Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 21, No. 1, Mar-Apr 2013
Pages: 53-61

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۱ ، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۲
صفحه: ۶۱-۵۳

اثر اسید ایکوزاپنتا انوئیک بر میزان بیان پروتئین sFLT1 در رده سلولی سیتوتروفوبلاست جفتی (JEG3)

جواد زواررضا[۱]، محمدحسن شیخها[۲]، سیدمهدی کلانتر[۳]، محمد بهرامی[۴]، زهرا افشاری*[۵]، فاطمه زارع[۶]

۱- استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۲- دانشیار گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۳- استاد گروه ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۴،۵- کارشناسی ارشد بیوشیمی پزشکی، پردیس بین الملل، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران
۶- کارشناسی ارشد ایمونولوژی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی، یزد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۶/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۰/۲۱

چکیده

مقدمه: در مطالعات قبلی سطح تغییر یافته LCPUFA در شرایط پاتوفیزیولوژیک مانند پره‌اکلامپسی نشان داده شده است. همچنین افزایش بیان فاکتور شبه fms محلول sFlt-1 به عنوان یک فاکتور ضدرگزائی می‌تواند در بیماری‌هایی مانند پره‌اکلامپسی نقش بازی کند. مطالعه حاضر به بررسی این فرضیه می‌پردازد که ایکوزاپنتانوئیک اسید(EPA)، به عنوان یک اسید چرب امگا ۳ با زنجیره بلند غیراشباع(LCPUFAs)، ممکن است بیان پروتئین sFlt-1 را در سلول‌های JEG-3 در هیپوکسی القاء شده توسط Di Methyl Oxalyl Glycine (DMOG) را تغییر دهد.

روش بررسی: رده سلولی تروفوبلاستی جفتی Cyto Throphoblast cells (CTs) در محیط کشت DMEM تکثیر گردید. بررسی میزان غلظت فاکتور ضدرگزایی sFlt-1 به روش الایزا مورد آزمایش قرار گرفت.

نتایج: نتایج نشان داد که انکوباسیون سلول‌های JEG3 با DMOG سبب افزایش معنی‌دار در میزان ترشح sFlt-1 می‌شود($p<۰/۰۵$)، برعکس EPA میزان ترشح این فاکتور را کاهش داد ($p<۰/۰۵$). به علاوه نتایج تأیید نمودند که این اسید چرب می‌تواند مانع اثرات هایپوکسی بر بیان sFlt-1 گردد ($p=۰/۲۶۱$).

نتیجه‌گیری: یافته‌های پژوهش نتایج مطالعات قبلی مبنی بر اینکه هیپوکسی سبب افزایش میزان ترشح پروتئین sFlt-1 می‌گردد را تأیید نمود. مطالعه حاضر نشان می‌دهد که اثرات اسیدهای چرب امگا-۳ در مهار عوارض پره اکلامپسی با میانجی‌گری سرکوب بیان ژن و ترشح پروتئین از sFlt-1 تحت شرایط هیپوکسی است. این داده‌ها شواهدی ارائه می‌کند که n3- LCPUFA می‌تواند اثرات خود را از طریق مهار مسیر HIF اعمال نماید.

واژه‌های کلیدی: اسید ایکوزاپنتا انوئیک، پره اکلامپسی، هیپوکسی، sFlt-1، JEG3

*(نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۰۹۳۹۹۱۹۳۱۵، پست الکترونیکی: lscxcb@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

مقدمه

القاء فرایند رگزایی جفت در حین حاملگی نقش بسیار مهمی در ایجاد جنین و رشد آن دارد. بروز هرگونه نقصی در عدم رگزایی (Angiogenesis) و بازارایی یا نوارایی عروق (Vascular Rearrangment) منجر به بروز اختلالات و عوارض شدیدی می‌گردد که سلامت مادر و جنین را تهدید می‌کند(۱). یکی از اختلالات مرتبط، بروز بیماری پره‌اکلامپسی می‌باشد که میزان ۱۰-۵ درصد از مرگ و میر مادر و جنین را به خود اختصاص می‌دهد. یافته‌های بالینی بارز این بیماری شامل افزایش فشارخون، پروتئینوری و ادم می‌باشد(۲).

