

بررسی پلی مورفیسم ژن‌های آدرنوسپتوری (گیرنده‌های بتا ۲ و بتا ۳) در زنان مبتلا به تخمدان پلی کیستیک

چکیده

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۱ ویرایش: ۱۳۹۷/۰۲/۲۸ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۹/۲۵ آنلاین: ۱۳۹۷/۱۰/۰۵

زمینه و هدف: پلی مورفیسم ژنتیکی یا چند شکلی ژنتیکی مسئول تفاوت‌های فردی است. پلی مورفیسم به‌عنوان یک فاکتور اصلی و مهم در رابطه با بیماری‌های پیچیده با اتیولوژی یا سبب‌شناسی ناشناخته و همچنین سرطان مطرح می‌باشد. پژوهش کنونی با هدف بررسی ژن‌های دو گیرنده بتا ۲ و بتا ۳ سیستم آدرنرژیک در زنان مبتلا به تخمدان پلی کیستیک صورت گرفته است.

روش بررسی: این مطالعه مقطعی بر روی ۲۰۰ بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک در بیمارستان امام خمینی (ره) تهران، درمانگاه نازایی ولیعصر (عج) بین سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۶ انجام شد. بررسی پلی مورفیسم بر روی کدون‌های ۱۶، ۲۷، ۱۱۳ و ۱۶۴ از ژن گیرنده بتا ۲ و کدون ۶۴ از ژن گیرنده بتا ۳ آدرنرژیک انجام شد.

یافته‌ها: بررسی کدون‌های گیرنده بتا ۲ نشان داد که تنها در کدون ۱۶۴ گیرنده بتا ۲ آدرنرژیک پلی مورفیسم (۴/۴۴٪) رخ داده که یافته بین دو گروه بیمار و شاهد معنادار می‌باشد. نسبت هموزیگوت و هتروزیگوت نیز در دو گروه تفاوت معناداری را نشان داد. پلی مورفیسم از ژن کدون ۶۴ اسید آمینه تریپتوفان را کد می‌نماید، نیز نشان می‌دهد که نوکلوتید T به C تغییر یافته است.

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان می‌دهد که تنها پلی مورفیسم کدون ۱۶۴ (Thr164Ile) ژن گیرنده بتا ۲ و پلی مورفیسم ژن گیرنده بتا ۳ (Thr164Ile 64 (rs 4994) با سندرم تخمدان پلی کیستیک همراهی می‌نماید. بنابراین دو کدون نامبرده از دو گیرنده بتا ۲ و بتا ۳ آدرنرژیک می‌توانند ریسک یا خطر ابتلا به تخمدان پلی کیستیک را در زنان بالا ببرد.

کلمات کلیدی: گیرنده بتا ۲ آدرنرژیک، گیرنده بتا ۳ آدرنرژیک، سندرم تخمدان پلی کیستیک، پلی مورفیسم.

فریده ظفری زنگنه^{۱*}

معصومه معصومی^۲

الهه سید ابوترابی^۱

۱- مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر، بیمارستان ولیعصر ۲، بیمارستان امام خمینی (ره)، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۲- گروه بیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، بلوار کشاورز، بیمارستان امام خمینی (ره)، بیمارستان ولیعصر ۲، طبقه اول، مرکز تحقیقات بهداشت باروری ولیعصر.

تلفن: ۰۲۱-۶۶۵۸۱۶۱۶

E-mail: zangeneh14@gmail.com

مقدمه

است که به‌طور معمول توسط معیارهای روتردام تعریف می‌شود.^۳ پلی مورفیسم‌های نوکلئوتیدی منفرد (Single nucleotide polymorphisms) (SNPs) ساده‌ترین فرم و منبع اصلی پلی مورفیسم ژنتیک در ژنوم انسانی است (۹۰٪ از تمام پلی مورفیسم DNA انسان). تنوع ژنومیکی و بنابراین SNPs پاسخگوی تنوع گونه‌های انسانی می‌باشد. نقشه SNP به‌طور موفقیت‌آمیزی در تشخیص ژن‌های افراد در بیماری‌های منوژنیک مانند هانتینگتون شناسایی شده، اگرچه قابل ذکر است که اکثریت صفات ژن‌های مولتیپل یا چندگانه از فاکتورهای محیطی نیز تاثیرپذیری دارند.^۴ بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک در خطر

