مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیستم / آذر و دی 1394 /101-93

بررسی ارتباط پلی مورفیسم 1082G/A ژن گیرنده استروژن با سقط مکرر جنین توسط روش AS-PCR

سحر دارایی[1]، سید عبدالحمید انگجی[2]، سعید مروتی[3]، محمد طهماسب[2]، ندا عصاری[1]

1. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش ژنتیک، دانشگاه خوارزمی، دانشکده علوم زیستی، گروه علوم سلولی و مولکولی، کرج، ایران.

2. استادیار، گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، تهران، ایران.

3. مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران (مولف مسوول)، تلفن ثابت 77818888-021، Morovvati@bmsu.ac.ir

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

چکیده

مقدمه: سقط جنین خاتمه غیر ارادی بارداری قبل از هفته بیستم است. سقط جنین اگرچه یک تجربه شایع است، اما این دلیل بر آسان بودن آن نیست و می توان با بررسی دلایل آن به سمت درمان و پیشگیری از این عارضه قدم برداشت . در این میان، زنانی که بیش از سه بار سقط پی در پی را تجربه می کنند دچار سقط مکرر هستند. در سقط مکرر به عنوان یک بیماری چند عاملی مسائل متعددی از جمله اختلالات سیستم ایمنی ، آناتومیک ، هورمونی و ژنتیکی دخیل می باشند. بیش از 50 درصد موارد ، علتی برای سقط مکرر شناسایی نمی شود . چند شکلی های ژنتیکی می تواند یکی از دلایل سقط مکرر باشد . از جمله عوامل کاندیدی که در این تحقیق مورد بررسی قرار می گیرد چند شکلی ژن گیرنده استروژن نوع بتا می باشد.

روش بررسی: در این مطالعه، 80 زن با سابقه سقط مکرر خود به خودی با علت نامشخص و 80 زن بدون سابقه سقط مکرر و دارای حداقل دو باروری موفق به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. ما در این تحقیق ، بررسی این چند شکلی را با روش AS-PCR انجام داده ایم که نسبت به روش های دیگر بررسی SNP روشی آسان تر و کم هزینه تر می باشد.

یافته ها: فراوانی پلی مورفیسم rs1256049 در میان زنان دچار سقط مکرر و زنان گروه کنترل به ترتیب 80 % و 62/5% بود. فراوانی ژنوتیپ های دو گروه شاهد و بیمار در جمعیت مورد مطالعه با هم تفاوت معنی داری دارد (p= 0/028).

نتیجه گیری: بین چند شکلی ژن گیرنده استروژن(rs1256049 G/A) و سقط مکرر در جمعیت مورد مطالعه رابطه آماری معنی داری وجود دارد، بنابراین چند شکلی ژن گیرنده استروژن می تواند به عنوان یک ژن کاندید موثر در سقط مکرر در این جمعیت معرفی گردد.

واژه های کلیدی : پلی‌مورفیسم 1082G/A ، ژن گیرنده استروژن ، سقط مکرر

وصول مقاله:93/10/23 اصلاحیه نهایی:94/3/6 پذیرش:94/3/10

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

مقدمه

شایع ترین عارضه در سه ماهه‌ی اول و دوم حاملگی سقط جنین است. مفهوم سقط جنین به ختم بارداری پیش از هفته بیستم اطلاق می شود. در این میان، زنانی که بیش از سه بار سقط جنین پی‌درپی را تجربه می‌کنند دچار سقط مکرر هستند. در سقط مکرر به عنوان یک بیماری چند عاملی مسائل متعددی از جمله اختلالات ساختمانی رحم، مشکلات هورمونی، اختلالات کروموزومی، سندرم تخمدان پلی کیستیک، بیماری های خود ایمنی و اختلالات همراه با افزایش انعقاد پذیری دخیل است و همچنین مسائل ژنتیکی از جمله چند شکلی های ژنتیکی به عنوان یکی دیگر از دلایل سقط مکرر می‌توانند مطرح باشند (2و1).