از عوامل مولکولی مؤثر در فرایند رگزایی فاکتورهای (VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor) و نیز (PLGF: Placental Growth Factor) می‌باشند که فاکتور VEGFحائز اهمیت‌تر است. وجود این دو فاکتور منجر به تسهیل تهاجم سلول‌های تروفوبلاستی جفت(Cytothotrophoblasts: CTs) (سلول‌های اپیتلیالی بسیار تخصصی موجود در ساختارهای ویلی جفت می‌باشند) به سرخرگ‌های اسپیرال مادری و در نتیجه گسترش فرایند رگسازی می‌گردد. گیرنده فاکتور VEGF مولکولی به نام Flt1: Fms like tyrosine kinase 1 می‌باشد که در سطح سیتوتروفوبلاست‌ها وجود دارد. در شرایط بروز اختلال در رگزایی، در روند آلترناتیو اسپلیسینگ نوع دیگری از این گیرنده از آن تولید می‌گردد که به صورت محلول در گردش خون مادر ظاهر می‌شود و به نام sFlt1 یا soluble fms like thyrosine kinase -1 خوانده می‌شود. این گیرنده قابلیت اتصال به فاکتور VEGF را داشته و در نتیجه با به دام‌اندازی فاکتورVEGF سبب مهار فرایند رگزایی می‌گردد(۱،۲). بنابراین فاکتور SFlt1 به عنوان آنتاگونیست بیومارکرهای رگساز PLGF, VEGF بوده و از فرآیند رگسازی یا آنژیوژنز (Angiogenesis) جلوگیری می‌کند. به عبارتی در بیماری پره‌اکلامپسی دو فاکتور اصلی PLGF, VEGF کاهش یافته، در حالی که آنتاگونیست آنها یعنی -sFlt1 افزایش می‌یابد(۵-۲).

فرایند انژیوژنز تا حد زیادی وابسته به کاهش فشار اکسیژن یا هیپوکسی می‌باشد. چرا که در این شرایط، فاکتورهای مؤثر در انژیوژنز فعال می‌گردند. در هفته‌های ۱۰-۸ بارداری فشار اکسیژن در طرف ویلی‌ها حدود ۱۸mm/Hg و سمت جریان خون مادری حدود ۴۰ mm/Hg می‌باشد در حالی که پس از هفته دوازدهم بارداری به دنبال تخلیه جریان خون مادری به فضای داخلی ویلی‌ها، فشار اکسیژن تا ۶۰ mm/Hg نیز افزایش می‌یابد. کاهش فشار اکسیژن جفتی فعالیت سیتوتروفوبلاست را کنترل کرده و منجر به بازارایی عروق جهت افزایش فشار اکسیژن می‌گردد. نقص در بازارایی عروق به عنوان مکانیسم پیشنهاد شده در بیماران پراکلمپتیک منجر به جلوگیری از جبران کاهش فشارخون می‌گردد(۶،۱،۴).

از دیگر فاکتورهای مؤثر در بروز پره‌اکلامپسی، فاکتور شماره ۱ القاء شونده در شرایط هیپوکسی (Hypoxy : HIF1 Inducible Factor-1) است که یک فاکتور رونویسی می‌باشد و در شرایط هیپوکسی ناشی از نقص عملکردی جفت پایداری آن افزایش می‌یابد و بنابراین بیان ژن‌های رونویسی شده توسط آن مانند فاکتور رشد ترانسفرم کننده Transforming Growth Factor B3: TGF B3 و نیز فاکتور sFlt1 افزایش می‌یابد که می‌توانند تهاجم سلول‌های سیتوتروفوبلاستی را مهار کرده و منجر به ایجاد پره‌اکلامپسی گردند(۸-۶،۴).

در بیماری پره‌اکلامپسی تجمع پلاکت و انقباض عروقی مشهود است. پلاکت زنان پره‌اکلامپتیک حاوی مقادیر کمی اسیدهای چرب ایکوزاپنتاانوئیک اسید (20:5n-3) و مقادیر بالایی اسید اراشیدونیک (20:4n-6) نسبت به 20:5n-3، در مقایسه با پلاکت زنان حامله نرمال، هستند. از طرفی سرخرگ‌های عروق بندناف زنان پره‌اکلامپتیک حاوی مقادیر پایین اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیر (LCPUFAs) شامل (n-6, n-3) و 20 :3n-6 و نیز اسید چرب 20 :4n-6 می‌باشند، در حالی که مقادیر بالایی از نسبت اسیدهای چرب(9- n) 20 :3n-9 به 20:4n-6 دارند. بنابراین مقادیر پایین اسیدهای چرب n-3 و

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

n-6 در عروق بندناف زنان پره‌اکلامپتیک منجر به اختلال در تبادلات اسیدهای چرب غیراشباع جفتی می‌گردد(۹،۱۰).