شواهد بالینی نشان می‌دهد که سندرم تخمدان پلی کیستیک دارای یک مبنای توارثی است.^{۱،۵} ظواهر ژنتیکی این سندرم، پژوهشگران ژن را واداشته که بررسی ژن‌ها را در جهت رشد فنوتیپی سندرم جستجو کنند. یک انگیزه برای مطالعات ژنتیکی تخمدان پلی کیستیک موفقیت در سبب‌شناسی یا اتیولوژی سندرم یادشده می‌باشد که متاسفانه تنوع فنوتیپی سندرم یک مانع عمده برای رسیدن به این هدف می‌باشد، چراکه فنوتیپ تخمدان پلی کیستیک بر اساس معیارهایی مشخص شده

DNAها استخراج و سپس پرایمر جهت PCR بر اساس بانک ژن تهیه و در نهایت سکانس می‌شوند. استخراج DNA خون‌های ذخیره‌شده با استفاده از کیت کیاژن و با توجه به دستورکار مربوطه DNAها استخراج شد. طراحی پرایمر با استفاده از نرم‌افزار Primer Express software, طراحی پرایمر با استفاده از نرم‌افزار NCBI Primer-Blast Tool و با استفاده از ابزار NCBI Primer-Blast Tool (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) version 3.0 انجام گردید و با استفاده از ابزار NCBI Primer-Blast Tool (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/) مورد تایید از نظر همخوانی با ژن گیرنده‌های بتا ۲ و ۳ و عدم تکثیر ناحیه‌ای دیگری از ژنوم انسان قرار گرفت. طراحی پرایمر برای بررسی ژن گیرنده ADRB2 و ADRB3 با استفاده از بانک ژن انجام شد.

بررسی پلی مورفیسم چهار کدون ۱۶، ۲۷، ۱۱۳ و ۱۶۴ از ژن گیرنده بتا ۲ با اطلاعاتی (NC_000005.10:148826593...14882863) که از سایت NCBI استخراج شد، صورت گرفت. نوکلئوتیدهای منفرد انتخاب شده برای ژنوتیپ در این مطالعه عبارت بود از rs180088 (Thr164Ile) و جفت پرایمرها در زیر نمایش داده شده است.

5' AAGCGGCTTCTCAGAGCA 3' (forward)
5'-GATGGCTTCTGGTGGGTG-3' (reverse)

در مورد گیرنده بتا ۳ آدرنژیک به بررسی جایگاه کروموزومی 8p11.23 پرداخته شد که این ژن دارای دو اگزون و ۴۰۸ اسید آمینه می‌باشد. پس از مرحله تکثیر توسط Polymerase chain reaction (PCR) و سپس هضم آنزیمی آن توسط MspAI قطعات در آگاروز ۱٪ مورد بررسی قرار گرفت یا به عبارت دیگر محصول بالا در ژل آگاروز الکتروفورز و محصول الکتروفورز توسط پرتوی ماورای بنفش مشاهده شد. تعیین توالی نمونه مورد نظر به صورت تفاوت حاصل در شکل تظاهر یافته در روند الکتروفورزیس بین نمونه مورد مطالعه و شاهد توسط Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) بررسی شد.

یافته‌ها

پس از Blast توالی‌ها با توالی مرجع در نقاطی عدم مطابقت دیده شد که جهت بررسی آن تغییرات پروتیینی تجزیه تحلیل با CLUSTALW (https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw) انجام گرفت. در بررسی و تحلیل چهار کدون گیرنده بتا ۲ در گروه مطالعه تنها کدون ۱۶۴ به میزان ۴۴٪ پلی مورفیسم رخ داده بود که نشان‌دهنده تفاوت معنادار بین دو