استروژن یکی از دو هورمون جنسی استروئیدی در زنان است که بوسیله تخمدان ترشح می شود . اکثر تنظیم های هیپوفیزی تخمدان با تأثیر دو هورمون استروژن و پروژسترون صورت می گیرد. استروژن در رشد جنینی، بروز صفات ثانویه جنسی، سیکل باروری و نگهداری بارداری نقش مهمی ایفا می کند. علاوه بر این استروژن رشد و تمایز سلول های اندو متر را نیز تنظیم می کند (3). به طورکلی جنبه های مختلف باروری، شکل گیری فولیکولها و بلوغ تخمکها تحت تاثیر استروژن و گنادوتروپین های هیپوفیزی شا مل LH و FSH صورت می گیرد (4). برای تنظیم عملکرد فیزیولوژیکی دستگاه تناسلی زنانه، توسط هورمون های استروئیدی وجود گیرنده این هورمون در سلول های هدف ضروری می باشد که بدین منظور این هورمون ها باید به گیرنده های اختصاصی خود متصل شوند. این گیرنده ها به عنوان مولکول های تنظیم کننده ژن در سلول های هدف وجود دارند و به صورت اختصاصی پیوند محکمی با هورمون های استروئیدی برقرار می کنند و پس از اتصال این کمپلکس با اثر بر روی توالی های تنظیم کننده ژن بیان بسیاری از ژنها را تنظیم می کنند (6و5). گیرنده های استروژن به طور اولیه در سلول های رحم، واژن، پستان و مغز و به طور اختصاصی در تخمک، سلول های گرانولوزا و سلول های اپی تلیال تخمدان وجود دارند. گیرنده استروژن به2 نوع آلفا (ERα) و بتا (ERβ) تقسیم می شود. نوع آلفا در تمام بافت های پاسخ دهنده به استروژن وجود دارد؛ اما گیرنده بتا در بافت های محدودتری یافت شده است(7). تحقیقات جدید نشان می دهند که تغییرات بسیار اندک در سطح استروژن زنان می تواند توجیه کننده 70 درصد جنین های سالمی باشد که در لانه گزینی دچار مشکل می شوند (8). ژن کد کننده ERβ روی کروموزوم 14 (14q23.2) قرار دارد (9). ژنوم انسان تقریبا شامل 25 تا 40 هزار ژن می باشد که در 3/2 میلیارد نوکلئوتید DNA کد شده است. ژنوم افراد مختلف تقریبا 99/9 درصد مشابه یکدیگر می باشند؛ تفاوت در 0/1 درصد ژنوم باعث 11 میلیون نوع چندشکلی ژنی می گردد (10). پلی مورفیسم و یا تفاوت های ژنتیکی در ژن های کدکننده پروتئین ها ممکن است مسئول بعضی تفاوت های مشاهده شده در زمینه فیزیولوژیک، بیوشیمی و پاسخ به داروها باشد. ژن گیرنده استروژن دارای پلی مورفیسم های مختلفی می باشد. پلی مورفیسم rs1256049 ژن گیرنده استروژن بتا بر روی اگزون شماره 5 ژن قرار دارد و دارای سه نوع ژنوتیپ GG (هموزیگوت طبیعی)، AG (هتروزیگوت) و AA (هموزیگوت جهش یافته) می باشد (11).

بر این اساس در این تحقیق رابطه بین پلی مورفیسم rs1256049 ژن گیرنده استروژن با سقط مکرر جنین مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه مورد-شاهدی 80 زن با سابقه ی حداقل سه بار سقط مکرر پیش از هفته بیستم بارداری که به بیمارستان تخصصی الزهرا تبریز در طی سال های 92-90 جهت درمان مراجعه کرده بودند به عنوان گروه بیمار انتخاب شدند. سقط مکرر در این گروه علت مشخصی نداشته و افراد بدون مشکلات سیتوژنتیکی و آناتومی بودند و زنان با اختلالات

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

رحمی، کاریوتایپ های غیر طبیعی، عفونت ها و اختلالات ایمونولوژیکی از جامعه مورد مطالعه ما حذف گردیدند. گروه شاهد نیز شامل 80 زن بدون سابقه ی سقط مکرر و دارای حداقل دو باروری موفق می باشند. گروه شاهد به صورت همسان سازی جفتی و از میان مراجعه‌کنندگان به همان بیمارستان انتخاب شدند و از نظر سن و منطقه جغرافیایی با گروه بیمار همسان شده اند.