در تبادلات بین جفت و جنین اسیدهای چرب مادری جهت رشد و نمو جنینی بسیار حیاتی هستند. ترجیحاً برداشت اسیدهای چرب غیراشباع بلند زنجیره (LCPUFAs) به عنوان پیش‌ساز ایکوزانوئیدها، جهت ایجاد پیام‌رسانی سلولی اثبات گردیده است(۱۱).

این اسیدهای چرب به عنوان اجزاء ساختاری فسفولیپیدهای غشایی منجر به حفظ پایداری سلول و اندامک‌های آن می‌گردد. تغییر در وضعیت اسیدهای چرب بافتی می‌تواند روی عملکرد سلولی شامل تغییر سیالیت غشایی و ضخامت آن و نیز تغییر فاز لیپیدی به واسطه واکنش‌های خاص با پروتئین‌های فعال غشاء و یا به واسطه تغییر در تعادل ایکوزانوئیدهای سنتز شده، تأثیر بگذارد. استرس جفتی و اکسیداسیون اسیدهای چرب جفتی در بیماری پره‌اکلامپسی مسئول کاهش اسیدهای چرب جفت است(۱۲).

بنابراین با توجه به نقش اساسی و بسیار مهم این فاکتور در ایجاد اختلالات بارداری، این مطالعه بنیادی با هدف بررسی تأثیر اسیدهای چرب LCPUFAs به ویژه از نوع امگا ۳ بر کاهش ترشح sFLT1 انجام پذیرفت.

روش بررسی

در این مطالعه بنیادی، رده سلولی JEG-3 از بانک سلولی انستیتو پاستور تهیه شد. محیط کشت، FBS و آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده از شرکت Invitrogen و سایر مواد از شرکت Sigma تهیه گردیدند.

رده سلولی مشتق شده ازکوریوکارسینوما (JEG3) در محیط کشت ۱۰٪ Hams- F12/ FBS (محصولات شرکت اینویتروژن)، در شرایط وجود ۹۵٪N2 - ۲٪ O2 - ۵٪ CO2 کشت داده شد.

با توجه به ارتباط بین ترشح sFLT1 با شرایط هیپوکسی، به بررسی اثر امگا ۳ در این شرایط پرداخته شده و گروه‌های مورد بررسی شامل موارد زیر بودند:

گروه کنترل منفی: محیط کشت شامل دی‌متیل‌سولفوکساید DMSO (شرکت سیگما) ۰/۱درصد؛ گروه کنترل مثبت: محیط کشت شامل دی‌متیل‌اگزالیل‌گلیسین DMOG (شرکت سیگما) ۱۰۰ میکرومولار، جهت ایجاد هیپوکسی به میزان ۳٪ می‌باشد؛ گروه شامل اسید چرب امگا ۳: EPA (شرکت سیگما) با فرمول ایکوزاپنتاانوئیک اسید ۱۰۰ میکرومولار. و گروه شامل اثرسینرژیسم اسید چرب امگا (EPA) و دی‌متیل‌اگزالیل گلیسین (DMOG).

به منظور ارزیابی حیات سلولی (Cell viability) و شمارش سلول، پس از ۲۴ ساعت با ا ستفاده از تریپسین- EDTA(1x) (محصول شرکت سیگما) سلول‌ها از فلاسک جدا گردیده و سپس با استفاده از رنگ تریپان بلو در شرایط حیاتی بر روی لام هموسیتومتر شمارش گردیدند و ترکیبات مورد استفاده با غلظت‌های یادشده اثر کشندگی بر روی سلول‌ها نداشتند.

سوپرناتانت سلولی جهت سنجش پروتئین به روش الایزا جمع‌آوری گردید. محیط کشت رویی سلول پس از جمع‌آوری، در دمای ۴ درجه سانتریفوژ و سپس در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد فریز گردید.

