DOI: 10.22122/jims.v38i589.12934 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۵۸۹/هفته‌ی اول آبان ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۵/۲۸ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۸/۷

بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی شکمی زنان باردار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

ندا امامی[۱]، مریم شاه حسینی[۲]، پریچهره یغمایی[۳]، علیرضا علیزاده[۴]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: سندرم تخمدان پلی‌کیستیک (Polycystic ovary syndrome یا PCOS) یکی از اختلالات هورمونی در زنان است. این سندرم، ممکن است در نتیجه‌ی کاهش فعالیت آروماتاز باشد. مطالعه‌ی حاضر، با هدف بررسی تفاوت بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زنان باردار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک و زنان باردار غیر مبتلا انجام شد.

روش‌ها: در قالب یک مطالعه‌ی مورد- شاهد، بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی بین ۱۱ زن باردار مبتلا به PCOS و ۱۱ زن غیر مبتلا که دو به دو از لحاظ خصوصیات وزنی قبل از بارداری و سن با هم جفت شده بودند، مقایسه شد. نمونه‌ی بافت چربی زیرجلدی به میزان ۴-۳ گرم، حین جراحی سزارین به دست آمد. بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی از طریق وسترن بلات ارزیابی و نتایج با استفاده از نرم‌افزار SAS مقایسه شد.

یافته‌ها: طبق واکاوی انجام شده و با کمی کردن نتایج نشان داده شد که بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی ناحیه‌ی شکمی گروه مبتلا به PCOS نسبت به گروه غیر مبتلا، کاهش معنی‌داری داشت (P = ۰/۰۰۶). به عبارت دیگر، بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی شکمی زنان مبتلا به PCOS حدود یک سوم نسبت به زنان باردار غیر مبتلا به PCOS بیان کمتری داشت.

نتیجه‌گیری: مطالعه‌ی کنونی نشان می‌دهد که بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زنان PCOS کاهش بیان دارد. این یافته، می‌تواند نقش کلیدی بافت چربی در اختلالات هورمونی زنان باردار مبتلا به این سندرم را تأیید کند.

واژگان کلیدی: چربی زیرجلدی شکمی؛ آروماتاز؛ سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

ارجاع: امامی ندا ، شاه حسینی مریم، یغمایی پریچهره، علیزاده علیرضا. **بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی شکمی زنان باردار مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۵۸۹): ۶۲۷-۶۲۱.

مقدمه

سندرم تخمدان پلی کیستیک، از شایع ترین اختلالات هورمونی در زنان سنین تولید مثل است. این سندرم، به تقریب در ۱۰-۶ درصد از افراد در سنین تولید مثل قابل مشاهده است. این سندرم، نه تنها برای زنان همراه با عوارض جبران ناپذیری مانند دیابت و مشکلات قلبی- عروقی است؛ بلکه عوارض جبران ناپذیری مانند احتمال اوتیسم را برای فرزندان به دنبال دارد (۱). بنابراین، ضرورت مطالعات باعث شده است محققین تلاش کنند تا نشانگرهای زیستی و پروتئین‌های جدیدی را برای تشخیص بهتر مکانیسم این بیماری پیشنهاد دهند.

تظاهرات بالینی این سندرم شامل اختلال قاعدگی، ناباروری، هایپرآندروژنیسم بالینی- بیوشیمیایی و سندرم متابولیک است (۲). آروماتاز، یک آنزیم کلیدی محصول ژن CYP19 و عضو مهمی از خانواده‌ی بزرگ سیتوکروم P450 است که سنتز استروژن را در تخمدان‌ها و در بافت‌های محیطی به عهده دارد و به نظر می‌رسد که نقش کلیدی در Polycystic ovary syndrome (PCOS) دارد.

آروماتاز، باعث کاتالیز آندروژن ۱۹ کربنه (تستوسترون و آندروستون دیون) به دو استرون ۱۸ کربنه به نام‌های استرادیول و استرون می‌شود. آروماتاز که به آن استروژن سنتاز یا استروژن سنتاز نیز گفته

۱- دانشجوی دکتری بیوشیمی، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲- استاد، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی و گروه اپیدمیولوژی و سلامت باروری، مرکز تحقیقات اپیدمیولوژی باروری، گروه ژنتیک ناباروری، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، تهران، ایران

۳- استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشکده‌ی علوم پایه، دانشگاه آزاد واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۴- استادیار، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی و گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: علیرضا علیزاده؛ استادیار، پژوهشگاه رویان، پژوهشکده‌ی زیست‌شناسی و علوم پزشکی تولید مثل جهاد دانشگاهی، گروه جنین‌شناسی، مرکز تحقیقات پزشکی تولید مثل، تهران، ایران