برای انجام آزمایش از هر فرد 10ml خون محیطی در لوله های حاوی EDTA جهت جلوگیری از انعقاد خون گرفته شد. پس از استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA از خون به روش ستونی محصول شرکت Gene All کره جنوبی DNA حاصل برای تعیین پلی مورفیسم rs1256049 ژن گیرنده استروژن واقع در اگزون 5 در دمای 20- نگهداری شد. غلظت و خلوص DNA استخراج شده از طریق روش اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه نانودراپ تعیین گردید. برای بررسی پلی مورفیسم در ژن گیرنده استروژن از روش AS-PCR استفاده شد. برای این منظور 1µl از DNA با 1µl از هر پرایمر انتخابی و 9µl Master Mix و 13µl آب مخلوط شد. توالی پرایمرها در جدول 1 آمده است.

مراحل PCR با یک مرحله دناتوراسیون در 94°C برای مدت 5 دقیقه شروع شد. سپس بوسیله 35 دور در 94 °C (1 دقیقه) و 58°C (1دقیقه) و 72°C (1دقیقه) و در مرحله پایانی در 72°C برای 5 دقیقه دنبال شد. واکنش PCR برای هر فرد بطور جداگانه 2 بار انجام گرفت. واکنش اول با پرایمر های F1 و R ؛ و واکنش دوم با پرایمر های F2 و R انجام گرفت. تفاوت پرایمر های F1 و F2 در نوکلئوتید انتهای ´3 می باشد که این نوکلئوتید متفاوت همان SNP می باشد. ناحیه ای از پرایمر که باید کاملاً با الگو مطابقت داشته باشد انتهای ´3 است. زیرا DNA پلی مراز از انتهای´3 پرایمر همانندسازی را آغاز می کند و به همین دلیل انتهای ´3 پرایمر نقش عمده ای در تکثیر صحیح توالی هدف به عهده دارد. به طور کلی حداقل سه نوکلئوتید آخر انتهای´3 بایستی کاملاً با توالی DNA الگو مکمل باشند (12). لذا اگر انتهای ´3 با DNA الگو مطابقت نداشته باشد واکنش PCR انجام نخواهد گرفت. محصولات PCR سپس بوسیله الکتروفورز روی ژل آگارز 1% جدا و بوسیله رنگ آمیزی بروميد اتیدیوم شناسایی شدند. اگر واکنش PCR برای هر فرد در دو آزمایش با پرایمر های F1 و F2 انجام می شد فرد هتروزیگوت بود و اگر تنها در یکی از دو آزمایش واکنش PCR انجام می شد فرد هموزیگوت بود. بنابراین احتمال 3 نوع ژنوتیپ GG، GA و AA وجود داشت. بعد از بررسی تک تک افراد از نظر هتروزیگوتی و هموزیگوتی، داده ها با استفاده از نرم افزار آنالیز آماری SPSS ver.18 بررسی شدند تا وجود یا عدم وجود رابطه بین چند شکلی ژن گیرنده استروژن با سقط مکرر جنین مورد بررسی قرار گیرد. فراوانی سه حالت نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت در دو گروه بیمار و شاهد برای این پلی مورفیسم با استفاده از آزمون χ^2 مورد بررسی قرار گرفت و نتایج بدست آمده با سطح معنی داری کمتر از 0/05 مقایسه شد.