غلظت پروتئین sFLT1 توسط روش ساندویچی الایزا (Quantikine ELISA kit; R&D system) سنجش گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و آزمون آماری ANOVA صورت گرفت. تمام مقادیر به صورت Mean ± SE نمایش داده شد و سطح معنی‌داری برابر با ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

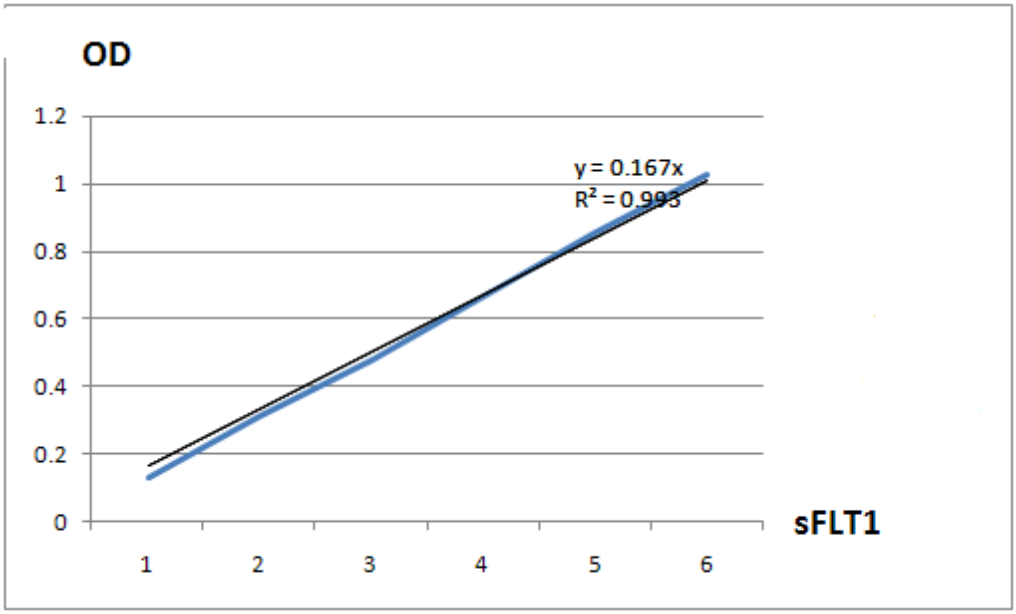
نتایج

جهت سنجش پروتئین sFLT1 در سوپرناتانت سلولی به روش الایزا، سوپرناتانت رویی که در فریزر در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردیده بود طبق دستورالعمل کیت الایزا ذوب گردیده و مورد سنجش قرار گرفت.

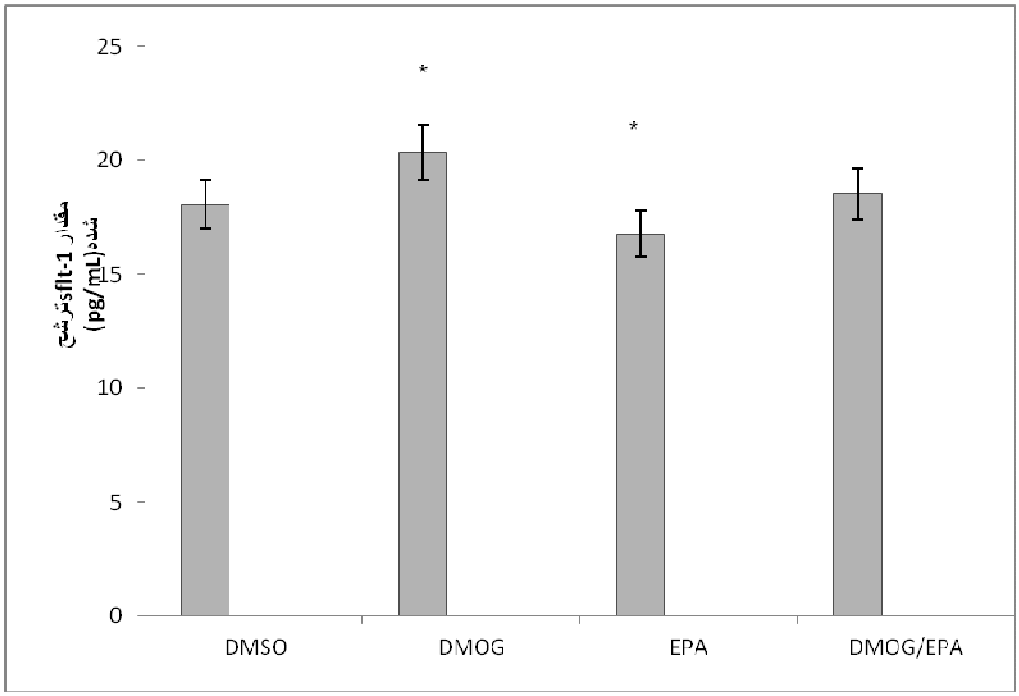
محدوده مقادیر استاندارد pg/ml ۱۰۰۰-۳۱/۲ بود که منحنی خطی آن توسط دستگاه stat fax ۳۲۰۰ در طول موج ۴۵۰nm به دست آمد.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