وقوع بیماری‌هایی مانند دیابت قندی، بیماری‌های قلبی-عروقی، خطر افزایش فشارخون و انفارکتوس میوکارد، کارسینوما (آندومتر، پستان و تخمدان)، آپنه یا وقفه تنفسی در حین خواب و بیماری‌های روح-روانی (اضطراب و افسردگی) می‌باشند که همه این بیماری‌ها زمینه پرکاری سیستم عصبی سمپاتیک را به همراه دارند که در این زمینه گزارشات زیادی وجود دارد.^{۵-۷} مطالعات اخیر نشان داده است که این اختلال به‌عنوان یک صفت پیچیده، می‌تواند ژن‌های متعددی را در تعامل با عوامل محیطی منجر به فنوتیپ تخمدان پلی کیستیک بنماید.^{۹،۸} امروزه ژن‌های بیوستتر و متابولیسم استروژن، چاقی، تنظیم انرژي، ترشح و عملکرد انسولین شناسایی و بررسی شده‌اند.^{۱۰} به‌عنوان نمونه آندروژن دوران جنینی می‌تواند به یک فنوتیپ تخمدان پلی کیستیک در دوران نوجوانی زنان مبتلا بی‌انجامد.^{۱۱،۱۲} مطالعه پلی مورفیسم به‌طور محدود روی LH و LHRH نشان می‌دهد که موتاسیون ژن LH G1052A می‌تواند در استعداد و فنوتیپ‌های تخمدان پلی کیستیک موثر باشد.^{۱۳} این پژوهش به بررسی کدون ژن دو گیرنده بتا ۲ و ۳ سیستم سمپاتیک در بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک می‌پردازد که نتایج حاصل از آن می‌تواند میزان ریسک خطر ابتلا زنان به سندرم تخمدان پلی کیستیک را تعیین نماید.

روش بررسی

دو مطالعه مقطعی طی دو سال از فروردین ۱۳۹۴ تا اسفند ۱۳۹۶ بر روی ۲۰۰ بیمار مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک انجام شد. تمامی بیماران بر مبنای ضوابط یا معیارهای رتردام سال ۲۰۰۳ انتخاب شدند.^{۱۴} در این مطالعه گروه شاهد زنان سالم بودند که همسران نابارور داشتند. هر دو گروه با پرکردن فرم رضایت‌نامه و ضوابط کمیته اخلاق وارد مطالعه شدند. از هر دو گروه مطالعه و شاهد ۳ ml خون تهیه و سپس نمونه‌های خونی در لوله حاوی EDTA گردآوری و در فریزر -21°C نگهداری شد. معیارهای ورود به مطالعه شامل ابتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک، محدوده سنی ۴۰-۲۰ سال و شاخص توده بدنی زیر 28 kg/m^2 و معیارهای خروج از مطالعه شامل عدم ابتلا به بیماری‌های دیگر و عدم مصرف هر گونه دارو بوده است. با استفاده از کیت کیاژن [Hilden Germany / شرکت تکاپو زیست (QIAamp DNA Blood)] (Cat No./ID: 51106 Mini Kit, Qiagen) با توجه به دستورکار مربوطه

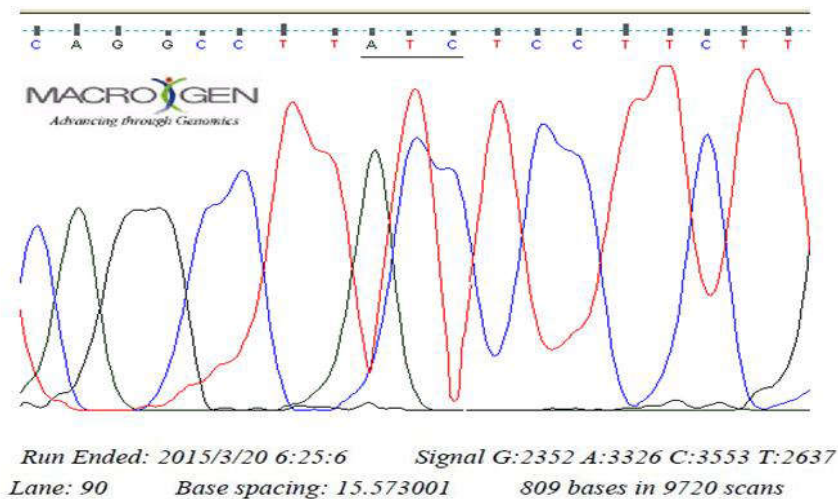
تریپتوفان به آرژنین p.W64R تغییر کرده است. شکل ۱ آنالیز توالی حاصل از PCR یکی از بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک است که با استفاده از نرم افزار FinchTV chromatogram, Version 1.4 (<https://digitalworldbiology.com/FinchTV>) مشخص شده موتاسیون را نشان می دهد (موتاسیون T به C).

