مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره هشتم، شماره سی ام - بهار۱۳۹۷

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن‌های دستگاه (DROSHA & EXPORTIN5) miRNA و سقط مکرر خودبه‌خودی در شهر تهران

سید امین اشکان [۱]، دکتر سعید ذاکر بستان آباد*[۱]، دکتر سینا میرزا احمدی [۲]

۱ - گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران
۲ - گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی،واحد زنجان،زنجان، ایران

چکیده

سابقه و هدف: شایع‌ترین عارضه در سه ماهه اول و دوم حاملگی سقط جنین است. هدف ازاین تحقیق بررسی ارتباط میان پلی-مورفیسم، XPO5 rs11077 & DROSHA rs10719 ماشین‌های ساخت miRNA در زنان مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی می-باشد. تا در صورت اثبات ارتباط، از آن به‌عنوان نشانگر تشخیصی در خانم‌هایی که دارای سقط مکرر می‌باشند، استفاده شود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه، از نمونه خون ۵۰ زن مبتلا به سقط مکرر خودبه‌خودی و هم‌چنین ۲۴ زن بدون سابقه سقط و دارای حداقل دو باروری موفق که به آزمایشگاه مسعود تهران مراجعه کرده بودند، استفاده شد. DNA با استفاده از کیت مخصوص از نمونه های خون محیطی دارای EDTA استخراج شد. پلی‌مورفیسم دو ژن XPO5 rs11077 و DROSHA rs10719 با روش Tetra-ARMS PCR بررسی و به‌وسیله الکتروفورز ژل آگارز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: فراوانی‌های ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم rs11077(A/C) از ژن XPO5 هیچ رابطه معنی‌داری را بین دو گروه بیمار و کنترل نشان نداد. در مقابل فراوانی ژنوتیپی و آللی در پلی‌مورفیسم rs10719(T/C) از ژن DROSHA رابطه معنی‌داری را بین بیماران و نمونه‌های کنترل نشان دادند و ژنوتیپ TT به‌طور معنی‌داری در گروه بیمار بالاتر از گروه کنترل بود.

بحث: بررسی‌های ما پیشنهاد می‌کند که پلی‌مورفیسم rs10719(T/C) از ژن DROSHA ممکن است با استعداد ابتلا با RPL در جمعیت ایرانی مرتبط باشد و آلل T ممکن است در افزایش بروز بیماری نقش داشته باشد.

نتیجه‌گیری: می‌توان گفت بررسی پلی‌مورفیسم‌های دستگاه ساخت میکرو RNA به‌تنهایی ثابت کرد در ژن DROSHA rs10719 ارتباطی با سقط وجود دارد که نیاز به بررسی هم‌زمان با ژن‌های دیگر دخیل در سقط نیز دارد تا نتایج این تحقیق به‌صورت کامل کاربردی در تشخیص علل ژنتیکی مورد استفاده قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی : سقط مکرر خودبه‌خودی ، DROSHA، XPO5، پلی‌مورفیسمrs11077 ، rs10719.

مقدمه

منظور از سقط، دفع محصول‌های حاملگی قبل از هفته بیستم حاملگی است (۷). لازم به ذکر است که گرچه رخداد سقط خود می‌تواند یک پدیده مفید در جلوگیری از تولد نوزادان ناهنجار و مشکل‌های دیگر بوده و بالقوه مفید باشد، اما اگر بیش از ۲ یا ۳ بار متوالی تکرار گردد جنبه پاتولوژیک پیدا نموده و تحت عنوان سقط مکرر[۱] (RPL) نامیده می‌شود و نیازمند بررسی و درمان مناسب خواهد بود. سقط مکرر یکی از مشکل‌های عمده بیماران است و حدود ۱-۳ درصد از زنان حامله را به خود اختصاص می‌دهد (۱۳).

نویسنده مسئول :
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد پرند، پرند، ایران
پست الکترونیکی: saeedzaker@piau.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۲/۶

[1] Recurrent Pregnancy Loss

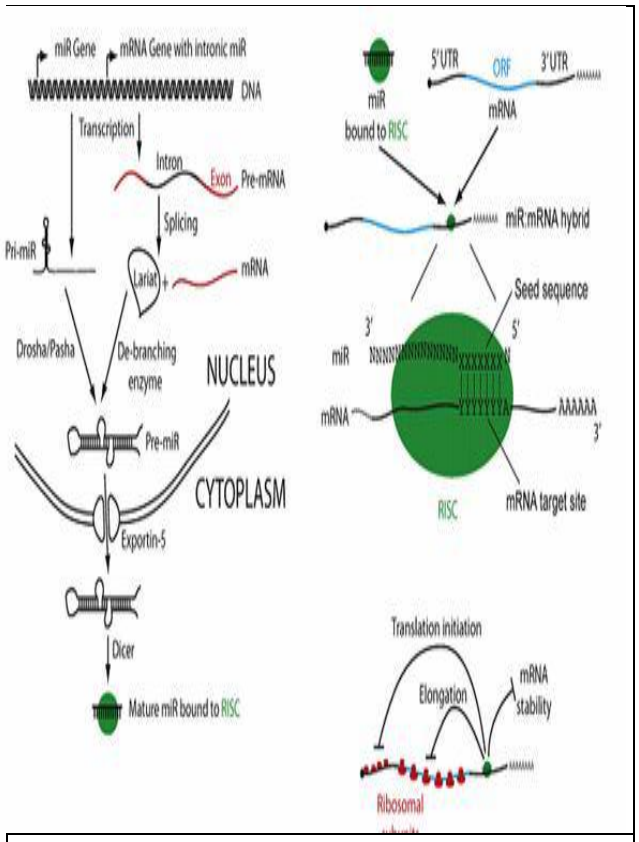
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