جدول1. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت شناسایی پلیمورفیسم 1082G/A ژن گیرنده استروژن

پلیمورفیسم	توالی پرایمر	اندازه محصول PCR (bp)
ESR2-1082G/A	F1- 5´-TCAGCCTGTTCGACCAAGTG-3´ F2- 5´-TCAGCCTGTTCGACCAAGTA-3´ R- 5´-TGACCCAGTGAAGGAGCTG-3´	232

ESR2: ژن گیرنده استروژن نوع بتا F_1: پرایمر پیشرونده وحشی F_2: پرایمر پیشرونده جهش یافته R: پرایمر معکوس مشترک

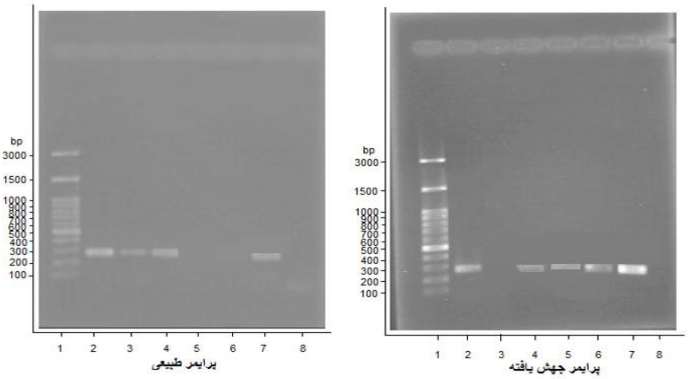
Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

نتایج

در مطالعه حاضر ما تاثیر پلی مورفیسم rs1256049 ژن گیرنده استروژن را با سقط مکرر در 80 زن با سابقه ی حداقل سه بار سقط مکرر و 80 زن بدون سابقه ی سقط مکرر و حداقل با دو بارداری موفق مورد بررسی قرار دادیم. در شکل1 نمونه ای از نتایج PCR نشان داده شده است. در این شکل ستون دوم چهارم و هفتم افراد با ژنوتیپ هتروزیگوت را نشان می دهند که با هر دو نوع پرایمر طبیعی و جهش یافته واکنش PCR انجام داده‌اند. ستون سوم یک فرد هموزیگوت طبیعی یا نرمال را نشان می دهد که فقط با پرایمر طبیعی واکنش PCR انجام داده است و ستون پنجم و ششم افراد هموزیگوت جهش یافته را نشان می دهند که تنها به پرایمرجهش یافته پاسخ داده‌اند.

فراوانی الل و ژنوتیپ پلی مورفیسم rs1256049 برای افراد کنترل و نمونه در جدول 2 آمده است. فراوانی ژنوتیپ های GG ، GA و AA برای افراد نمونه به ترتیب 37/5 % ، 50 % و 12/5 % و برای افراد کنترل به ترتیب 20 % ، 70 % و 10 % بود. ژنوتیپ پلیمورفیسم rs1256049 در اگزون 5 ژن گیرنده استروژن در دو گروه کنترل و نمونه متفاوت بود. با توجه به انجام آزمون χ^2 و P=0/028 بین سقط مکرر و این پلیمورفیسم در جمعیت مورد مطالعه رابطه آماری معنی داری وجود داشت.

پراکنش ژنوتیپ و الل ها در افراد کنترل و نمونه با تعادل هاردی واینبرگ بررسی شد(جدول3). ستون اول مربوط به فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده در هر گروه می باشد. ستون دوم فراوانی الل های مربوطه را نشان می دهد و ستون سوم نیز مربوط به فراوانی ژنوتیپ های مورد انتظار تحت تعادل هاردی واینبرگ در هر گروه می باشد. همانطور که مشاهده می شود فراوانی ژنوتیپ های مشاهده شده با ژنوتیپ های قابل انتظار در تعادل هاردی واینبرگ در نمونه های بیمار ژن گیرنده استروژن بتا انحراف از تعادل هاردی واینبرگ را نشان می دهند (P=0/03).