گروه می باشد. همچنین نسبت هموزیگوت و هتروزیگوت در دو گروه تفاوت معناداری نشان می دهد (جدول ۱). همچنین تجزیه و تحلیل با CLUSTALW نشان داد، براساس NM_000025.2 موتاسیون 1 در کدون ۶۴ که اسید آمینه تریپتوفان (W) را کد می کند، در نوکلئوتید c.T190C رخ داده که نوکلئوتید T به C تغییر یافته و در توالی پروتئینی اسید آمینه

جدول ۱: توزیع فراوانی و فراوانی نسبی ژنوتیپ (درصد فرکانس) کدون ۱۶۴ (Thr164Ile) از ژن گیرنده بتا ۲ در دو گروه تخمدان پلی کیستیک و کنترل

P	گروهها		متغیرها
	کنترل	تخمدان پلی کیستیک	
۰/۰۰۲	۵۵ ٪۵۵/۶	۱۳ ٪۱۰۰	خیر
	۴۴ ٪۴۴/۴	۰ ٪۰/۰	بله
۰/۰۰۴	۷ ٪۸/۲		هترو
	۷۸ ٪۹۱/۸		همو
	۵۵ ٪۵۵/۶		ACC
	۴۴ ٪۴۴/۴		ATC

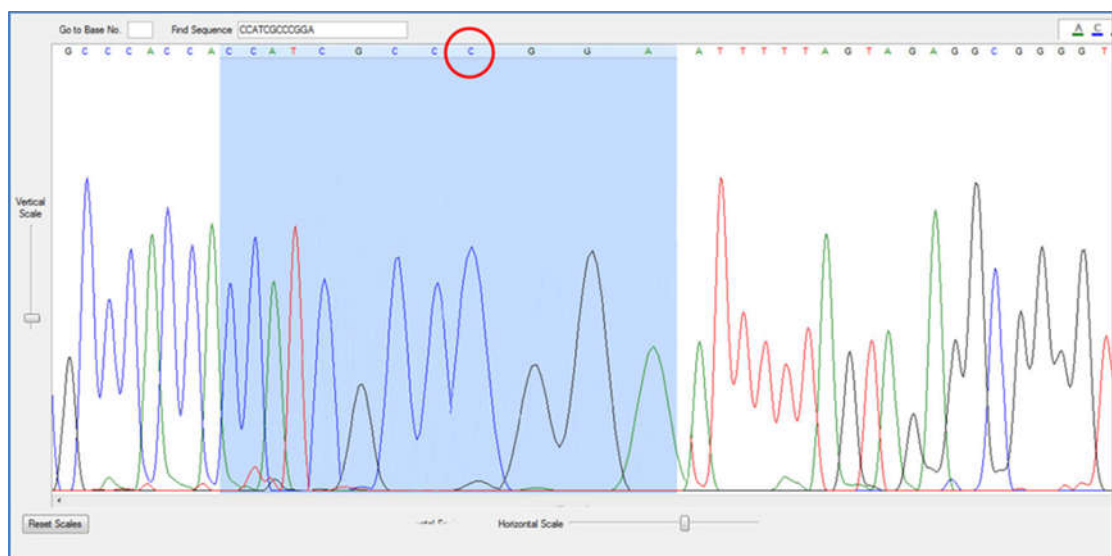
آزمون آماری مورد استفاده: Chi-square test. P<۰/۰۵ به عنوان سطح معناداری در نظر گرفته شد.



شکل ۱: Sequencing (ردیف یا توالی) کدون ۱۶۴ از ژن گیرنده بتا ۲ آدرنژیک (Thr164Ile)

جدول ۲: پرایمر به کار گرفته شده در تقویت ژن گیرنده بتا ۳ آدرنژیک

ژن (NG_011936)	ردیف‌های پرایمری (F, R, 5' 3')	طول محصول (بر پایه جفت)
اگزون یک	F:TAGAGAAGATGGCCAGGCT R:CGAGCCGTTGCCAAAGC	۱۳۳۳
اگزون دو	GCTGGGTTGGAGTAGGGATG AGAGGTTGTGAAAAGCTGG	۱۳۴۰



شکل ۲: Sequencing (ردیف یا توالی) کدون ۶۴ از ژن گیرنده بتا ۳ آدرنژیک (Trp64Arg)

بحث

مطالعه Luna و همکاران نشان داد که به کارگیری آگونیست گیرنده بتا آدرنژیک (ایزوپرتنول) می‌تواند سبب بروز تخمدان پلی کیستیک در جونده شود که با آنتاگونیزه کردن (پروپرانولول) قابل برگشت می‌باشد.^{۱۵} مطالعات بیوشیمیایی و اتورادیوگرافی نیز نشان می‌دهد که اعصاب آدرنژیک به طور مستقیم در کنترل هورمون آزادکننده هورمون لوتینی (LHRH) بوده و بیان ژن گیرنده‌های بتا آدرنژیک در روند رشد فولیکول‌ها و استروئیدوژنیز دوران بلوغ دخالت می‌نماید. قطع این عصب در تخمدان سبب کاهش چشمگیر