در مورد علل سقط مکرر باید گفت که حالت غیرطبیعی کروموزومی والدین تنها علت غیر قابل بحث سقط مکرر است. چنین حالت‌های غیر طبیعی کروموزومی در ۵ ٪ زوج هایی که دچار سقط مکرر می‌شوند، حادث می‌شود. از سایر علل می‌توان به اختلال‌های کروموزومی و ژنتیکی، اختلال‌های رحمی، فاکتورهای اندوکرینی، بیماری‌های اتوایمیون و اختلال‌های آلوایمیون، ترومبوفیلی و سایر عوامل دیگر اشاره کرد. البته بعد از ارزیابی واقعی در ۶۰ ٪ موارد، سقط مکرر غیر قابل توجیه باقی می‌ماند (۱۴-۱۰).

microRNAها مولکول‌هایی تنظیمی با طول ۲۵-۱۹ نوکلئوتید و محصول shRNA یا Pre-miR هستند. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که microRNAها در پدیده‌های زیستی نقش حیاتی دارند (۱).

microRNAها بیش‌تر توسط RNApol II رونویسی می‌شوند که این محصول niRNA یا Pri-miR نامیده می‌شود و ساختاری سنجاق سری داشته و دم پلی A در انتهای ′۳ آن و کلاهک را در ′۵ دارد، و سپس به‌وسیله کمپلکس DGCR8-DROSHA به pri-miR تبدیل می‌شود. pre-miRها از طریق پروتئین exportin5 از هسته به ماتریکس سیتوزولی منتقل می‌گردند و با شکسته شدن از طریق اندوریبونوکلئاز DICER به microRNA بالغ دو رشته‌ای تبدیل می‌شوند. در مرحله بعدی این دو رشته از هم باز شده و رشته راهنما یا microRNA بالغ به پروتئین آرگونات در کمپلکس RISC متصل می‌شود. ژن اکثر microRNAها در نواحی بین ژنی[2] هستند ولی بعضی هم داخل اینترون ژن‌های شناخته شده‌اند (۱۱).

پردازش microRNA شامل دو مرحله است یک مرحله داخل هسته توسط RNAase III (Drosha) که در نتیجه عمل این PrimiR به PremiR تبدیل می‌شود و مرحله دوم پردازش داخل سیتوپلاسم در نتیجه عملکرد RNAase III (Dicer) انجام می‌شود که microRNA دو رشته‌ای ۲۱-۲۴ نوکلئوتیدی تولید می‌شود. microRNA تک رشته‌ای سپس در کمپلکس miRISCs قرار می‌گیرد. که انتخاب تک رشته بر اساس خواص ترمودینامیکی است. این microRNA بالغ از طریق جفت شدن نسبی با mRNA های هدف (به‌طور معمول جفت شدن با ناحیه ′3 UTR انجام می‌شود) باعث تجزیه یا مهار ترجمه می‌شود، (شکل شماره ۱) (۱۱). توالی بنیادی این microRNA در عملکرد کمپلکس RISC نقش مهمی دارد به‌صورتی‌که اگر تغییرهای شیمیایی در این نوکلئوتیدها اعمال شود یا اگر خود توالی عوض شود تأثیر کمپلکس RISC بر mRNA کاهش می‌یابد(۱۶).



شکل ۱ : مسیر سنتز **microRNA** و عملکرد مهاری **microRNA** (۱۱)

محصول عمل آنزیم Dicer در اصل microRNA دو رشته‌ای بوده که یکی از دو رشته به‌دلیل قانون عدم تقارن ترمودینامیکی به‌عنوان microRNA بالغ است. این تک رشته بالغ در یک کمپلکس که شباهت زیادی با RISC دارد، به نام miRNP یا miRISC قرار می‌گیرد،(۱۸). در مواردی که جفت شدن microRNA با هدف خود کامل یا به‌نسبت کامل باشد برش mRNA هدف در ناحیه‌ای که با نوکلئوتیدهای ۱۰ و ۱۱ microRNA یا siRNA جفت شده است انجام می‌گیرد (۸). آرگونات در این برش نقش اساسی دارد و یکی از پروتئین‌های اساسی کمپلکس miRNPs و RISC است. در اکثر موارد microRNA باعث توقف ترجمه می‌شود و جفت شدن microRNA و mRNA هدف به‌صورت ناقص است. که این کمپلکس mRNA:miRNP در سیتوپلاسم اجسام پردازشی