نتایج نشان داد که تیمار سلول‌ها توسط DMOG با غلظت ۱۰۰ میکرومولار به مدت ۲۴ ساعت منجر به افزایش بیان پروتئین sFlt-1 می‌گردد(p=۰/۰۵). EPA سبب کاهش معنی‌دار ترشح sFlt-1 گردید (p=۰/۰۵). به علاوه نشان داده شد که این اسید چرب مانع افزایش ترشح sFlt-1 در شرایط مشابه هیپوکسی (تیمار با DMOG) می‌گردد. به عبارت دیگرافزایش sFlt-1 در گروه اخیر معنی‌دار نبود (p=۰/۰۷۷) (شکل ۲).



شکل ۱: منحنی استاندارد پروتئین s Flt- 1 به روش کیت الایزا



شکل ۲: اثرِ DMOG و EPA بر بیان پروتئین sFlt-1 در رده سلولی JEG-3 (یک مدل سولی ترفوبلاستی).

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

بر اساس مطالعات مختلفی که بر روی اثرات اسید چرب در سایر رده‌ها صورت پذیرفته است، اسیدهای چرب اثرات خود را در ۲۴ ساعت نیز نشان می‌دهند.

سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت با EPA (۱۰۰ میکرومولار) و DMOG (۱۰۰ میکرومولار) تیمار شدند. میزان sFlt-1 در محیط کشت به روش الایزا سنجش گردید ($p\leq ۰/۰۵$)(شکل ۲)

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات اخیر منافع n3- LCPUFA را در بارداری نشان داده‌اند(۱۰،۱۳). اسیدهای چرب به عنوان منبع اصلی انرژی در جفت انسان می‌باشند و هر گونه نقص در مسیر تولیدکننده انرژی مانع رشد، تمایز و عملکرد جفت می‌شود. در نتیجه منجر به عقب‌افتادگی رشد و نمو جنین می‌گردد(۴۰،۵۵). مطالعات نشان داده است که سطح اسیدهای چرب در جفت و یا سرم زنان مبتلا به پره‌اکلامپسی و زنان غیرمبتلا به پره‌اکلامپسی متفاوت هستند(۱۰،۱۳-۱۵).

مطالعات اخیر نشان داده است که تولید بیش از حد sFlt1 جفتی در پاتوژنز پره اکلامپسی نقش دارد. افزایش sFlt1 و کاهش پلاسمائی PlGF و VGEF قبل از توسعه به پره‌اکلامپسی وجود دارد(۱۶).

تزریق sFlt1 در موش‌های باردار منجر به فشارخون بالا و پروتئینوری شدید با endotheliosis گلومرولی می‌گردد که تأیید می‌کنند که القای sFlt1 برای ایجاد یک سندرم شبه پره‌اکلامپسی کافی است(۲،۱۷). sFlt-1 نوع بریده شده و کوتاه شده گیرنده Flt1 است که به عنوان یک گیرنده با میل ترکیبی بالا برای VEGF و PlGF عمل می‌کند(۱۸). این فاکتور در مقادیر بالا توسط سیتوتروفوبلاست‌ها تولید شده و خنثی‌کننده VEGF و PlGF در پره‌اکلمپسی است(۱۸). مقادیر سرمی SFlt-1، ۶-۵ هفته قبل از شروع علائم بالینی پره‌اکلامپسی افزایش معنی‌داری نشان می‌دهند(۱۹). اندازه‌گیری سطح sFlt-1 با شدت بیماری ارتباط مستقیم و ارتباط معکوس با زمان شروع پروتئینوری و فشارخون بالا دارد(۱۹) و هیپوکسی به عنوان یک ماشه برای آزادی sFlt-1 در این بیماران در نظر گرفته شده است(۲).