گیرنده بتا ۳ دارای دو اگزون می‌باشد. با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای اگزون‌های ۱ و ۲ تعیین شده واکنش PCR انجام شد. نمونه‌ها جهت تعیین توالی آماده و پس از تعیین توالی، سکانس‌ها با نرم‌افزار FinchTV آنالیز گردید (جدول ۲).
بر اساس NM_000025.2 پلی مورفیسم ۱ در کدون ۶۴ که اسید آمینه تریپتوفان (W) را کد می‌کند، در نوکلئوتید c.T190C اتفاق می‌افتد که نوکلئوتید T به C تغییر می‌کند و در توالی پروتئینی اسید آمینه تریپتوفان به آرژینین p.W64R. تغییر می‌نماید که در شکل ۲ محصول آنالیز نمونه‌های بیماران مبتلا به تخمدان پلی کیستیک است که تغییر T به C را نشان می‌دهد.

نقش محوری گیرنده بتا ۲ آدرنژیک در تنظیم فعالیت‌های طبیعی قلب و عروق، ریه، سیستم آندوکراین و عصبی است که در بیماری‌های آسم، آرتری روماتوئید، قلبی و عروقی، دیابت، چاقی، هیپرتی گلیسمیا، متابولیک و دیگر بیماری‌ها تاکنون بررسی شده است.^{۲۸-۳۰} Thomsen و همکاران پیشنهاد کردند که کدون Thr164Ile ژن گیرنده بتا ۲ ریسک یا خطر ابتلا به چاقی و دیابت را در افراد بالا می‌برد.^{۳۱}

این یافته می‌تواند وجود یافته‌های بالینی از جمله مقاومت انسولینی، هیپرانسولینمیا و یا حتی بستری برای پیدایش عوارض متابولیکی همچون فشارخون بالا و در پی آن عوارض قلبی-عروقی و دیابت را توجیه نماید. حضور گیرنده بتا ۳ در بافت چربی با چاقی تعریف پذیرتر می‌باشد. چراکه روند ترموژنیزس و فعال‌سازی سیج لیپید در سلول‌های چربی با دخالت گیرنده بتا ۳ آدرنوسپتوری انجام می‌گیرد. Daghestani و همکاران نشان دادند که پلی‌مورفیسم ژن Trp64Arg (rs4994) در زنان چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک همراهی می‌نماید.^{۳۲}

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده همراهی پلی‌مورفیسم کدون ۶۴ (rs 4994) Thr164Ile ژن گیرنده بتا ۳ آدرنژیک در زنان غیر چاق مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد، بنابراین دو کدون نامبرده از دو گیرنده بتا ۲ و بتا ۳ آدرنژیک می‌توانند ریسک یا خطر ابتلا به تخمدان پلی‌کیستیک را در زنان بالا برند.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان: "بررسی تاثیر پلی‌مورفیسم ژن گیرنده بتا ۳ آدرنژیک در بیماران مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مراجعه‌کننده به درمانگاه نازایی بیمارستان ولی عصر (عج)" مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران در سال ۱۳۹۴ به کد ۳۹-۳۲۶۱۲ می‌باشد که با حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

در میزان LHRH و پراکندگی گیرنده‌های تخمدانی این هورمون در موش مدل‌سازی شده می‌گردد.^{۱۸-۱۶} Tellechea و همکاران همراهی هالوتیپ‌های گیرنده بتا ۲ آدرنژیک را با مقاومت انسولینی در مبتلایان به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک را گزارش کردند.^{۱۹} Zangeneh و همکاران همراهی کدون ۱۶۴ گیرنده بتا ۲ را در مبتلایان به تخمدان پلی‌کیستیک گزارش کردند.^{۲۰} هدف ما نیز از این بررسی شفاف کردن بیشتر نقش سیستم عصبی سمپاتیک به‌ویژه گیرنده‌های بتا آدرنژیک آن در سندرم تخمدان پلی‌کیستیک می‌باشد.