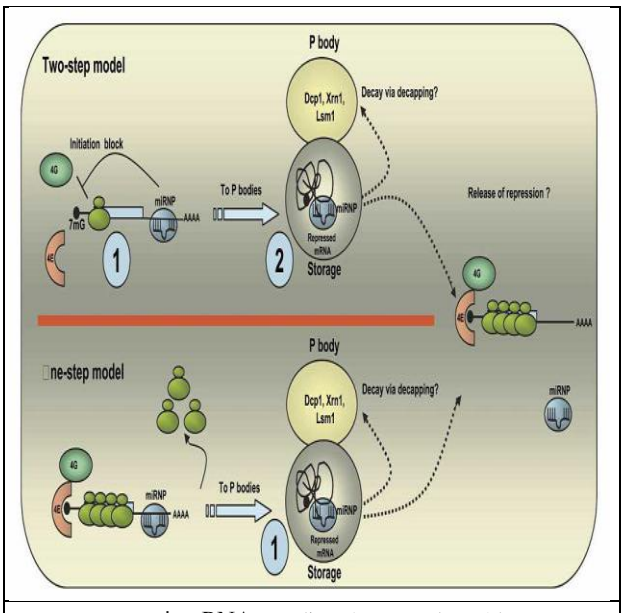
[2] intergenic

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

تجمع دارند. اجسام پردازشی علاوه‌بر کمپلکس mRNA:miRNP حاوی آنزیم‌های decapping و اگزونوکلئازها و سایر پروتئین‌ها است (۵). نشان داده شده بعد از انتقال به اجسام پردازشی، این mRNA ها می‌توانند تجزیه هم شوند که البته محل برش mRNA در این حالت متفاوت از برش جفت شدن کامل است (۱۵).

مطابق شکل شماره ۲ برای عملکرد microRNA دو مدل پیشنهاد شده است. در مدل دو مرحله‌ای که بیش‌تر مورد قبول دانشمندان است با اتصال microRNA به ناحیه 3′ UTR در mRNA هدف کمپلکس miRNP شروع ترجمه را با ممانعت از عملکرد انتهای ۵′ در فراخوانی eIF4E مهار می‌کند و سپس کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی هدایت می‌شوند. تصور بر این است که محل ذخیره سازی mRNA مهار شده از مکان آنزیم Dcp1(decapping) و Xrn1 (اگزونوکلئازی) که اجزای مرکزی اجسام پردازشی هستند مجزا است. (شکل شماره۲) احتمال بر این هست که قسمتی از mRNA ذخیره شده تجزیه شود یا این‌که از اجسام پردازشی بیرون آمده ترجمه را از سر گیرند (۱۵).

مدل یک مرحله‌ای حاکی از آن است که اتصال miRNP به mRNA هدف عامل هدایت این کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی است. پلی‌زوم موجود روی mRNA قبل از ورود به اجسام پردازشی متلاشی می‌شود و پلی‌پپتید سنتز شده هم تجزیه می‌شود mRNA سپس داخل اجسام پردازشی یا تجزیه می‌شود یا توقف ترجمه رخ داده و ذخیره می‌شود (شکل شماره ۲)(۱۷-۲).



شکل شماره ۲ : مدل عملکردی microRNA(۱۵)

با اتصال microRNA به ناحیه 3′ UTR در mRNA هدف کمپلکس miRNP شروع ترجمه را با ممانعت از عملکرد انتهای ۵′ در فراخوانی eIF4E مهار می‌کند و سپس ۲ کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی هدایت می‌شوند. احتمال بر این هست که قسمتی از mRNA ذخیره شده تجزیه شود یا این که از اجسام پردازشی بیرون آمده، ترجمه را از سر گیرند.

در قسمت پایین شکل مدل یک مرحله‌ای نشان داده شده که اتصال miRNP به mRNA هدف عامل هدایت این کمپلکس mRNA:miRNP به سمت اجسام پردازشی است و توقف ترجمه با انتقال به اجسام پردازشی هم‌زمان صورت می‌گیرد (۵).

با توجه به ضرورت بررسی نقش سقط جنین و تأثیر مهمی که در خانواده دارد برآن شدیم با بررسی یکی از علت‌های ناشناخته آن در جامعه زنان تهران، قدمی کوچک در شناخت علت‌های سقط جنین خودبه‌خودی برداشته باشیم.

روش کار

مطالعه حاضر از نوع موردی-شاهدی[۳] می‌باشد. در این مطالعه از نمونه خون، ۵۰ زن مبتلا به سندرم سقط مکرر خودبه‌خودی (داشتن سابقه حداقل ۲ یا بیش‌تر) که به مرکز آزمایشگاه مسعود تهران مراجعه کرده بودند، استفاده شد. معیار خروج از مطالعه وجود ناهنجاری‌های آناتومیک، اختلال‌های رحمی و بیماری‌های عفونی می‌باشد. هم‌چنین، از نمونه خون، ۲۴ خانم بدون سابقه سقط و دارای حداقل ۲ باروری موفق (به‌منظور حذف موارد سقط مکرر ثانویه) از میان زنان تهرانی به‌عنوان گروه شاهد، استفاده شد.

از هر فرد ۵ سی‌سی خون گرفته شد و برای جلوگیری از انعقاد خون، خون در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA نگهداری شد.

استخراج DNA توسط کیت مخصوص این کار که از شرکت سیناژن تهیه شد به نام cinna pure DNA kit انجام شد.

