نقش میکرو RNA ها در سقط خودبخودی مکرر

● دکتر صادق ولیان بروجنی
استاد ژنتیک دانشگاه اصفهان، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم
گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک
svallian@sci.ui.ac.ir

● فاطمه کریمی خوزانی
کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم
گروه زیست شناسی، بخش ژنتیک

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

❑ چکیده

سقط جنین به پدیده از دست دادن جنین قبل از هفته ۲۰ حاملگی گفته می‌شود. سقط جنین یکی از عوارض شایع در حاملگی می‌باشد و علت وقوع آن در بسیاری از موارد ناشناخته باقی می‌ماند. عوامل شناخته شده برای سقط شامل ناهنجاری‌های ساختاری در رحم، ناهنجاری‌های ژنتیکی، بیماری‌های خودایمنی، نقایص هورمونی، نقایص انعقادی و ترومبوفیلی، تخمدان پلی‌کیستیک، چاقی و سبک زندگی می‌باشد. سقط از لحاظ جسمی و روحی آسیب‌های فراوانی بر زوجین می‌گذارد، به ویژه هنگامی که به صورت مکرر رخ دهد. کشف و شناسایی مارکرهای زیستی مرتبط با سقط می‌تواند کمک موثری در تشخیص عارضه و پیشگیری از آن را فراهم نماید. در میان مارکرهای زیستی شناخته شده میکرو RNA ها دارای پتانسیل بالایی هستند. تشخیص براساس تغییرات مولکولی و تغییرات بیان میکرو RNAهایی که در سقط دچار تغییر می‌شوند، می‌تواند به شناخت افراد مستعد سقط جنین یا پیشگیری از آن کمک زیادی نماید. میکرو RNA ها گروهی از RNA های غیر کد کننده می‌باشند که بیان بخش زیادی از ژن‌های بدن را تنظیم می‌کنند. این تنظیم می‌تواند در سطح رونویسی و نیز پس از رونویسی انجام شود. بیان این میکرو RNA تحت تنظیمات بسیار دقیقی قرار دارد و برهم خوردن این نظم با انواع بیماری‌ها در ارتباط است. مطالعات نشان داده است که برخی از این میکرو RNA ها طی بارداری دچار کاهش بیان و تعداد دیگری دچار افزایش بیان می‌شوند و این تغییرات بر روی میزان بیان ژن‌های هدف آن‌ها تأثیر زیادی دارد. یکی از دلایلی که می‌تواند باعث تغییرات بیانی در میکرو RNAها شود، تغییرات تک نوکلئوتیدی در ژن‌های رمز کننده این میکرو RNA ها در ژنوم می‌باشد. در این نوشتار نقش و اهمیت میکرو RNA در سقط مکرر بررسی می‌شود.

کلیدواژه‌ها: سقط مکرر، میکرو RNA، ژن ERBB2، ژن LIF، rs12976445، MIR-125a

❑ مقدمه

سقط جنین

سقط جنین یکی از شایع‌ترین مشکلات در دوران بارداری انسان می‌باشد. تعاریف زیادی برای این پدیده وجود دارد، اما پذیرفته شده ترین تعریف برای آن توسط سازمان بهداشت جهانی[1] (WHO) در سال ۱۹۷۷ انجام

1- World Health Organization (WHO)

شده است که به صورت ســقط جنین یعنی از دست دادن بــارداری قبل از هفته ۲۰ یا ۲۴ بــارداری یا تولد جنین با وزن ۵۰۰ گرم یا کمتر می‌باشــد [۱]. بروز سقط جنین در میان حاملگی‌های بالینی در سراسر جهان حدود ۱۵-۱۰٪ گزارش شــده اســت، که اکثراً در ۳ ماهه اول بارداری رخ می‌دهــد و می‌توان گفت بســیاری از بارداری‌ها قبل از این که تشــخیص داده شــوند یعنی قبل از هفته ۸ بارداری به سقط می‌انجامند [۲]. البته اگر تلفات اولیه بارداری هم در نظر گرفته شــوند این آمار افزایش می‌یابد ولی چون حدود ۱۴ روز پــس از تخمک گذاری و نزدیک قاعدگی بعدی رخ می‌دهد، معمولاً با خونریزی قاعدگی اشتباه گرفته می‌شود و در بررسی‌ها محاسبه نمی‌شوند. میزان بروز حوادث اولیه بارداری حدود ۲۲-۱۷٪ درصد است [۳ و ۱].