بررسی همراهی پلی‌مورفیسم با گیرنده‌های بتا در مورد گیرنده‌های آندروژن،^{۲۱} انسولین،^{۲۲} هورمون محرک فولیکولی (FSH)،^{۲۳} هورمون آزادکننده هورمون لوتینی^{۲۴} و مبتلایان به کوشینگ^{۲۵} که مبتلا به تخمدان پلی‌کیستیک بودند نیز مطالعه شده است. گزارش Kurabayashi و همکاران همراهی کدون ۲۷ بتا ۲ آدرنژیک و کدون ۶۴ بتا ۳ را در زنان ژاپنی نشان می‌دهد.^{۲۶} این گزارش در مورد زنان چاق با مقاومت انسولینی است که همراهی کدون ۶۴ بتا ۳ آدرنژیک را نشان می‌دهد. در پژوهش کنونی زنان با شاخص توده بدنی زیر ۲۸ kg/m² بررسی شدند.

Masou و همکاران نشان دادند که در مردان غیر چاق مبتلا به سندرم متابولیک، پلی‌مورفیسم ژن دو گیرنده بتا ۲ و بتا ۳ آدرنژیک با افزایش مقاومت انسولینی، فشارخون و چاقی این بیماران همراهی می‌نماید. این پژوهشگران نشان دادند که هیپرتی گلیسیرید و فعالیت بالای سمپاتیکی امری وابسته به روند ایجاد هیپرانسولینمیا بوده و بیمار را مستعد فشارخون بالا می‌نماید. این یافته‌ها حاکی از این است که فعالیت بیش از حد سمپاتیک که با افزایش سطح نورآدرنالین سرمی نیز همراه است می‌تواند با عوامل ژنتیکی گیرنده بتا آدرنژیک مرتبط باشد که ممکن است به مقاومت انسولینی نیز کمک نماید.^{۲۷}

References

- Legro RS, Driscoll D, Strauss JF 3rd, Fox J, Dunaif A. Evidence for a genetic basis for hyperandrogenemia in polycystic ovary syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95(25):14956-60.
- Vink JM, Sadrzadeh S, Lambalk CB, Boomsma DI. Heritability of polycystic ovary syndrome in a Dutch twin-family study. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(6):2100-4.
- Clark NM, Podolski AJ, Brooks ED, Chizen DR, Pierson RA, Lehotay DC, et al. Prevalence of polycystic ovary syndrome phenotypes using updated criteria for polycystic ovarian morphology: an assessment of over 100 consecutive women self-reporting features of polycystic ovary syndrome. *Reprod Sci* 2014;21(8):1034-43.
- Segars JH, DeCherney AH. Is there a genetic basis for polycystic ovary syndrome? *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95(5):2058-60.
- Kannel WB. The Framingham Study: historical insight on the impact of cardiovascular risk factors in men versus women. *J Genet Specif Med* 2002;5(2):27-37.
- Tasali E, Van Cauter E, Ehrmann DA. Polycystic Ovary Syndrome and Obstructive Sleep Apnea. *Sleep Med Clin* 2008;3(1):37-46.
- Zangeneh FZ, Jafarabadi M, Naghizadeh MM, Abedinia N, Hag-hollahi F. Psychological distress in women with polycystic ovary syndrome from Imam Khomeini Hospital, Tehran. *J Reprod Infertil* 2012;13(2):111-5.