بعد از طراحی پرایمرهای چهارگانه به‌روش تترا پرایمر آرمز با سفارش از شرکت ژن فن‌آوران خریداری شد که به‌صورت جداگانه برای دو پلی‌مورفیسم rs10719 و rs11077 هر کدام

[4] - Case-control

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

۴ پرایمر : Reverse inner , Forward inner , Reverse outer , Forward outer تهیه شد.

توالی پرایمرهای rs11077

DNA Oligo Name : 11077 if
5´-AGT ACC TCC AAG GAC CAG GGC TGA GA-3´

DNA Oligo Name: 11077ir
5´-CTC TAA AGG GGA TGT TAG CAC TAA AGA TTG-3´

DNA Oligo Name : 11077of
5´-CAA CTA CTT GTG CCA GAG TTT CTC TTG G-3´

DNA Oligo Name : 11077 or
5´-TGG TCT GTA TTA TCC TTG GAT GAC AAC G-3´

و توالی پرایمرهای rs10719

DNA Oligo Name : 10719if
5´-TAG CCT AGT TTT CCT GCA GAC AAT GCA T-3´

DNA Oligo Name : 10719ir
5´-TCT GTA TTT TAT TTC AAT GAG CAC ACT GCG-3´

DNA Oligo Name : 10719of
5´-CTT GTG TCA GAT AAT TTT CCC CAG ATG G-3´

DNA Oligo Name : 10719or
5´-GGA AGT AAT GCA CAT TCA CCA AAG TCA AG-3´

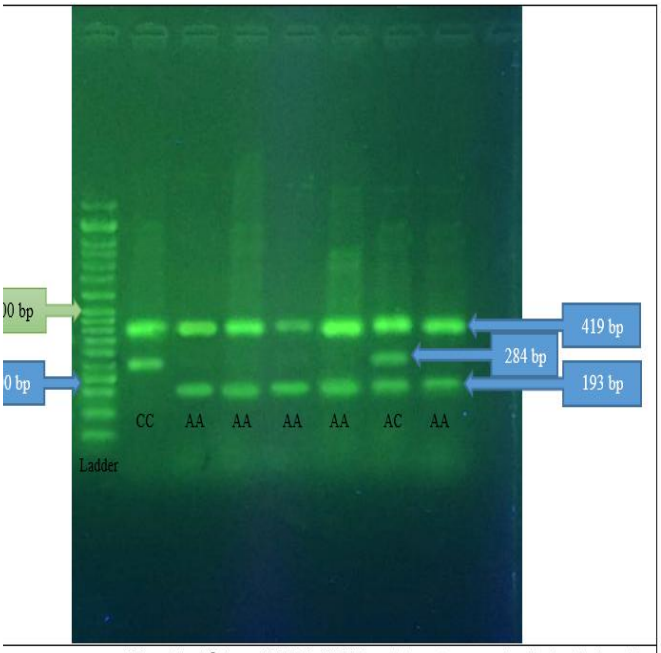
انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) به روش تترا آرمز برای هر پلی‌مورفیسم از ژن‌های DROSHA rs10719 و XPO5 rs11077 در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل: ۱۲/۵ میکرولیتر Master Mix، ۱میکرولیتر از هر Primer ۲، میکرولیتر از هر نمونه DNA استخراج شده، ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر دیونیزه شده، و در نهایت از ۳ میکرولیتر روغن برای جلوگیری از تبخیر و کم‌شدن حجم مایع استفاده شد.

بعد از اتمام واکنش PCR محصول واکنش را روی ژل آگارز ۱/۵٪ برده و با استفاده از دستگاه ژل داک باندها مشاهده شد.

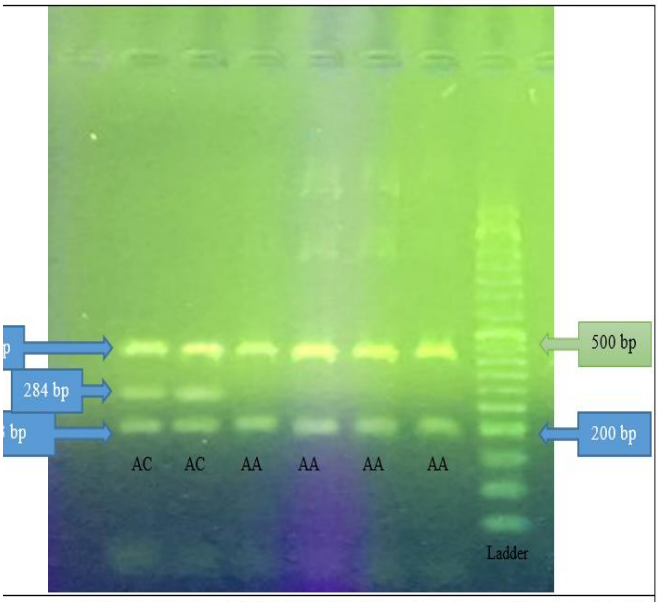
اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم افزار SPSS 15.0 بررسی شد. چگونگی وقوع این پلی‌مورفیسم به سه حال نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت در دو گروه بیمار و شاهد با استفاده از آزمونChi-squre بررسی شد. نتایج با p-value < ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی گردیدند.