Email: alizadehmasouleh@royaninstitute.org

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

می‌شود، مسؤول کاتالیز یک مرحله‌ی کلیدی در بیوسنتز استروژن‌ها می‌باشد. CYP19A1، عضو خانواده‌ی سیتوکروم (EC 1.14.14.1) P450 است و جزء مونوکسیژنازها هستند که بسیاری از واکنش‌های درگیر در استروئیدوژنز را کاتالیز می‌کنند. به طور خاص، آروماتاز مسؤول آروماتیزه شدن آندروژن‌ها به استروژن‌ها می‌باشد. آنزیم آروماتاز در بسیاری از بافت‌ها نظیر گنادها (سلول‌های گرانولوزا) و سایر اعضا یافت می‌شود. به نظر می‌رسد تغییرات آندروژن در بافت چربی زیرجلدی زنان مبتلا به این سندرم، مستقل از عملکرد انسولین و هورمون Luteinizing (LH) می‌باشد که نقش کلیدی آروماتاز و نقش مستقل بافت چربی زیرجلدی را تأیید می‌کند. آروماتاز در رتیکولوم آندوپلاسم ساخته می‌شود که بیان ژن آن توسط پروموتورهای مخصوص بافت تنظیم و این تنظیم، توسط هورمون‌ها، سیتوکین‌ها و سایر عوامل کنترل می‌شوند. این آنزیم، آخرین مراحل بیوسنتز استروژن از آندروژن‌ها را کاتالیز می‌کند (۳). هر چند اهمیت این آنزیم و نقش کلیدی آن در سنتز استروژن و تنظیم نسبت آندروژن به استروژن در بافت‌های تولید مثلی مشخص شده است (۴)؛ اما بیان و نقش آن در بافت چربی، نیازمند مطالعات بیشتر است.

فرض بر این است که PCOS ممکن است در نتیجه‌ی کاهش فعالیت آروماتاز و کاهش تبدیل آندروژن به استروژن و ایجاد حالت هایپر آندروژنی (مهم‌ترین مشخصه‌ی زنان PCOS) باشد؛ هر چند توجه به تفاوت محل بررسی بافت مورد نظر، قابل توجه خواهد بود. به عبارت دیگر، اهمیت بافت چربی زیرجلدی ناحیه‌ی بالاتنه در متابولیسم تستوسترون در مطالعات اخیر مورد توجه قرار گرفته است (۵). همچنین، شواهدی وجود دارد که نشان دهنده‌ی ارتباط مثبت بین آندروژن‌های قبل از تولد، تأثیر آن‌ها بر سیستم عصبی و اختلال اوتیسم در فرزندان این مادران می‌باشد و شرایطی برای اختلالات عصبی در فرزندان فراهم می‌کند که به نظر می‌رسد در فرزندان مادران مبتلا به PCOS شیوع بیشتری دارد (۶).

در سال‌های اخیر، بافت چربی به عنوان یک بخش اندوکرین شناخته و گزارش شده است که این بافت، مکان مهمی برای تولید استروئیدهای جنسی و سیتوکین‌های التهابی است (۷)؛ اما مطالعات پروتئین‌های مرتبط با استروئیدها بسیار محدود است. محققین، با استفاده از حیوانات آزمایشگاهی، نشان دادند که نسبت‌های مختلف اسید چرب امگا-۳: امگا-۶، بر فرایند استروئیدوژنز Ratها مؤثر است (۸). بنابراین، مطالعات روی اسیدهای چرب، بافت چربی و اهمیت متابولیسم استروئیدها و ارتباط آن با بسیاری از بیماری‌ها نظیر PCOS ادامه دارد. مطالعات نشان داده است که بافت چربی در مردان و زنان بعد از یائسگی، مرکز اصلی سنتز آروماتاز می‌باشد. همچنین، نقش کلیدی بافت چربی در متابولیسم گلوکورتیکوئیدها و ارتباط آن با بیماری‌هایی که ریشه در دوره‌ی جنینی دارند، مورد توجه قرار گرفته است (۹). بر اساس مطالعات ژنی، پیشنهاد شده است که تغییر متابولیسم گلوکورتیکوئیدها مشابه تغییرات در بافت چربی زنان مبتلا به PCOS می‌باشد (۱۰).

سطح بالای آندروژن نقش مهمی در پاتوژنز PCOS دارد و سلول‌های کاناری تخمدان، سلول‌های قشر آدرنال و نیز سلول‌های چربی، سه منبع اصلی برای مقدار اضافی آندروژن معرفی شده است (۳)، اما مطالعات در خصوص پروتئین‌های استروئیدی به دست آمده در بافت چربی بسیار محدود می‌باشد. هدف از انجام این مطالعه، تعیین تفاوت بیان پروتئین در بافت چربی زیرجلدی زنان باردار مبتلا به PCOS و زنان باردار غیر مبتلا بود.