8. Jakubowski L. Genetic aspects of polycystic ovary syndrome. *Endokrynol Pol* 2005;56(3):285-93.
9. Xita N, Tsatsoulis A. Review: fetal programming of polycystic ovary syndrome by androgen excess: evidence from experimental, clinical, and genetic association studies. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91(5):1660-6.
10. Franks S, McCarthy MI, Hardy K. Development of polycystic ovary syndrome: involvement of genetic and environmental factors. *Int J Androl* 2006;29(1):278-85; discussion 286-90.
11. Franks S, Gharani N, Waterworth D, Batty S, White D, Williamson R, et al. The genetic basis of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod* 1997;12(12):2641-8.
12. Liu N, Ma Y, Wang S, Zhang X, Zhang Q, Zhang X, et al. Association of the genetic variants of luteinizing hormone, luteinizing hormone receptor and polycystic ovary syndrome. *Reprod Biol Endocrinol* 2012;10:36.
13. Dasgupta S, Sirisha PV, Neelaveni K, Anuradha K, Sudhakar G, Reddy BM. Role of luteinizing hormone β -subunit gene variants among South Indian women with polycystic ovary syndrome. *Gene* 2012;494(1):51-6.
14. Rotterdam ESHRE/ASRM-Sponsored PCOS Consensus Workshop Group. Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril* 2004;81(1):19-25.
15. Luna SL, Neuman S, Aguilera J, Brown DI, Lara HE. In vivo β -adrenergic blockade by propranolol prevents isoproterenol-induced polycystic ovary in adult rats. *Horm Metab Res* 2012;44(9):676-81.
16. Marchetti B, Cioni M, Badr M, Folléa N, Pelletier G. Ovarian adrenergic nerves directly participate in the control of luteinizing hormone-releasing hormone and beta-adrenergic receptors during puberty: a biochemical and autoradiographic study. *Endocrinology* 1987;121(1):219-26.
17. Merz C, Saller S, Kunz L, Xu J, Yeoman RR, Ting AY, et al. Expression of the beta-2 adrenergic receptor (ADRB-2) in human and monkey ovarian follicles: a marker of growing follicles? *J Ovarian Res* 2015;8:8.
18. Aguado LI, Petrovic SL, Ojeda SR. Ovarian beta-adrenergic receptors during the onset of puberty: characterization, distribution, and coupling to steroidogenic responses. *Endocrinology* 1982;110(4):1124-32.
19. Tellechea ML, Muzzio DO, Iglesias Molli AE, Belli SH, Graffigna MN, Levalle OA, et al. Association between β 2-adrenoceptor (ADRB2) haplotypes and insulin resistance in PCOS. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013;78(4):600-6.
20. Jafarian T, Naghizadeh MM, Salmani A3, Nejad Fathe Moghadam S, Zangeneh FZ. Are beta2-adrenergic receptor gene single-nucleotide polymorphisms associated with polycystic ovary syndrome? a pharmacogenetic study. *Gynecol Obstet (Sunnyvale)* 2015;5:12.
21. Lin LH, Baracat MC, Maciel GA, Soares JM Jr, Baracat EC. Androgen receptor gene polymorphism and polycystic ovary syndrome. *Int J Gynaecol Obstet* 2013;120(2):115-8.
22. Ramezani Tehrani F, Daneshpour M, Hashemi S, Zarkesh M, Azizi F. Relationship between polymorphism of insulin receptor gene, and adiponectin gene with PCOS. *Iran J Reprod Med* 2013;11(3):185-94.
23. Singhasena W, Pantasri T, Piromlertamorn W, Samchimchom S, Vutyavanich T1. Follicle-stimulating hormone receptor gene polymorphism in chronic anovulatory women, with or without polycystic ovary syndrome: a cross-sectional study. *Reprod Biol Endocrinol* 2014;12:86.
24. Lazaros L, Xita N, Hatz E, Takenaka A, Kaponis A, Makrydimas G, et al. CYP19 gene variants affect the assisted reproduction outcome of women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2013;29(5):478-82.
25. Eriksen MB, Brusgaard K, Andersen M, Tan Q, Altinok ML, Gaster M, et al. Association of polycystic ovary syndrome susceptibility single nucleotide polymorphism rs2479106 and PCOS in Caucasian patients with PCOS or hirsutism as referral diagnosis. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2012;163(1):39-42.
26. Kurabayashi T, Yahata T, Quan J, Tanaka K. Association of polymorphisms in the beta2 and beta3 adrenoceptor gene with polycystic ovary syndrome. *J Reprod Med* 2006;51(5):389-93.
27. Masuo K, Katsuya T, Fu Y, Rakugi H, Ogihara T, Tuck ML. Beta2-adrenoceptor polymorphisms relate to insulin resistance and sympathetic overactivity as early markers of metabolic disease in nonobese, normotensive individuals. *Am J Hypertens* 2005;18(7):1009-14.
28. Lanfear DE, Jones PG, Marsh S, Cresci S, McLeod HL, Spertus JA. Beta2-adrenergic receptor genotype and survival among patients receiving beta-blocker therapy after an acute coronary syndrome. *JAMA* 2005;294(12):1526-33.
29. Gjessing AP, Andersen G, Burgdorf KS, Borch-Johnsen K, Jørgensen T, Hansen T, et al. Studies of the associations between functional beta2-adrenergic receptor variants and obesity, hypertension and type 2 diabetes in 7,808 white subjects. *Diabetologia* 2007;50(3):563-8.
30. Lima JJ, Feng H, Duckworth L, Wang J, Sylvester JE, Kisson N, et al. Association analyses of adrenergic receptor polymorphisms with obesity and metabolic alterations. *Metabolism* 2007;56(6):757-65.
31. Thomsen M, Dahl M, Tybjærg-Hansen A, Nordestgaard BG. β 2-adrenergic receptor Thr164Ile polymorphism, obesity, and diabetes: comparison with FTO, MC4R, and TMEM18 polymorphisms in more than 64,000 individuals. *J Clin Endocrinol Metab* 2012;97(6):E1074-9.
32. Daghestani M, Daghestani M, Daghestani M, Eldali A, Hassan ZK, Elamin MH, et al. ADRB3 polymorphism rs4994 (Trp64Arg) associates significantly with bodyweight elevation and dyslipidaemia in Saudis but not rs1801253 (Arg389Gly) polymorphism in ARDB1. *Lipids Health Dis* 2018;17(1):58.