یافته‌ها:

براساس یافته‌های این پژوهش داده‌ها در نرم افزار spss مورد بررسی قرار گرفت و نتایج آزمون‌های مربع کای[۴] به شرح زیر بود.



شکل شماره ۳: نتایج الکتروفورز نمونه های بیمار از ژن (rs11077) XPO5 روی ژل آگارز با لدر 50 bp



شکل شماره ۴ : نتایج الکتروفورز چند نمونه سالم از ژن (rs11077) XPO5 روی ژل آگارز با لدر 50bp

[5] Chi-Square

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

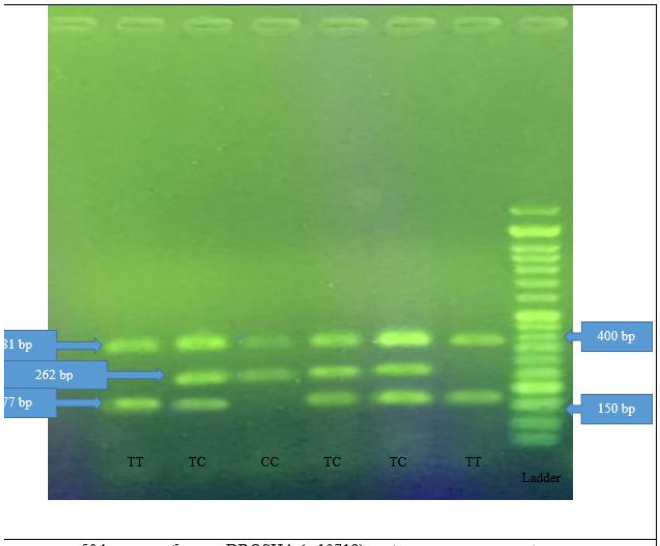
[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

Chi-Square Tests

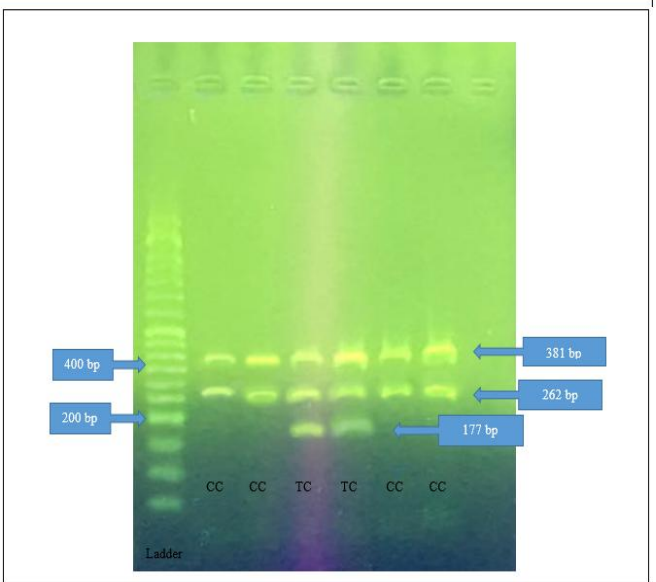
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	2.292[a]	2	.318
Likelihood Ratio	2.528	2	.283
N of Valid Cases	74		

a. 1 cells (16.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 2.59.

جدول۱: مربع کای ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های XPO5



شکل شماره ۵ : نتایج الکتروفورز چند نمونه بیمار از ژن DROSHA (rs10719) روی ژل آگارز با لدر 50 bp



شکل شماره ۶ : نتایج الکتروفورز چند نمونه سالم از ژن DROSHA (rs10719) روی ژل آگارز با لدر 50bp

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.122[b]	1	.727		
Continuity Correction[a]	.025	1	.874		
Likelihood Ratio	.122	1	.727		
Fisher's Exact Test				.850	.440
N of Valid Cases	148				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 14.92.

جدول۲: مربع کای برای آلل‌های XPO5

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	6.521[a]	2	.038
Likelihood Ratio	7.768	2	.021
N of Valid Cases	74		

a. 1 cells (16.7%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 4.86.

جدول۳: مربع کای برای ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های DROSHA

با توجه به نتایج مشاهده شده الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ ٪ ژنوتیپ هر فرد برای هر پلی‌مورفیسم مشخص شد.

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	8.369[b]	1	.004		
Continuity Correction[a]	7.338	1	.007		
Likelihood Ratio	8.900	1	.003		
Fisher's Exact Test				.005	.003
N of Valid Cases	148				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 16.86.

جدول۴: مربع کای برای آلل‌های DROSHA

پس از تعیین فراوانی ژنوتیپ‌ها برای هر دو گروه بیمار و کنترل، بررسی‌های آماری انجام شد. بر اساس جدول‌های ۴ و ۳ فقط DROSHA rs10719 نتایج معنی‌دار بود.