روش‌ها

مطالعه‌ی حاضر، از نوع مطالعات مورد- شاهدی می‌باشد. نمونه‌های چربی از بیمارستان‌های آرش، خاتم‌الانبیا (ص) و آتیه در تهران جمع‌آوری شدند. ۲۲ زن باردار شامل ۱۱ زن باردار غیر مبتلا به PCOS و ۱۱ زن باردار مبتلا به PCOS که از نظر وزن و شاخص توده‌ی بدنی (Body mass index یا BMI) همسان بودند، برای ارزیابی مورد بررسی قرار گرفتند. به طور کلی، با توجه به معیارهای ورود و خروج از مطالعه، از روش نمونه‌گیری در دسترس استفاده شده است. با دریافت کد اخلاق IR.ACECR.ROYAN.REC.1398.087 از کمیته‌ی اخلاق پژوهشگاه رویان و پس از اخذ رضایت‌نامه‌ی کتبی از کلیه‌ی شرکت کنندگان، نمونه‌ی بافت چربی زیرجلدی حین جراحی سزارین برداشت شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل بارداری، ابتلا به PCOS، سن (دامنه‌ی ۴۰-۲۰ سال)، غیر مبتلا به دیابت بودن، BMI دامنه‌ی ۳۵-۲۵ کیلوگرم/مترمربع، سزارین غیر اورژانسی و در زمان مقرر، تک قلو و عدم مصرف داروهای مهار کننده‌ی بیان آروماتاز مانند آمینوگلوتتماید بودند. بیماران بر اساس معیارهای Rotterdam سال ۲۰۰۳ برای تشخیص PCOS طبق نظر پزشک متخصص زنان، انتخاب شدند. بر طبق این معیارها، بروز حداقل ۲ نشانه از سه معیار عدم تخمک‌گذاری، افزایش آندروژن و تخمدان با کیست‌های متعدد، برای تشخیص ابتلا به این بیماری لازم است. معیارهای خروج از مطالعه، شامل مصرف داروهایی که میزان گلوکز و متابولیسم چربی را تحت تأثیر قرار می‌دهد، دیابت، مصرف الکل، استعمال دخانیات و سقط یا مرده‌زایی بودند.

حین انجام عمل سزارین، ۴-۳ گرم از بافت چربی زیرجلدی شکمی توسط جراح برداشته شد. نمونه‌های بافتی به سرعت با محلول سرم فیزیولوژی شستشو شد و پس از برش نمونه به اندازه‌های کوچک‌تر مورد نیاز برای انجام آزمایش‌ها، به کرایوویال منتقل و پس از اسنپ فریز در تانک ازت در دمای ۱۹۶- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند (۱۱). به منظور ارزیابی بیان پروتئین‌ها در بافت‌های چربی، ۲۲ نمونه برای وسترن بلات انتخاب شد که در هر گروه، یک نمونه‌ی

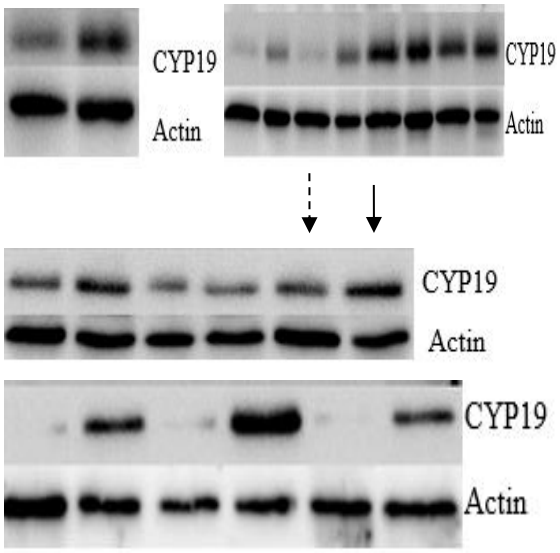
PCOS با یک نمونه‌ی غیر مبتلا از نظر سن و BMI جفت شد.

ارزیابی بیان پروتئین آروماتاز به روش وسترن بلات: ابتدا نمونه‌ی بافتی مورد نظر از نیتروژن مایع خارج و روی یخ قرار داده شد تا از حالت انجماد خارج شود. سپس، به ۵ میلی‌گرم از بافت چربی، ۳۰۰ میکرولیتر از بافر لیز کننده‌ی سلولی به همراه آنزیم بنزوناز و مهار کننده‌ی پروتئاز و در صورت نیاز، مهار کننده‌ی فسفاتاز اضافه شد و با استفاده از یک هموژنیزر یکنواخت شد. در مرحله‌ی آخر از آماده‌سازی، نمونه در ۴ درجه به مدت ۱۰ دقیقه در دور g۱۴۰۰۰سانتریفیوژ شد. برای تعیین غلظت پروتئین‌ها، از کیت مخصوص (Thermo scientific, Rockford, US) Bradford assay Kit استفاده شد.