توضیحات مختلفی برای بیان اثرات n3- LCPUFA مانند EPA بر بیان sFlt-1 ارائه شده‌اند، با این حال مکانیسم دقیق هنوز مشخص نگردیده است. با این وجود یافته‌های مطالعات مختلف فرضیه‌های متعددی را بیان می‌نمایند: ۱- تغییر در میزان غشایی اسیدهای چرب امگا ۳ می‌تواند سیالیت و استحکام غشاء را تغییر داده و در نتیجه منجر به افزایش رهاسازی Flt-1 به گردش خون گردد(۱۳)؛۲- پاسخ التهابی ممکن است در عدم توازن عوامل آنژیوژنیک در پره‌اکلامپسی نقش داشته باشد(۲۱). در این مورد اسید آراشیدونیک اسید(AA)، بیش از ایکوزانوئیدهای التهابی و EPA و دوکوزاهگزانوییک اسید (DHA) دارای اهمیت هستند. EPA و DHA با مهار متابولیسم AA به ایکوزانوئید التهابی سبب مهار فرایندهای التهابی می‌شوند. آنها همچنین تولید واسطه‌هایی را افزایش می‌دهند که کمتر التهابی و یا ضدالتهابی هستند(۲۲). همچنین LCPUFA امگا ۳ می‌تواند اثرات خود را از طریق تغییر در سایر جنبه‌های التهاب مانند کموتاکسی لکوسیت‌ها و تولید سایتوکاین‌های التهابی اعمال نماید(۲۲)، n3- LCPUFA می‌تواند اثرات خود را بر رگزایی توسط تنظیم منفی مسیر سیکلواکسیژناز ۲ /PGE2 اعمال کند(۱،۲۲،۲۳) و آنها می‌تواند مانع از تنظیم افزایشی sFlt-1 تحت شرایط کاهش اکسیژن با میانجی‌گری HIFα شوند(۲۴-۱،۲۲) که شاید مهم‌ترین مکانیسم باشد، زیرا کمبود خون‌رسانی uteroplacental یکی از ویژگی‌های شناخته شده پره‌اکلامپسی است(۲۵). بسیاری از مطالعات نشان داده‌اند هیپوکسی می‌تواند بیان sFlt1 در سلول‌های اندوتلیال عروقی جفت و cytotrophoblast را افزایش دهد(۲۷،۲۰،۲۶). علاوه بر این، ژن sFlt-1 دارای یک عنصر پاسخ هیپوکسی است که HIFα می‌تواند به آن متصل گردد(۲۸). در مطالعه حاضر، اثرات EPA، به عنوان یکی از مهم‌ترین n3- LCPUFA بر بیان پروتئین sFlt-1 در سلول‌های JEG-3 (یک مدل برای trophoblasts جفتی انسانی) بررسی گردید. همانند مطالعات قبلی نتایج این تحقیق نشان داد که تنش اکسیژن (توسط DMOG) می‌تواند تولید sFlt-1 را افزایش دهد. اما افزایش تولید sFlt1 در سلول‌های JEG-3 تیمار شده

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

همزمان با EPA و DMOG معنی‌دار نبود که با مطالعه انجام شده توسط Calviello و همکارانش که مهار بیان ژن HIFα وابسته به EPA را در سلول‌های HT-29 نشان دادند مطابقت داشت(۲۲). بنابراین می‌توان بیان کرد مکانیسم فوق مکانیسم اصلی در کاهش بیان sFlt-1 توسط EPA است. اگر چه تنظیم منفی سیگنال خارج سلولی تنظیم کیناز (ERK-1) و ERK-2 فعال‌سازی و مسیر سیکلواکسیژناز /-۲ PGE2 نیز می‌تواند در آن دخالت داشته باشد(۲۲). به طور خلاصه، داده‌های ما شواهدی ارائه می‌کند که n3- LCPUFA می‌تواند از طریق سرکوب بیان ژن از HIFα و sFlt1 اثرات خود را در مهار ایجاد و توسعه عوارض پره‌اکلامپسی اعمال نماید.

References:

1- Nagamatsu T, Fujii T, Kusumi M, Zou L, Yamashita T, Osuga Y, et al. ***Cytotrophoblasts up-regulate soluble fms-like tyrosine kinase-1 expression under reduced oxygen: an implication for the placental vascular development and the pathophysiology of preeclampsia.*** Endocrinol 2004; 145(11): 4838-45.

2- Maynard SE, Min JY, Merchan J, Lim KH, Li J, Mondal S, et al. ***Excess placental soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt1) may contribute to endothelial dysfunction, hypertension, and proteinuria in preeclampsia.*** J Clin Invest 2003; 111(5): 649-58.

3- Ahmed A, Cudmore MJ. ***Can the biology of VEGF and haem oxygenases help solve pre-eclampsia?*** Biochem Soc Trans 2009; 37(Pt 6): 1237-42.

4- Ameln H, Gustafsson T, Sundberg CJ, Okamoto K, Jansson E, Poellinger L, et al. ***Physiological activation of hypoxia inducible factor-1 in human skeletal muscle.*** FASEB J, 2005; 19(8): 1009-11.