در ابتدا آزمون مربع‌کای برای هر ۳ ژنوتیپ ممکن در دو گروه شاهد و نمونه انجام گرفت که برای XPO5 جدول‌های ۱ و ۲ و برای DROSHA جدول‌های ۳ و ۴ بود که در بین این دو فقط برای DORSHA rs10719 نتایج معنی‌دار بود. مطابق جدول ۳ که بر اساس فراوانی ژنوتیپی افراد سالم و بیمار ژن DROSHA مشخص شده است، (p-value <۰/۰۳۸) به دست آمده که کوچک‌تر از سطح معنی‌دار ۰/۰۵ است (۰/۰۵ > p-value)، که نشان دهنده ارتباط معنی‌دار بین فراوانی ژنوتیپی DROSHA و نمونه‌های با سقط مکرر است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

هم‌چنین مطابق جدول ۴ که بر اساس فراوانی آللی ژن DROSHA مشخص شده است (p-value <۰/۰۰۴) به‌دست آمده که کوچک‌تر از سطح معنی‌دار ۰/۰۵ است (p-value<۰/۰۵) که نشان می‌دهد بین فراوانی آللی DROSHA و سقط مکرر نیز ارتباط معنی‌داری وجود دارد.

مطابق جدول ۱ رابطه فراوانی ژنوتیپی افراد بیمار و سالم بر اساس وجود ژن XPO5 مشخص شده که با توجه به (p-value <۰/۳۱۸) که بزرگ‌تر از سطح معنی‌دار ۰/۰۵ است هیچ ارتباط معنی‌داری بین وجود ژن XPO5 و سقط مکرر را نشان نمی‌دهد. هم‌چنین مطابق جدول ۲ که رابطه فراوانی آللی ژن XPO5 بین افراد سالم و بیمار بررسی شده که با توجه به (p-value <۰/۷۲۷) این عدد نیز بزرگ‌تر از سطح معنی‌دار ۰/۰۵ بوده و ارتباط معنی‌داری را نشان نمی‌دهد.

بحث :

در پژوهش بزرگی که در سال ۲۰۱۴ در کره توسط یونگ ووک جونگ و همکاران انجام شد روی ۲۳۸ مورد کنترل سالم و ۳۳۸ مورد با سابقه حداقل ۲ سقط متوالی بررسی ژنوتیپ ماشین‌های ساخت miRNA شامل DROSHA rs10719 – DICER rs3742330 – exportin 5 (XPO5) rs11077 – RNA GTPase (RAN) rs14035 که با روش آنالیز (PCR-RFLP) مورد بررسی قرار گرفتند و ترکیب آلل‌های (DICER/DROSHA/RAN/XPO5) A-T-T-C and G-C-T-A ۲۰ بار بیش‌تر از گروه شاهد در گروه مبتلا به RPL بودند. اما در آنالیز جداگانه هر یک از این ژن‌ها تنها پلی‌مورفیسم RAN rs14035 با شیوع RPL ارتباط معنی‌دار داشت که در گروه کنترل فراوانی ژنوتیپ CT به‌طور قابل توجه بالاتر از گروه مبتلا به RPL بود (۲۱). تفاوت این مطالعه با پژوهش حاضر در بررسی همه جانبه مطالعه آقای جونگ و همکاران رویmachinery gene و هر ۴ ژن سازنده miRNA است که به شکل گسترده روی جامعه کره انجام دادند اما در نهایت نتایج این تحقیق نشان دهنده تأثیر بعضی از این ژن‌ها روی سقط مکرر خودبه‌خودی است که مشابه پژوهش این مقاله است. در مطالعه آقای جونگ تأثیر هم‌زمان ژن‌ها هم مورد بررسی قرار گرفته بود که نشان داد در گروه بیمار درصد آلل اختلاف زیادی با گروه سالم داشتند هم‌چنین در بررسی جداگانه ژن‌ها تنها پلی‌مورفیسم RAN rs14035 با افزایش سقط مکرر ارتباط معنی‌دار داشته در حالی‌که در این مطالعه پلی‌مورفیسم DROSHA rs10719 با سقط مکرر ارتباط معنی‌دار داشت.

در مطالعه دیگری که توسط الشرفا و همکاران در سال ۲۰۱۳ صورت گرفت میزان بیان miRNAهای ۲۱، ۱۲۶، ۱۵۵، ۱۸۲، ۲۲۲ و ۵۱۷ در زنان مبتلا به سقط مکرر پرداختند. در نهایت به این نتیجه رسیدند که بیان miRNA 21 و miRNA126 در حین بارداری و قبل از آن در زنان مبتلا به شدت کاهش می‌یابد (۹). که این نیز نشان دهنده نقش miRNAها در سقط مکرر است و نشان می‌دهد سنتز برخی miRNAها می‌تواند در کاهش سقط مؤثر باشد.

یک مطالعه دیگر در کره ارتباط پلی‌مورفیسم‌های miRNA و سقط مکرر را در سال ۲۰۱۱ مورد بررسی قرار داد. در این مطالعه جون و همکاران به این نتیجه رسیدند که در خانم‌های کره‌ای مبتلا به سقط مکرر ایدیوپاتیک، miRNA 196aCC و miRNA 499AG+GG و ترکیبی از miRNA 196aCC/miRNA 499AG+GG دارای شیوع بالاتری نسبت به خانم‌های سالم این جمعیت می‌باشند. در نتیجه، پلی‌مورفیسم‌های مورد نظر با افزایش خطر سقط مکرر ایدیوپاتیک در خانم‌های کره‌ای ارتباط دارند (۱۲). که این پژوهش نیز نشان از نقش و تأثیر miRNAها در بروز سقط را دارد، هر چند که ژن مورد مطالعه در این تحقیق‌ها با تحقیق حاضر متفاوت است اما تشابه زیاد این نوع مطالعه‌ها باعث بررسی و شناخت بیش‌تر ما از سوابق مطالعه‌های این‌چنینی شد.