شکل 1. مقایسه الکتروفورز محصول PCR برای جفت پرایمرطبیعی و جهش‌یافته ژن گیرنده استروژن . 1: شاخص وزن مولکولی (DNA (100 bp، ۲،۴و7: هتروزیگوت، 3: هموزیگوت طبیعی، 5و6: هموزیگوت‌جهش‌یافته، 8:کنترل منفی

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

جدول2. بررسی ژنوتیپ های rs1256049 با سقط مکرر

		ژنوتیپ			X2 statistic	Df	P
		AA	GA	GG			
ژن گیرنده استروژن نوع بتا(ESR2)	بیمار	8(0/1)	56(0/7)	16(0/2)	7/15	2	0/028
	کنترل	10(0/125)	40(0/5)	30(0/375)			

جدول 3. بررسی تعادل هاردی واینبرگ ژن گیرنده استروژن بتا برای دو گروه کنترل و بیمار

	تعداد ژنوتیپ های مشاهده شده				الل های مشاهده شده		تعداد ژنوتیپ های قابل انتظار در تعادل هاردی واینبرگ				
	GG	GA	AA		G	A	GG	GA	AA	X2 statistic	p
بیمار	16	56	8	80	88	72	24/2	40	16/2	13/27	0/03
کنترل	30	40	10	80	100	60	31/25	37/5	11/25	0/34	0/9
کل	46	96	18	80	188	132	55/45	77/5	27/45	9/27	0/09

بحث

ما در این مطالعه رابطه ی بین چندشکلی 1082G/A ژن گیرنده استروژن را با سقط مکرر توسط روش AS-PCR بررسی کردیم که رابطه آماری معنی داری یافت شد (P=0/028). استروژن نقش اساسی را در تشکیل و تکامل فولیکول و همچنین نگهداری بارداری در ماه های اول ایفا می کند. طبق مطالعات انجام شده موش های ماده فاقد ESR1(α) نا بارور می باشند و در آن ها جسم زرد تشکیل نمی شود و سطح گنادوتروپین تغییر می کند (13). موش های ماده فاقد ESR2(β) نیز دارای فنوتیپ نا بارور با کاهش تعداد تخمک ها می باشد که ممکن است به دلیل کاهش پاسخ تخمدان به گنادوتروپین ها باشد (13). در این مطالعه ارتباط بین موتاسیون rs1256049(G/A) در ژن گیرنده استروژن بتا با سندرم سقط مکرر خود به خودی مورد بررسی قرار گرفت. Pineda و همکاران (14) در سال 2008 دو SNP در ESRβ در اینترون های 2 و 8 و چهار پلی مورفیسم در ESRα در اینترون های 1، 4 و 8 را مورد بررسی قرار دادند. در این مطالعه از 177 بیمار با تجربه یکبار سقط و 442 زن به عنوان شاهد استفاده گردید. بین دو پلی مورفیسم rs2234693(C>T, defined by restriction enzyme *Pvu*II) و rs9340799(A>G, defined by restriction enzyme *Xba*I) در اینترون 1 ژن ESRα با سقط مکرر رابطه ی آماری معنی داری یافت شد اما دو SNP ژن ESRβ با سقط مکرر جنین رابطه ی نداشتند. جهت بررسی SNP از روش RFLP استفاده شده بود. مطالعه دیگری توسط Courtney Hanna و همکاران (15) در سال 2010 انجام گرفت. در این تحقیق 35 پلی مورفیسم از 20 ژن مختلف از جمله rs1256049 و CA repeat در ژن گیرنده استروژن نوع بتا با روش Sequenom iplex مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه از 227 بیمار با سابقه ی بیش از دو بار سقط و 130 فرد در گروه شاهد استفاده گردید. در این مطالعه CA repeat ژن گیرنده استروژن نوع بتا به عنوان یک ژن کاندید موثر در سقط مکرر معرفی گردید (P=0/026) یک بررسی هم توسط Jingling HU (16) و همکاران در سال 2012 در جمعیت چین انجام گرفته است که در آن دو پلی مورفیسم

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

(rs1256049 و rs4986938) توسط روش RFLP با 196 بیمار با سابقه ی دو بار سقط جنین و 182 زن با عنوان کنترل مورد بررسی قرار گرفته اند. تفاوت آماری معنی داری بین این دو پلی مورفیسم با سقط مکرر یافت نشد.

نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که موتاسیون rs1256049 می تواند در سقط مکرر زنان استان آذربایجان شرقی موثر باشد. یک توضیح برای تناقض مشاهده شده بین مطالعات انجام شده برروی پلی‌مورفیسم ژن گیرنده استروژن در کشورهای مختلف می‌تواند وجود توزیع جغرافیایی و نژادی مختلف این پلی‌مورفیسم باشد. همچنین در هر یک از این مطالعات معیارهای مختلفی در انتخاب گروه زنان بیمار وجود دارد که این امر می تواند منجر به نتایج ضد و نقیض در بررسی های مختلف گردد. مزیتی که این مطالعه نسبت به دیگر بررسی های انجام شده دارد این است که نمونه های بیمار با دقت و حساسیت بالایی انتخاب شده اند. این افراد دارای حداقل سه بار سقط مکرر می باشند و از نظر آزمایشات سیتوژنتیکی و آناتومی کاملا نرمال بوده و هیچ مشکل بالینی ندارند و هر فردی که دارای علت احتمالی برای سقط مکرر بود از جامعه آماری ما حذف گردید. لذا در این افراد که هیچگونه دلیل سیتوژنتیکی و آناتومی در آزمایشات آنها مشاهده نشده فرضیه تاثیر پلی مورفیسم های ژنتیکی را بر این روند قوت می بخشد اما باید دقت داشت که جهت ارتباط یک بیماری با یک عامل ژنتیکی به انجام مطالعات زیاد در جمعیت های مختلف نیاز است و نمی توان به راحتی ژنتیکی بودن یک فنوتیپ خاص را با انجام چند مطالعه محدود در جمعیت های خاص نتیجه گرفت.

چرخه تولید مثل زنان شامل تمایز جنسی، سیکل قاعدگی و مراحل اولیه بارداری توسط سیستم هیپوتالاموس- هیپوفیز- تخمدان[1] کنترل می‌شود. این حلقه فیدبک با آزاد شدن هورمون گنادوتروپین از هیپوتالاموس شروع می‌شود. این هورمون سبب آزاد شدن LH و FSH از غده هیپوفیز می‌شود. LH و FSH نیز سبب کنترل ترشح دو هورمون استروژن و پروژسترون از تخمدان می‌شود (17). هرگونه تغییر در سطح این هورمون ها و دیگر عواملی که روی این سیستم HPO تاثیر می‌گذارند می‌تواند اثر منفی روی باروری و بارداری داشته باشد. مطالعات نشان داده است که تغییر در سطح گنادوتروپین و استرادیول با سقط مکرر در ارتباط است (19و18). بنابراین ما فرض کردیم که پلی‌مورفیسم ژنتیکی در ژن‌هایی که سبب تنظیم سیستم HPO می‌شوند می‌توانند با سقط مکرر در ارتباط باشد.

استروژن نقش کلیدی در فعالیت تخمدان و عملکرد سلول های گرانولوزا ایفا می‌کند. استروژن همچنین نقش بسیار مهمی در رشد و نمو جنین، تکامل و بلوغ فولیکول ها، چرخه تولید مثل و نگهداری بارداری دارد. علاوه براین استروژن دارای یک نقش تنظیمی و نظارتی در رشد و تمایز سلول های آندومتر است (20). این تاثیرات به برهمکنش استروژن با گیرنده‌اش وابسته است. پلی‌مورفیسم در گیرنده استروژن می‌تواند باعث اختلال در عملکرد استروژن گردد. این عمل ممکن است روی تکامل یا رشد فولیکول‌ها و در نتیجه باعث کاهش اندازه فولیکول‌ها گردد. این اختلال به شدت پلی‌مورفیسم وابسته است. طی مطالعه‌ای نشان داده شده که افراد هموزیگوت بیمار دارای اندازه فولیکول کوچک‌تری نسبت به افرادی که پلی‌مورفیسم ندارند هستند (21).