مرحله‌ی بعد، الکتروفورز بر روی ژل آکریل‌آمید بود. نمونه‌ها گذاشته (Load) شد و بعد از رسیدن رنگ آبی به انتهای ژل، جریان قطع گردید و ژل برای انتقال به غشا آماده شد. نوع غشای به کار رفته در مطالعه‌ی کنونی، غشاهای Polyvinylidene fluoride or polyvinylidene difluoride (PVDF) بود. بنابراین، برای این که در مراحل اضافه کردن آنتی‌بادی اولیه و ثانویه، آنتی‌بادی‌ها به صورت غیر اختصاصی به قسمت‌های خالی غشا متصل نشوند، باید غشا را با یک عامل بلاکینگ پوشاند.

از شیرخشک برای بلاکینگ استفاده شد. سپس، آنتی‌بادی اولیه‌ی موشی (AbD serotec MCA2077S Batch No:280508) CYP19 با رقت ۱/۱۰۰ به بلات اضافه شد. بعد از اتمام شستشو، Tris-buffered saline and polysorbate tween (TBST) تخلیه شد و آنتی‌بادی ثانویه برای آنتی‌بادی CYP19، با رقت ۱/۴۰۰۰۰ به بلات اضافه گردید و پس از طی شدن مدت زمان لازم برای ظهور، توسط دستگاه عکس‌برداری انجام گرفت (شکل ۱). سپس، برای کمی کردن نتایج، از نرم‌افزار Image j استفاده شد.

واکاوی آماری: نتایج این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار آماری Statistical analysis system (SAS) نسخه‌ی ۹/۲ واکاوی شد. طبیعی بودن داده‌ها با استفاده از Kolmogorov-Smirnov test بررسی و با توجه به توزیع غیر طبیعی داده‌ها، از Mann–Whitney U test به جهت مقایسه‌ی دو گروه استفاده شد. P < ۰/۰۵۰ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.



شکل ۱. مقایسه‌ی وسترن بلات نمونه‌ی بافت چربی شکمی زیرجلدی دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به Polycystic ovary syndrome (PCOS)

وسترن بلات برای ۲۲ نمونه انجام شد و نمونه‌ها در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به **PCOS** دو به دو بر اساس سن و وزن جفت شدند. لکه‌های پررنگ (فلش کامل) بیان پروتئین در نمونه‌های غیر **PCOS** و لکه‌های کمرنگ (فلش نقطه‌چین) بیان پروتئین در نمونه‌های **PCOS** می‌باشد. در ردیف‌های اول، آنتی‌بادی **CYP19** و در ردیف دوم، از آنتی‌بادی اکتین به عنوان شاهد داخلی استفاده شد.

یافته‌ها

میانگین شاخص توده‌ی بدنی برای مادران مبتلا، ۳۰/۶ کیلوگرم/مترمربع و برای مادران غیر مبتلا، ۲۹/۵ کیلوگرم/مترمربع و همچنین، متوسط سن مادران مبتلا حدود ۳۱/۳ سال و برای مادران غیر مبتلا حدود ۳۲/۴ سال بود. واکاوی‌های آماری نشان دادند که دو گروه مورد مطالعه از لحاظ BMI قبل از بارداری و BMI زمان زایمان و نیز از لحاظ سن، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (P >۰/۰۵۰) (جدول ۱). با کمی کردن نتایج، نشان داده شد که بیان پروتئین CYP19 در گروه PCOS نسبت به گروه غیر PCOS کاهش معنی‌داری داشت (P = ۰/۰۰۶). این میزان برای مادران مبتلا به PCOS حدود ۰/۲ شدت سیگنال باند و برای مادران غیر مبتلا حدود ۰/۶ شدت سیگنال باند بود و مشخص شد بیان پروتئین

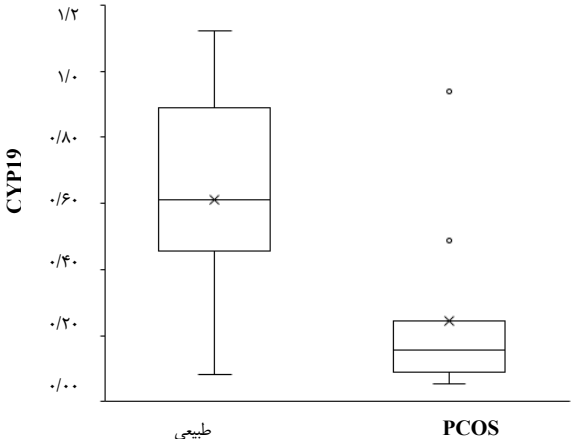
جدول ۱. مقایسه‌ی سن، شاخص توده‌ی بدنی قبل از بارداری و روز زایمان بین دو گروه گروه زنان مبتلا و غیر مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک

گروه‌های مطالعه	تعداد افراد (نفر)	سن (سال)	BMI قبل از بارداری (کیلوگرم/مترمربع)	BMI زمان زایمان (کیلوگرم/مترمربع)
زنان مبتلا به PCOS	۱۱	۳۱/۲ ± ۳/۸۲	۲۶/۸ ± ۶/۶۲	۳۰/ ۹± ۶/۳۲
زنان غیر مبتلا به PCOS	۱۱	۳۲/۱ ± ۴/۵۳	۲۵/۱ ± ۴/۹۱	۲۹/۹ ± ۵/۶۱
مقدار P	-	۰/۰۵۰ >	۰/۰۵۰ >	۰/۰۵۰ >

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار آمده است.

BMI: Body mass index; PCOS: Polycystic ovary syndrome

آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی شکمی زنان مبتلا به PCOS، حدود یک سوم نسبت به زنان باردار غیر مبتلا به PCOS بیان کمتری داشت (شکل ۲).



شکل ۲. مقایسه‌ی بیان پروتئین CYP19 در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به (PCOS) Polycystic ovary syndrome

بیان پروتئین **CYP19** در گروه مبتلا به **PCOS** نسبت به گروه غیر **PCOS** (طبیعی) کاهش معنی‌داری داشت (**P** = ۰/۰۰۶)

بحث

در مطالعه‌ی کنونی، بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی زنان PCOS به طور معنی‌داری کاهش چشم‌گیری نسبت به زنان باردار غیر مبتلا دارد؛ به نحوی که پروتئین آروماتاز در بافت چربی زیرجلدی زنان باردار مبتلا، حدود یک سوم کمتر بیان شده است. آروماتاز، باعث سنتز استرادیول و استرون می‌شود. بخشی از اختلالات متابولیک در زنان مبتلا به PCOS، مقاومت به انسولین می‌باشد که رابطه‌ی تنگاتنگ با هورمون‌های جنسی دارد (۱۲). همچنین، شواهدی وجود دارد که هایپر اندروژنی منجر به تغییرات رشدی در مغز و تغییرات دایمی و یا تغییرات اپی‌ژنتیک و مولکولی در پروفایل ژنی جنین خواهد شد که ممکن است بافت چربی مادر نقش مهمی در این زمینه داشته باشد (۱۳).

مطالعه‌ی مشابهی نشان داد که ژن *CYP19* در بافت چربی بیان می‌شود و پیشنهاد شده است که بر خلاف سایر بافت‌های محیطی سنتز کننده‌ی آندروژن، فقط آندروژن تولیدی در بافت چربی به جریان خون وارد می‌شود. به عبارت دیگر، بافت چربی، نقش کلیدی در تولید و کنترل آندروژن در بدن دارد (۱۴). نتیجه‌ی جالب توجه در راستای یافته‌های مطالعه‌ی حاضر، در مطالعه‌ی سال ۲۰۲۰ بود که بیان ژن آروماتاز در سلول‌های گرانولوزای تخمدان زنان غیر مبتلا به سندرم پلی کیستیک حدود ۳ برابر این میزان در زنان مبتلا به PCOS بود و شاید به لحاظ الگوی بیان پروتئین آروماتاز بین بافت‌های مختلف شرایط یکسانی در خانم‌های مبتلا به PCOS وجود دارد (۱۲).

همچنین، مطالعه‌ی سال ۲۰۰۹ نشان داد که در هر بافت برای بیان ژن و به دنبال آن بیان پروتئین، الگوی اختصاصی همان بافت وجود دارد؛ به عبارتی، پروموتر این ژن در بافت‌ها وابسته به شرایط فرد متغیر می‌باشد. این مطالعه، نشان داده است که در تومورهای داخل بافت چربی، پروموتر از نوع ۱/۴ به پروموتر نوع P11 تغییر کرده است (۱۵). مطالعه‌ی مشابه دیگری در سال ۲۰۱۱، بیان پروتئین آروماتاز را در ۲۸ زن مبتلا و ۱۹ زن غیر مبتلا به PCOS با فشار خون بالا در بافت چربی زیرجلدی شکمی مقایسه کرد. با وجود این که در زنان مبتلا به PCOS، سن و BMI کمتر از گروه غیر PCOS بود، اما بیان پروتئین آروماتاز بین گروه‌های PCOS با فشار خون طبیعی و زنان غیر PCOS، تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (۱۶).