در مطالعه دیگری که روی زنان چینی انجام شده نیز نشان داد نقش ارتباط پلی‌مورفیسم miRNA423 rs6505162 به‌طور قابل توجه با RPL ارتباط مستقیم داشته است. در این مطالعه که روی ۱۷۵ بیمار مبتلا به RPL و ۲۰۱ مورد سالم از دانشگاه پزشکی Ningxia شرکت داشتند، miRNA423 به‌طور قابل توجه با وقوع سقط مکرر خودبه‌خودی ارتباط داشته و آلل نادر A به افزایش بیان miRNA بالغ کمک کرده است (۱۹). از میان مطالعه‌های انجام شده روی miRNAهای مختلف و تأثیرهای متفاوت آن‌ها در RPL چند نمونه که شباهت بیش‌تری با این پژوهش داشتند ذکر شد هر چند که به جز مطالعه آقای جونگ و همکاران مطالعه‌های دیگر با شباهت کم‌تری به مطالعه حاضر بودند اما نتایج مهم و تأثیرگذاری روی شناخت عوامل مؤثر بر RPL داشتند که ذکر آن‌ها مفید به نظر می‌رسید.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

نتایج مطالعه‌های قبلی نشان می دهد که بیماری سقط‌های مکرر خودبه‌خودی به‌عنوان یک بیماری پیچیده و چند ژنی به‌دلیل جهش‌های ژنتیکی متعددی (مجموعه‌ای از جهش‌های ژنی) در ژنوم مرتبط به‌وجود می‌آید؛ بنابراین بررسی سایر جهش‌ها و ژنوم مرتبط با سقط مکرر جهت روشن شدن مکانیسم این بیماری بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۶).

با توجه به این که زمینه ژنتیکی افراد در گروه‌ها و جوامع مختلف از تنوع زیادی برخوردار است (۳) لذا انجام مطالعه در این زمینه بسیار سودمند خواهد بود.

نتیجه‌گیری:

با تمام این توضیح‌ها، ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی با سقط مکرر هنوز به‌طور کامل مشخص نیست و مطالعه‌های بیش‌تری در این رابطه نیاز است. همان‌طورکه می‌دانیم عوامل متعددی در سقط مکرر نقش دارند، بنابراین مشخص کردن عوامل اصلی در این رابطه تا حدی دشوار می‌باشد.

از آن‌جایی‌که به نظر می‌رسد سقط مکرر، یک بیماری نباشد، بهتر است آن را یک سندرم اطلاق کرد. عوامل مختلفی می‌توانند در سقط مکرر نقش داشته باشند و می‌توان این‌گونه استنباط کرد که به احتمال پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های مختلف می‌توانند با RPL در ارتباط باشند. نقصی که در رابطه با مطالعه‌های پلی‌مورفیسم ژن‌ها و RPL می‌توان در نظر گرفت، این است که تأثیر SNPها به تنهایی بر RPL بررسی شده است و بهتر است در مطالعه‌ها به بررسی ترکیب این SNPها در ارتباط با سقط پرداخته شود که البته لازمه این کار تأمین شرایط مالی و امکانات بیش‌تری است.

به‌علاوه، مطالعه‌های ژنتیکی پیچیده هستند و نتایج حاصل از آن‌ها باید به روش‌های مختلف بررسی و تأیید گردند. اگرچه یک سری از مطالعه‌ها پیچیدگی‌های خود را داشته و امکان تکرار و مقایسه آن‌ها وجود ندارد. تفاوت‌های قومی به‌احتمال می‌توانند بر فرکانس‌های ژنوتیپی تأثیرگذار باشند و این عامل مهم می‌تواند نتایج مطالعه‌ها را تحت تأثیر قرار دهد. بنابراین یک SNP می‌تواند در یک جمعیت با RPL در ارتباط باشد و در جمعیتی دیگر بدون تأثیر باشد.