5- Maynard SE, Venkatesha S, Thadhani R, Karumanchi SA. ***Soluble Fms-like tyrosine kinase 1 and endothelial dysfunction in the pathogenesis of preeclampsia.*** Pediatr Res 2005; 57(5 Pt 2): 1R-7R.

6- Wang A, Rana S, Karumanchi SA. ***Preeclampsia: the role of angiogenic factors in its pathogenesis.*** Physiol (Bethesda), 2009; 24: 147-58.

7- Kiriakidis S, Esteban MA, Maxwell PH. ***Genetic insights into the hypoxia-inducible factor (HIF) pathway.*** Adv Enzyme Regul 2007; 47: 288-306.

8- Nevo O, Soleymanlou N, Wu Y, Xu J, Kingdom J, Many A, et al. ***Increased expression of sFlt-1 in in vivo and in vitro models of human placental hypoxia is mediated by HIF-1.*** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2006; 291(4): R1085-93.

9- Mehendale S, Kilari A, Dangat K, Taralekar V, Mahadik S, Joshi S. ***Fatty acids, antioxidants, and oxidative stress in pre-eclampsia.*** Int J Gynaecol Obstet 2008; 100(3): 234-8.

10- Velzing-Aarts FV, van der Klis FR, van der Dijs FP, Muskiet FA. ***Umbilical vessels of preeclamptic women have low contents of both n-3 and n-6 long-chain polyunsaturated fatty acids.*** Am J Clin Nutr 1999; 69(2): 293-8.

11- Tobin KA, Harsem NK, Dalen KT, Staff AC, Nebb HI, Duttaroy AK. ***Regulation of ADRP expression by***

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

long-chain polyunsaturated fatty acids in BeWo cells, a human placental choriocarcinoma cell line. J Lipid Res 2006; 47(4): 815-23.

12- Levine RJ, Thadhani R, Qian C, Lam C, Lim KH, Yu KF, et al. ***Urinary placental growth factor and risk of preeclampsia.*** JAMA, 2005; 293(1): 77-85.

13- Kulkarni AV, Mehendale SS, Yadav HR, Joshi SR. ***Reduced placental docosahexaenoic acid levels associated with increased levels of sFlt-1 in preeclampsia.*** Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2010; 84(1-2): 51-5.

14- Bitsanis D, Crawford MA, Moodley T, Holmsen H, Ghebremeskel K, Djahanbakhch O. ***Arachidonic acid predominates in the membrane phosphoglycerides of the early and term human placenta.*** J Nutr 2005; 135(11): 2566-71.

15- Wang Y, Walsh SW, Kay HH. ***Placental tissue levels of nonesterified polyunsaturated fatty acids in normal and preeclamptic pregnancies.*** Hypertens Pregnancy 2005; 24(3): 235-45.

16- Thomas CP, Andrews JI, Raikwar NS, Kelley EA, Herse F, Dechend R, et al. ***A recently evolved novel trophoblast-enriched secreted form of fms-like tyrosine kinase-1 variant is up-regulated in hypoxia and preeclampsia.*** J Clin Endocrinol Metab 2009; 94(7): 2524-30.

17- Levine RJ, Maynard SE, Qian C, Lim KH, England LJ, Yu KF, et al. ***Circulating angiogenic factors and the risk of preeclampsia.*** N Engl J Med 2004; 350(7): 672-83.

18- Foidart JM, Schaaps JP, Chantraine F, Munaut C, Lorquet S. ***Dysregulation of anti-angiogenic agents (sFlt-1, PLGF, and sEndoglin) in preeclampsia--a step forward but not the definitive answer.*** J Reprod Immunol 2009; 82(2): 106-11.

19- Karumanchi SA, Lindheimer MD. ***Advances in the understanding of eclampsia.*** Curr Hypertens Rep 2008; 10(4): 305-12.

20- Munaut C, Lorguet S, Pegueux C, Blacher S, Berndt S, Frankenne F, et al. ***Hypoxia is responsible for soluble vascular endothelial growth factor receptor-1 (VEGFR-1) but not for soluble endoglin induction in villous trophoblast.*** Hum Reprod 2008; 23(6): 1407-15.

21- Ramma W, Ahmed A. ***Is inflammation the cause of pre-eclampsia?*** Biochem Soc Trans 2011; 39(6): 1619-27.

22- Calviello G, Di Nicuolo F, Gragnoli S, Piccioni E, Serini S, Maggiano N, et al. ***N-3 PUFAs reduce VEGF expression in human colon cancer cells modulating the COX-2/PGE2 induced ERK-1 and -2 and HIF-1alpha induction pathway.*** Carcinogenesis 2004; 25(12): 2303-10.