به نظر می‌رسد در این مطالعه، هایپرآندروژنی و هایپرانسولینمیا، تنها عوامل تأثیرگذار بر بیان ژن و به دنبال آن، بیان پروتئین آروماتاز بودند و دیگر عوامل کمتر تأثیرگذار هستند. همچنین، مطالعه‌ی Simpson در راستای نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که هم در بافت تخمدان و هم بافت چربی زنان PCOS، کاهش معنی‌داری در بیان پروتئین آروماتاز وجود دارد (۱۷). لازم به ذکر است که مطالعه‌ی Simpson (۱۷)، بر روی زنان باردار مبتلا به این سندرم نبود، اما یافته‌ی مطالعه‌ی حاضر در خصوص افت بیان پروتئین در زنان باردار مبتلا، مؤید نقش کلیدی بافت چربی در زمان حاملگی می‌باشد که با مطالعات روی زنان غیر باردار مبتلا به PCOS، هم‌خوانی دارد. نوآوری مطالعه‌ی حاضر، بررسی افراد در دو گروه مختلف با BMI و سن یکسان است. پس به نظر می‌آید این سندرم با تغییرات ژنتیکی پایدار، باعث بروز این اختلافات خواهد شد. علاوه بر حضور پروتئین‌های ترشحی، بافت چربی بسیاری از سیتوکین‌ها و عوامل رشد (آدیپوکاین) نیز ترشح می‌کند (۱۸) که کنترل بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی بافت چربی را بر عهده دارند. بنابراین، نتایج مطالعه‌ی حاضر، مطابق با نتایج مطالعات قبلی، تأیید کننده‌ی کاهش بیان پروتئین آروماتاز در بافت چربی زنان باردار مبتلا به PCOS در مقایسه با گروه غیر مبتلا می‌باشد.

همچنین، به عنوان یک مکانیسم احتمالی، به نظر می‌رسد نقش پروموترها در بیان ژن و پروتئین آروماتاز بسیار زیاد است. یکی از مهم‌ترین پروموترها در بافت چربی P1.4 می‌باشد. این پروموتر، در بافت چربی توسط مسیر سیگنالینگ JAK/STAT که توسط گلوکورتوکوئیدها و سیتوکین‌ها (به ویژه نوع ۶ و ۱۱) فعال می‌شود و باعث تغییر ترجمه‌ی این ژن می‌گردد (۱۹). به نظر می‌رسد که بیان آروماتاز در بافت چربی به صورت ابتدایی توسط سیتوکین Class 1 مثل اینترلوکین IL-6 و پروستاگلاندین E2 که به طور مشخص در بافت چربی تولید می‌شود، بیان ژن و پروتئین CYP19 را تنظیم می‌کند (۱۶).

در راستای مطالعه‌ی حاضر، Wang و همکاران، برای مقایسه‌ی بیان این ژن و پروتئین آن، نمونه‌ی چربی زیرجلدی ناحیه‌ی شکمی زنان مبتلا و غیر مبتلا به PCOS را بررسی کردند. مشابه مطالعه‌ی حاضر، بیان پروتئین آروماتاز در زنان مبتلا به PCOS کمتر بود. آن‌ها نقش قسمتی از اگزون 1s این ژن را در تغییرات پس از ترجمه‌ی این ژن تأیید کردند (۱۵). همچنین، در مطالعه‌ی دیگری، بیان این ژن در جفت و بافت چربی زیرجلدی زنان باردار و زنان چاق مقایسه و مشاهده شد که بیان این ژن در چربی احشایی بیشتراز چربی زیرجلدی زنان باردار بود. جالب این که این الگوی بیان در زنان چاق معکوس بود؛ یعنی بافت چربی زیرجلدی بیان ژن بیشتری نسبت به بافت احشایی داشت (۷). از این رو، در نظر گرفتن ناحیه‌ی نمونه‌برداری در مطالعات بافت چربی اهمیت زیادی دارد. نکته‌ی دیگر این که بیان پروتئین این ژن فقط در بافت چربی زنان باردار دیده شده و در زنان چاق با وجود بیان این ژن، سنتز پروتئینی دیده نشده است. این مطالعه نیز تغییرات پس از ترجمه و تنوع پروموتر این ژن را در دو قسمت از بافت چربی تأیید می‌کند. در همین راستا، این مطالعه، Alternative splicing در نواحی اولیه‌ی اگزون بالادست این ژن را یکی از این تغییرات پس ترجمه می‌داند. با این وجود، مطالعاتی نیز نشان داده‌اند که تمام این تغییرات ناشی از جهش در این ژن می‌باشد که به صورت اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد (۱۴).