مطالعه‌های گسترده‌تری در رابطه با نقش دقیق پلی‌مورفیسم miRNAها در افزایش ریسک سقط مکرر مورد نیاز است، در مطالعه حاضر مشخص شد پلی‌مورفیسم XPO5 rs11077 چه از نظر بررسی ژنوتیپی و چه از نظر آللی به اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و سالم بر نخوردیم و محاسبه آماری و نموداری ارتباط معنی‌داری را بین این پلی‌مورفیسم و وقوع سقط مکرر خودبه‌خودی نشان نداد. اما پلی‌مورفیسم DROSHA rs10719 در جامعه زنان ایرانی نتایج متفاوتی داشت و به‌صورت جداگانه هم در بررسی ژنوتیپی و هم آللی با توجه به اختلاف معنی‌دار بین نمونه سالم و بیمار نشان از نقش مؤثر خود در RPL می‌داد. ژنوتیپ TT بین افراد سالم و بیمار که در افراد بیمار به شکل معنی‌داری بیش‌تر بود و p-value به‌دست آمده در آزمون مربع کای نیز تأییدی بر این نتیجه گذاشت. بر اساس فراوانی آللی نیز نتایج نشان داد که آلل T در افراد بیمار به شکل معنی‌داری بیش‌تر بوده و بر اساس p-value به‌دست آمده از آزمون مربع کای نقش معنی‌دار این آلل نیز در وقوع RPL را نشان داد. بر اساس پژوهشی که در سال ۲۰۱۷ انجام شده نقش حضور rs10719 باعث اختلال در تعامل بین miR-27b و DROSHA می‌شود که ممکن است مکانیسم پایه مشاهده شده باعث افزایش خطر ابتلا به پرفشاری خون شود و این مورد نیز می‌تواند روی نقش این rs در سقط جنین نیز تأثیر داشته باشد (۲۰).

سپاسگزاری

با تشکر از معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد پرند و اساتید گرامی برای کمک‌های بی‌دریغ در مسیر این پژوهش، هم‌چنین از پرسنل محترم آزمایشگاه مسعود و فام.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]

منابع

1. Ambros V, Bartel B, Bartel DP. A uniform system for microRNA annotation. RNA 2003; 9:277-9.
2. Bagga S, Bracht J, Hunter S. Regulation by let-7 and lin-4 miRNAs results in target mRNA degradation. Cell 2005; 122: 553- 63.
3. Barley J, Blackwood A, Carter ND, Crews DE, Cruickshank JK, Jeffery S, et al. Angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism: association with ethnic origin. J Hypertens 1994;12(8):955-57.
4. Bartel DP.MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. Cell 2004; 116:281–97.
5. Bashkirov VI, Scherthan H, Solinger JA. A mouse cytoplasmic exoribonuclease (mXRN1p) with preference for G4 tetraplex substrates. J Cell Biol 1997; 136: 761–73.
6. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. Am J Reprod Immunol 2006; 55(5):360-68.
7. Cunningham. Williams obstetrics. 1997; 20th Edition
8. Elbashir SM, Calin GA, Sevignani C, Dumitru CD. Functional anatomy of siRNAs for mediating efficient RNAi in Drosophila melanogaster embryo lysate. EMBO J 2001; 20: 6877-88.
9. El-Shorafa HM, Sharif FA. Dysregulation of micro-RNA contributes to the risk of unexplained recurrent pregnancy loss. International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology. 2013; 2(3):330-5.
10. Ghosh K, Shetty S, Vora S, Salvi V. Successful pregnancy outcome in women with bad obstetric history and recurrent fetal loss due to thrombophilia: effect of unfractionated heparin and low-molecular weight heparin. Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis. 2008;14(2):174-9. Epub 2007/12/28.
11. Iorio MV,Casalini P, Piovan C. Breast cancer and microRNAs: the rapeutic impact. Breast 2011; Suppl 3:S63-70.
12. Jeon YJ, Choi YS, Rah H, Kim SY, Choi DH, Cha SH, et al. Association study of microRNA polymorphisms with risk of idiopathic recurrent spontaneous abortion in Korean women. Gene. 2012; 494(2):168-73.
13. Kenneth J.R MD. kistner's Gynecology. Principles and practice.1990; 6th edition.1995;330-365
14. Lim KJ, Odukoya OA, Li TC, Cooke ID. Cytokines and immuno-endocrine factors in recurrent miscarriage. Human reproduction update. 1996;2(6):469-81. Epub 1996/11/01.
15. Pillai RS. MicroRNA function: Multiple mechanisms for a tiny RNA? RNA 2005; 11:1753-61.
16. Quesne JL, Caldas C. Micro-RNAs and breast cancer. Mol Oncol 2010; 230-41.
17. Teixeira D, Sheth U, Valencia-Sanchez MA, Motamed N, Azadmanesh K. Processing bodies require RNA for assembly andcontain non translating mRNAs. RNA 2005; 11: 371-82.
18. Tomari, Y. and Zamore, P.D. Perspective: Machines for RNAi. Genes Dev 2005; 19: 517-29.
19. Xing Su, Yi Hu, Ying Li, Jing-Li Cao, Xue-Qin Wang, Xu Ma, and Hong-Fei Xia . The polymorphism of rs6505162 in the MIR423 coding region and recurrent pregnancy loss, society for reproduction and fertility ISSN 1470-1626 (paper) 1741-7899 (online) (2015)
20. Yabing Zhang, Ai-lin Cao, Chung Dong . rs10719 Polymorphism Located within DROSHA 3′-ntranslated Region is Responsible for Development of Primary Hypertension by Disrupting Binding with microRNA-27b. 2017; 23: 911-918
21. Yong Wook Jung, Young Joo Jeon, HyungChul Rah, Ji Hyang Kim, Ji Eun Shin, Dong Hee Choi, Sun Hee Cha, Nam Keun Kim (2014) Genetic Variant in MicroRNA Machinery Genes Are Associate wi١٤th Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss Risk. Volume 9 Issue 4 e95803

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-11-04]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1397.8.30.2.7]