اهمیت عملکردی پلی‌مورفیسم 1082 G/A هنوز به طور کامل شناخته نشده است. اگرچه که این پلی‌مورفیسم در ژن ERβ منجر به تغییر اسیدآمینه ای در پروتئین ERβ نمی‌شود اما ممکن است که این پلی‌مورفیسم در عدم تعادل ارتباط[2] با دیگر تغییرات توالی تنظیمی که ممکن است بیان ژن را تحت تاثیر قرار دهند باشد (22). علاوه بر این در مطالعات اخیر نشان داده شده ژن‌هایی که دارای SNP

[1] hypothalamus-pituitary-ovarian(HPO)

[2] Linkage disequilibrium

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

هستند می‌توانند باعث تفاوت در ساختار تاخوردگی[3] mRNA شوند. این mRNA های تغییر یافته ممکن است دارای عملکرد متفاوتی باشند که باعث تداخل در دیگر اجزای سلولی می‌شوند. تغییر در تاخوردگی mRNA باعث تاثیر روی فرایند splicing، پردازش و تنظیم رونویسی می‌شود (23).

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که موتاسیون rs1256049 می تواند در سقط مکرر زنان در جمعیت مورد مطالعه موثر باشد و به عنوان یک ژن کاندید موثر در سقط مکرر در این جمعیت معرفی گردد. جهت تایید رابطه ی پلی مورفیسم یک ژن با یک بیماری خاص لازم است که آن ژن در جمعیت ها و مناطق جغرافیایی مختلف مورد بررسی قرارگیرد. لذا پیشنهاد می‌شود که در مطالعات آتی این پلی مورفیسم در دیگر جمعیت ها نیز مورد بررسی قرار گیرد تا بتوان با اطمینان بیشتری این رابطه را تایید کرد.

در پایان در صورتیکه بتوان با انجام مطالعات تکمیلی و تعیین پلی‌مورفیسم های مختلف ژن گیرنده استروژن بتا و تایید رابطه آن ها با سقط مکرر، می‌توان مراکزی را جهت انجام تست های ژنتیکی در کشور راه اندازی نمود و با روش های ژن درمانی به درمان این بیماری که برای بسیاری از زوجین به یک مشکل اساسی تبدیل شده است پرداخت. همچنین انجام این پژوهش ها می‌تواند در اغنای افکار مدیران بیمه های درمانی برای تحت پوشش قرار دادن بیماران مبتلا به سقط مکرر مفید باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می دانند از زحمات فراوان پرسنل محترم مرکز خونگیری بیمارستان طالقانی تبریز و آزمایشگاه تحقیقاتی دانشگاه بقیه الله تهران به ویژه کارشناس آزمایشگاه خانم احمدی و همچنین بیماران محترمی که داوطلبانه ما را در این زمینه یاری نمودند کمال تشکر را به عمل آورند.