23- Hamazaki T, Nagasawa T, Hamazaki K, Itomura M. ***Inhibitory effect of 5,8,11-eicosatrienoic acid on angiogenesis.*** Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids 2012; 86(6): 221-4.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

24- Rius J, Guma M, Schachtrup C, Akassoglou K, Zinkernagel AS, Nizet V, et al. ***NF-kappaB links innate immunity to the hypoxic response through transcriptional regulation of HIF-1 alpha.*** Nature 2008; 453(7196): 807-11.

25- Rampersad R. Nelson DM. ***Trophoblast biology, responses to hypoxia and placental dysfunction in preeclampsia.*** Front Biosci 2007; 12: 2447-56.

26- Gu Y, Lewis DF, Wang Y. ***Placental productions and expressions of soluble endoglin, soluble fms-like tyrosine kinase receptor-1, and placental growth factor in normal and preeclamptic pregnancies.*** J Clin Endocrinol Metab 2008; 93(1): 260-6.

27- Li H, Gu B, Zhang Y, Lewis DF, Wang Y. ***Hypoxia-induced increase in soluble Flt-1 production correlates with enhanced oxidative stress in trophoblast cells from the human placenta.*** Placenta 2005; 26(2-3): 210-7.

28- Ikeda T, Sun L, Tsuruoka N, Ishigaki Y, Yoshitomi Y, Yoshitaka Y, et al. ***Hypoxia down-regulates sFlt-1 (sVEGFR-1) expression in human microvascular endothelial cells by a mechanism involving mRNA alternative processing.*** Biochem J 2011; 436(2): 399-407.

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]

Inhibitory Effect of Eicosapentaenoic Acid (EPA) on sFlt-1 (Soluble VEGF Receptor-1) Expression in Trophoblast Tumor Cell Line JEG-3

*Zavarreza J(PhD)[1], Sheikhha MH(PhD)[2], Kalantar M(PhD)[3], Bahrami M(MSc)[4], Afshari Z(MSc)[*5], Zare F(MSc)[6]*

[1,4,5]*Department of Biochemistry, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[2,3]*Department of Medical Genetics, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*
[6]*Department of Immunology, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran*

Received: 19 Sep 2012 ***Accepted:*** 10 Jan 2013

Abstract

Introduction: Previous studies have shown altered levels of n-3LCPUFA in the pathophysiologcal conditions such as preeclampsia .Also elevated expression of sFlt-1 in preeclampsia plays a major role in the pathogenesis of this serious disorder especially in reduced placental oxygenation. The present study examines the hypothesis that Eicosapentaenoic acid (EPA; 20:5), an omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids (n-3LCPUFAs), may attenuate sFlt-1 gene and protein expression in JEG-3 cells treated with induced hypoxia-like conditions by (DMOG) -induced hypoxia-like conditions.

Methods: JEG-3 cells were pretreated with DMOG incubated with EPA. Protein expression of sFlt-1 was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Messenger RNA expressions of sFlt-1 was determined by and RT Real Time-PCR.

Results: Our results showed that incubation of JEG-3 cells with DMOG cause a significant elevation in mRNA levels and protein secretion of sFlt-1($P < 0.05$). In contrast, EPA decreased the mRNA expression and protein secretion of sFlt-1($P < 0.05$). Also mRNA expression and protein secretion of sFlt-1 inhibited cells treated by both EPA and DMOG ($P=0.261$, $P =0.077$ respectively).

Conclusion: These findings confirm previous studies that hypoxia caused elevation in sFlt-1 gene expression and protein secretion. Also our studies reveal that effects of n-3 fatty acids in restraining preeclampsia complications may be mediated by suppressing the gene expression and protein secretion of sFlt-1 under hypoxia conditions. This data provide evidence that n-3 LCPUFA can exert its effects through inhibition of the HIF pathway

Keywords: EPA; Hypoxia.sFlt-1; JEG -3; Preeclampsia

This paper should be cited as:
Zavarreza J, Sheikhha MH, Kalantar M, Bahrami M, Afshari Z, Zare F. ***Inhibitory effect of Eicosapentaenoic Acid (EPA) on sFlt-1 (Soluble VEGF receptor-1) expression in trophoblast tumor cell line JEG-3***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2013; 21(1): 53-61.

Corresponding author: Tel:+ 98 9399919315, Email: lscxcb@yahoo.com

[Downloaded from jssu.ssu.ac.ir on 2026-04-26]