در مطالعه‌ای بر روی بافت چربی زیرجلدی زنان مبتلا به این سندرم و مقایسه‌ی بیان پروتئین ژن‌های CYP17 و AKR3 در بافت چربی زنان غیر مبتلا در راستای نتایج مطالعه‌ی حاضر، بیان این پروتئین‌ها در بافت چربی زیرجلدی زنان مبتلا کمتر بوده است. نکته‌ی جالب توجه این جاست که این مطالعه، نقش بافت چربی در بروز این سندرم را حتی از غدد اصلی سنتز کننده‌ی هورمون‌های استروئیدی نیز مهم‌تر می‌داند (۲۰). در این بین، با توجه به چند عاملی بودن این سندرم، می‌توان نقش عامل ژنتیکی را بسیار قوی‌تر از سایر عوامل به وجود آورنده‌ی این سندرم مانند شرایط محیطی دانست. همچنین، به نظر می‌رسد PCOS شرایطی فراهم آورده است که با توجه به یکسان بودن وزن و سن افراد دو گروه مورد مطالعه، باعث تغییر بیان پروتئین آروماتاز زنان مبتلا به این سندرم شده است.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نه تنها می‌تواند منشأ ژنتیکی بروز PCOS را تأیید نماید؛ بلکه بر نقش کلیدی بافت چربی در بروز این سندرم و به ویژه اختلال در بیان پروتئین آروماتاز در بافت مورد نظر نیز تأکید دارد.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری، طرح مشترک دانشگاه آزاد اسلامی- واحد علوم و تحقیقات و پژوهشگاه رویان با شماره‌ی قرارداد ۹۶/۱۹/۳۲۷۹ص می‌باشد. بدین وسیله، از ریاست و معاونت محترم پژوهشگاه رویان و نیز دانشکده‌ی علوم پایه‌ی واحد علوم و تحقیقات تهران برای حمایت از اجرای این طرح قدردانی می‌گردد. لازم است از همکاری بی‌دریغ سرکار خانم دکتر اشرف معینی در کلیه‌ی مراحل این مطالعه سپاسگزاری شود. همچنین، از افراد شرکت کننده و نیز پرسنل بیمارستان‌های آرش، خاتم‌الانبیا (ص) و آتیه سپاسگزاری می‌گردد.

References

1. Gunning MN, Sir PT, Crisosto N, van Rijn BB, de Wilde MA, Christ JP, et al. Cardiometabolic health in offspring of women with PCOS compared to healthy controls: A systematic review and individual participant data meta-analysis. Hum Reprod Update 2020; 26(1): 103-17.
2. Afiqah-Aleng N, Altaf-Ul-Amin M, Kanaya S, Mohamed-Hussein ZA. Graph cluster approach in identifying novel proteins and significant pathways involved in polycystic ovary syndrome. Reprod Biomed Online 2020; 40(2): 319-30.
3. Amer SA, Alzanati NG, Warren A, Tarbox R, Khan R. Excess androgen production in subcutaneous adipose tissue of women with polycystic ovarian syndrome is not related to insulin or LH. J Endocrinol 2019. [Epub ahead of print].
4. Blouin K, Nadeau M, Mailloux J, Daris M, Lebel S, Luu-The V, et al. Pathways of adipose tissue androgen metabolism in women: Depot differences and modulation by adipogenesis. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 296(2): E244-E255.
5. Ofori EK, Conde AS, Correas-Gomez L, Carnero EA, Zwygart K, Hugues H, et al. Thigh and abdominal adipose tissue depot associations with testosterone levels in postmenopausal females. Clin Endocrinol (Oxf) 2019; 90(3): 433-9.
6. Katsigianni M, Karageorgiou V, Lambrinoudaki I, Siristatidis C. Maternal polycystic ovarian syndrome in autism spectrum disorder: A systematic review and meta-analysis. Mol Psychiatry 2019; 24(12): 1787-97.
7. Wang L, Li S, Zhao A, Tao T, Mao X, Zhang P, et al. The expression of sex steroid synthesis and inactivation enzymes in subcutaneous adipose tissue of PCOS patients. J Steroid Biochem Mol Biol 2012; 132(1-2): 120-6.
8. Ma X, Weng X, Hu X, Wang Q, Tian Y, Ding Y, et al. Roles of different n-3/n-6 PUFA ratios in ovarian cell development and steroidogenesis in PCOS rats. Food Funct 2019; 10(11): 7397-406.
9. Facchi JC, Lima TAL, Oliveira LR, Costermani HO, Miranda GDS, de Oliveira JC. Perinatal programming of metabolic diseases: The role of