[3] Folding

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018

Reference

1. Aruna M, Reddy BM. Recurrent spontaneous abortions. An overview of the genetic and non-genetic backgrounds. Int J Hum Genet 2006; 6: 109-117.
2. Sierra S, Stephenson M. Genetics of recurrent pregnancy loss. Semin Reprod Med 2006; 24: 17-24.
3. Meldrum DR. Female reproductive aging ovarian and uterine factors. Fertil Sterli 1993; 59: 1-5.
4. Rebar RW. Premature ovarian failure. In: Lobe RA, Kelsey R, Marcus R, editor. In Biology and pathology. Academic Press. San Diego 2000; 255.
5. Kovas P, Matyas SZ, Boda K, Kaal SG. The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. Hum Reprod 2003; 18(11): 2337-41.
6. Duffy DM, Chaffin CL, Stouffeo RL. Expression of estrogen receptor alpha & beta in the rhesus monkey corpus luteum during the menstrual cycle: regulation by luteinizing hormone & progesterone. Endocrinol 2000; 141; 1711-17.
7. Chaffine CL. Estrogen receptor a and b polymorphism: Is there any an association with bone mineral density, plasma lipids & response to postmenopausal hormone therapy? Menopause 2006; 13: 451-61.
8. Ma WG, Song H, Das SK, Paria BC, Dey SK. Estrogen is a critical determinant that specifies the duration of the window of uterine receptivity for implantation. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100: 2963-2968.
9. Enmark E, Pelto-Hukko M, Grandien K, Lagercrantz S, Lagercrantz J, et al. Human estrogen receptor b-gene structure, chromosomal localization, and expression pattern. Clinical Endocrinology and Metabolism 1997; 82: 4258-65.
10. Couse JF, Korach KS. Estrogen receptor null mice: what have we learned and where will they lead us? Endocrine 1999; 20: 358-417.
11. Stephanie L, Huang Y, Brian R, Anna M, Huang M, Cox C, et al. Do estrogen receptor β polymorphisms play a role in the pharmacogenetics of estrogen signaling?. Curr Pharmacogenomics Person Med 2008; 6: 239–259.
12. Birdsell N, Pearson T, Price P, Hornstra M, Nera D, Stone N, et al. Melt analysis of mismatch amplification mutation assays (Melt-MAMA): A functional study of a cost-effective SNP genotyping assay in bacterial models. PloS One 2012; 7: e32866.
13. Emmen JM, Korach KS. Estrogen receptor knockout mice: phenotypes in the female reproductive tract. Gynecol Endocrinol 2003; 17: 169–176.
14. Pineda B, Hermenegildo C, Tarín J, Laporta P, Cano A, García-Pérez M. Alleles and haplotypes of the estrogen receptor alpha gene are associated with an increased risk of spontaneous abortion. Fertility and Sterility 2010; 1809–1815.
15. Courtney H, Karla B, Liu C, Mary S, Wendy R. Genetic variation within the hypothalamus-pituitary-ovarian axis in women with recurrent miscarriage. Human Reproduction 2010; 25: 2664–2671.
16. Hu J, Wang J, Xiang H, Li Z, Wang B, Cao Y, et al. Association of polymorphisms in the estrogen receptor β (ESR2) with unexplained recurrent spontaneous abortion (URSA) in Chinese population. J Matern Fetal Neonatal Med 2012; 25: 1727-9.
17. Djahanbakhch O, Ezzati M, Zosmer A. Reproductive ageing in women. J Pathol 2007; 211: 219–231.
18. Gurbuz B, Yalti S, Ozden S, Ficicioglu C. High basal estrodiol level and FSH/LH ratio in unexplained recurrent pregnancy loss. Arch Gynecol Obstet 2004; 270: 37–39.

19. Li TC, Spuijbroek MD, Tuckerman E, Anstie B, Loxley M, Laird S. Endocrinological and endometrial factors in recurrent miscarriage. BJOG 2000; 107: 1471–1479.
20. Saunders PT. Does estrogen receptor beta play a significant role in human reproduction? Trends Endocrinol Metab 2005; 16: 222-7.
21. Albrecht ED, Aberdeen GW, Pepe G. The role of estrogen in the maintenance of primate pregnancy. Am J Obstet Gynecol 2000; 182: 432–438.
22. Critchley HO, Brenner RM, Henderson TA, Williams K, Nayak NR, Slayden OD, et al. Estrogen receptor beta, but not estrogen receptor alpha, is present in the vascular endothelium of the human and nonhuman primate endometrium. J Clin Endocrinol Metab 2001; 86: 1370-8.
23. Shen L, Basilion J, Stanton VP J. Single-nucleotide polymorphisms can cause different structural folds of mRNA. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 7871–7876.

Downloaded from sjku.muk.ac.ir at 23:31 +0330 on Tuesday January 23rd 2018