Investigation of adrenoceptor genes ($\beta 2$ & $\beta 3$) in women with polycystic ovary syndrome

Farideh Zafari Zangeneh
Ph.D.^{1*}

Masoumeh Masoumi Ph.D.
Student²

Elahe Seyed Aboutorabi Ph.D.
Student¹

1- Reproductive Health Research
Center of Vali-e-Asr, Vali-e-Asr
Hospital 2, Imam Khomeini Hospi-
tal, Tehran University of Medical
Sciences, Tehran, Iran.

2- Department of Biology, Faculty
of Basic Sciences, Islamic Azad
University, North Tehran Branch,
Tehran, Iran.

* Corresponding author: Reproductive
Health Research Center of Vali-e-Asr.
First Floor, Vali-e-Asr Hospital 2, Imam
Khomeini Hospital, Keshavarz Blvd.,
Tehran, Iran.
Tel: +98 21 66581616
E-mail: zangeneh14@gmail.com

Abstract

Received: 11 May 2018 Revised: 18 May 2018 Accepted: 16 Dec. 2018 Available online: 26 Dec. 2018

Background: Genetic polymorphism is responsible for variations and individual differences. Polymorphism is a major factor of complex diseases with unknown etiology and cancer. Inconsistency in the symptoms of polycystic ovary syndrome (monthly disorder, hirsutism, obesity, diabetes, infertility) is one of the major pathological complications of this syndrome. The present study was conducted to evaluate the polymorphism gene $\beta 2$ and $\beta 3$ adrenergic receptors in women with polycystic ovary syndrome.

Methods: This cross-sectional study was performed on 200 patients with polycystic ovary syndrome (PCOS) in Imam Khomeini Hospital, Vali-e-Asr Infertile Clinic in Tehran, Iran, from March 2016 to April 2017. Blood samples in two groups (study and control) were obtained for genomics approved by the DNA Company based on the gene bank. Polymerase chain reaction (PCR) samples were extracted and then the primer design was performed by using Primer Express software, version 3.0 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) and confirmed by using of the primer blast tool at the NCBI site in terms of compliance with the beta 3 adrenergic receptor gene. Analysis of protein changes was performed by using CLUSTALW (<https://www.genome.jp/tools-bin/clustalw>). Polymorphism was investigated on codons 16, 27, 113 and 164 from the beta2 adrenoceptor gene and codon 64 of the beta3 adrenergic receptor gene.

Results: The study of the codon beta2 of adrenoceptors showed that only codon 164 (Thr164Ile) polymorphism (44.4%) was significant ($P < 0/002$) in study group. Homozygote and heterozygote ratios also show a significant difference between the study and control groups ($P < 0/004$). Polymorphism exon 1 in codon 64 of beta3 adrenoceptor; which codes the amino acid tryptophan, indicates that the nucleotide T has changed to C. This finding confirms that mutagenic genotype can raise chance of getting to the polycystic ovary syndrome in women. OR: 2.546 (95% CI: 1.02-5.367) ($P = 0.012$).

Conclusion: These results show that polymorphisms of codon 164 (Thr164Ile) of beta2 receptor gene and beta3 adrenergic receptor gene polymorphism Thr164Ile (rs 4994) associate with polycystic ovary syndrome and the risk of PCOS are significantly increased in mutation genotype women.

Keywords: Beta-2 adrenergic receptor, Beta3 adrenergic receptor, polycystic ovarian syndrome, polymorphism.