutation MTHFR C677T/ MTHFR A1298C were detected at a significantly higher frequency compared to women with PCOS who did not have RPL, which indicates clinical importance of mentioned mutations, especially compound heterozygous mutation, in the pathogenesis of RPL in patients with PCOS;
8. Homozygous form of the MTHFR A1298C gene is associated with PCOS in women who do not have RPL and have anovulatory menstrual cycles and anovulatory infertility;
9. Hyperhomocysteinemia and the MTHFR gene polymorphisms are associated with PCOS and play an important role in the pathogenesis of PCOS;
10. Correction of HHcy prior to conception, as well as during pregnancy, will be helpful to prevent pregnancy loss, preterm deliveries and increase chances of favorable outcomes of pregnancy.

Practical recommendations

- ✚ Hyperhomocysteinemia should be considered as a new biochemical marker of PCOS, and determination of homocysteine level is recommended to be included in the list of examinations in PCOS women;
- ✚ In order to improve ovarian function and restore ovulatory function before the next pregnancy, prevent pregnancy loss and improve pregnancy outcome, it is recommended to determine homocysteine levels in women with PCOS and, if necessary, correct hyperhomocysteinemia;
- ✚ Preconceptional preparation in PCOS patients with hyperhomocysteinemia is recommended to start at least 3 months before intended pregnancy with folate, other B vitamins and antiaggregants, which should be continued during pregnancy. Anticoagulants should be added to the treatment scheme after ovulation of planned pregnancy and mentioned treatment should be continued throughout the pregnancy with intensive antenatal care and control of laboratory data. This approach ensures carrying of the pregnancy to term, live birth and healthy newborn.

Published articles:

- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Asanidze E. Role of hyperhomocysteinemia in the pathogenesis of polycystic ovary syndrome Literature review. Translational and Clinical Medicine - Georgian Medical Journal, 2022; Vol 7, No 3 : 9-16 ISSN: 2346-8491
- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Asanidze E. Homocysteine level in patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) with and without insulin resistance. Georgian Medical News, 2022 VOL. 331 No. 10 : 72-76 ISSN 1512-0112
- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Asanidze E. Relationship between homocysteine level and morphological characteristics of ovaries in PCOS patients with and without insulin resistance. Translational and Clinical Medicine - Georgian Medical Journal, 2022; Vol 7, No 4 : 25-29 ISSN: 2346-8491
- ✓ Asanidze E., Kristesashvili J., Parunashvili N., Urjumelashvili M., Tsetskhladze Z., Asanidze Al. Hyperhomocysteinemia and pregnancy outcomes in women with polycystic ovary syndrome: a case-control study. International Journal of Reproductive BioMedicine 2023;21(2):167-174 doi: 10.18502/ijrm. v 21i2.12807

Presentations at scientific forums:

- ✓ Asanidze E., Kristesashvili J., Urjumelashvili M., Asanidze AI. Recurrent Pregnancy Loss in Patients with Polycystic Ovary Syndrome, and the Role of Hyperhomocysteinemia. GREM Abstracts of The 20th World Congress of the International Society of Gynecological Endocrinology. 2022
- ✓ Kristesashvili J., Asanidze E., Urjumelashvili M. Correlation Between Levels of Homocysteine, Anti - Mullerian Hormone and Insulin Resistance in PCOS Patients with Recurrent Pregnancy Loss. European Gynecology & Obstetrics . Supplement 1. Book of abstracts of 14th Congress of The European Society of Gynecology 2021 ; 3 : 98
- ✓ Urjumelashvili M., Kristesashvili J., Gagnidze T., Kobaladze L. Association of Infertility with Recurrent Pregnancy Loss (RPL) in Georgia. Gynecological and Reproductive Endocrinology & Metabolism. Supplement 1. Book of Abstracts the 19th World Congress Gynecological Endocrinology 2020:473