glucocorticoids. Metabolism 2020; 104: 154047.
10. Parween S, DiNardo G, Baj F, Zhang C, Gilardi G, Pandey AV. Differential effects of variations in human P450 oxidoreductase on the aromatase activity of CYP19A1 polymorphisms R264C and R264H. J Steroid Biochem Mol Biol 2020; 196: 105507.
11. MacKenzie SM, Huda SS, Sattar N, Fraser R, Connell JM, Davies E. Depot-specific steroidogenic gene transcription in human adipose tissue. Clin Endocrinol (Oxf) 2008; 69(6): 848-54.
12. Al-Fartosy A, Awad N, Mohammed A. Intelectin-1 and endocrinological parameters in women with polycystic ovary syndrome: effect of insulin resistance. The Ewha Medical Journal 2020; 43(1): 1-11.
13. Robinson SL, Ghassabian A, Sundaram R, Trinh MH, Bell EM, Mendola P, et al. The associations of maternal polycystic ovary syndrome and hirsutism with behavioral problems in offspring. Fertil Steril 2020; 113(2): 435-43.
14. Barber TM, McCarthy MI, Wass JA, Franks S. Obesity and polycystic ovary syndrome. Clin Endocrinol (Oxf) 2006; 65(2): 137-45.
15. Wang H, Li R, Hu Y. The alternative noncoding exons 1 of aromatase (Cyp19) gene modulate gene expression in a posttranscriptional manner. Endocrinology 2009; 150(7): 3301-7.
16. Lecke SB, Morsch DbM, Spritzer PM. CYP19 gene expression in subcutaneous adipose tissue is associated with blood pressure in women with polycystic ovary syndrome. Steroids 2011; 76(12): 1383-8.
17. Simpson ER. Sources of estrogen and their importance. J Steroid Biochem Mol Biol 2003; 86(3-5): 225-30.
18. Martínez-Chacón G. Regulation of human aromatase gene expression in adipose tissue [PhD Thesis]. Turku, Finland: University of Turku; 2020.
19. Fuentes N, Silveyra P. Estrogen receptor signaling mechanisms. Adv Protein Chem Struct Biol 2019; 116: 135-70.
20. Shi SY, Luk CT, Brunt JJ, Sivasubramaniyam T, Lu SY, Schroer SA, et al. Adipocyte-specific deficiency of Janus kinase (JAK) 2 in mice impairs lipolysis and increases body weight, and leads to insulin resistance with ageing. Diabetologia 2014; 57(5): 1016-26.

DOI: *10.22122/jims.v38i589.12934* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 38, No. 589, 1st Week, November 2020**

Received: 15.04.2020 Accepted: 18.08.2020 Published: 05.11.2020

Expression of Aromatase Protein in Abdominal Subcutaneous Adipose Tissue of Pregnant Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS)

Neda Emami[1], Maryam Shahhoseini[2], Parichehreh Yaghmaei[3], Alireza Alizadeh[4]

Original Article

Abstract

Background: Polycystic ovary syndrome (PCOS) is one of the hormonal disorders in women. The PCOS may be due to decreased aromatase activity in adipose tissue. The aim of this study was to investigate the differences in the expression of aromatase protein in adipose tissue of pregnant women with and without PCOS.

Methods: In this case-control study, aromatase protein expression were compared in subcutaneous adipose tissue of 11 pregnant women with and 11 without PCOS who were matched with each other in terms of weight characteristics before pregnancy and age. A subcutaneous adipose tissue samples (3-4 grams) was obtained during cesarean section. The expression of aromatase protein in adipose tissue was assessed using Western blotting method. All obtained data were statistically analyzed using SAS software.

Findings: According to the analysis and quantification of the results, it was shown that the expression of aromatase protein in the subcutaneous adipose tissue of the abdomen of the group with PCOS decreased significantly compared to the non-PCOS group (P = 0.006). In other words, the expression of aromatase protein was about one-third lower in the adipose tissue of women with PCOS than in women without it.

Conclusion: The current study shows that the expression of aromatase protein in the adipose tissue of women with PCOS is reduced. This finding could confirm the key role of adipose tissue in the development of symptoms of this syndrome.

Keywords: Abdominal fat; Subcutaneous fat; Aromatase; Polycystic ovarian syndrome

Citation: Emami N, Shahhoseini M, Yaghmaei P, Alizadeh A. **Expression of Aromatase Protein in Abdominal Subcutaneous Adipose Tissue of Pregnant Women with Polycystic Ovary Syndrome (PCOS).** J Isfahan Med Sch 2020; 38(589): 621-7.

1- PhD Student of Biochemistry, Department of Biology, School of Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2- Professor, Reproductive Epidemiology Research Center AND Department of Genetics, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive Biomedicine, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
3- Professor, Department of Biology, School of Science, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
4- Assistant Professor, Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran
Corresponding Author: Alireza Alizadeh, Assistant Professor, Department of Embryology, Reproductive Biomedicine Research Center, Royan Institute for Reproductive, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Tehran, Iran; Email: alizadehmasouleh@royaninstitute.org