براساس زمان وقوع سقط تعاریف متعددی برای آن ارائه می‌شــود، به پدیده ســقط قبل از هفته ۱۰ از دست دادن رویان و بین هفته ۱۰ تا ۲۰ (یا ۲۴) از دســت دادن جنین گفته می‌شــود [۵ و۴]. در برخــی از مطالعات نیز گزارش شده است که سقط خودبخودی در حدود ۲۵-۱۵٪ از همه حاملگی‌ها رخ می‌دهد[۶]. طبق مطالعات انجام شده ۲۲٪ از کل حاملگی‌ها هرگز تشخیص داده نمی‌شوند[۳] و آمارها نشان می‌دهد، ۵-۱٪ از کل زوج‌ها در دنیا تحت تأثیر پدیده ســقط خودبخودی جنین قرار می‌گیرنــد [۷] و تنها ۳۰٪ از بارداری‌هــا به تولد نوزاد زنده می‌انجامد. از دســت دادن حاملگی اثرات جســمی و روحی فراوانی بر زوج‌ها می‌گذارد به ویژه هنگامی که به صورت مکرر رخ می‌دهد [۸ و ۲].

❑ سقط مکرر خودبخودی

ســقط مکــرر[۲] به دســت دادن دو یا تعداد بیشــتری از حاملگی‌هــا قبل از هفتــه ۲۰ یا ۲۴ به صــورت متوالی یا متناوب تعریف می‌شــود و بارداری‌های خارج رحمی، مولار و بیوشــیمیایی را شامل نمی‌شود [۶ و ۲]. البته برای سقط مکرر جنین نیز تعاریف متعددی ارائه شــده است گاهی دو سقط و گاهی سه سقط یا بیشتر را تحت عنوان سقط مکرر در نظر می‌گیرند. وقوع دو ســقط، یک در هر ۴۵ زن باردار، سه سقط، یک در هر ۲۰۰۰ زن باردار و ۵ یا ۶ سقط یک در ۹۰۰۰۰ زن باردار است [۵]. در سال ۲۰۰۱، کالج متخصص زنان و زایمان آمریکا[۳] ســقط مکرر را از دســت دادن دو یا ســه یا تعداد بیشتر بارداری تعریف کرد، در سال ۲۰۱۲ نیز کمیته آمریکایی پزشــکی باروری[۴] سقط مکرر را به عنوان یک بیماری مشــخص از نابــاروری تعریف کرد که طی آن ســقط جنین در سه یا تعداد بیشــتری از حاملگی رخ دهد [۵].

کمتر از ۵٪ زنان دو ســقط جنین متوالی و فقط ۲-۱٪ از زنان ســه ســقط یا بیشــتر را تجربه می‌کنند [۹ و ۸]. اطلاعات قابل اتکایی برای تخمین میزان ســقط ۲ یا ۳ بار متوالی وجود ندارد. طبــق بهترین اطلاعات موجود حدس زده می‌شــود که میزان وقوع دو سقط متوالی ۳۰٪ و میزان وقوع سه سقط متوالی ۳۳٪ برای افرادی است که هیچ گونه ســابقه تولد زنده را نداشته‌اند [۲]. به عنوان مثال، خطرات بعد از یک ســقط جنین برای زنان با یک، دو، ســه و چهار حاملگی قبلی به ترتیب ۲۲/۷، ۲۴/۱، ۲۵/۱ و ۲۵/۸٪ است. پس از دو ســقط جنین، خطرات مربوط به زنان با دو، سه و چهار حاملگی قبلی به ترتیب ۲۸/۶، ۲۷/۶ و ۲۶/۳٪ اســت [۱۰].

ســقط مکرر (RPL) به دو دســته اولیه و ثانویه تقسیم می‌شود. RPL اولیه اشاره به سقط مکرر در زنانی دارد که در آن بیمار هرگز تولد زنده نداشــته و RPL ثانویه اشاره به ســقط مکرر در زنانی دارد که قبلاً تولد زنده داشــته‌اند، توضیحات بیشتر در جدول ۱ آمده است [۶].

میزان ابتلا به سقط مکرر به دلیل نبود تعریف ثابت برای RPL، دسترسی محدود به بافت‌ها برای مطالعه، تشخیص و پیــش آگهی‌های قابل توجه برای تولد زنده در بیماران با RPL منجر به عدم دسترسی به اهداف درمانی و تشخیصی در این بیماران شده است [۸].

2- Recurrent pregnancy loss (RPL)
3- American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG)
4- American Society for Reproductive Medicine Practice Committee

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

جدول ۱: اصلاحات رایج در زمینه سقط، انواع آن و تفسیر هرکدام از اصلاحات [۱۱].

حاملگی	حاملگی بر اساس مدارک سونوگرافی یا بافت شناسی جنین
سقط بالینی	از دست دادن جنین قبل از هفته ۲۰ بارداری
حاملگی	تشخیص هورمون بتا HCG در ادرار یا سرم خون قبل از ارزیابی بالینی
دسته بندی سقط (کلاسیک)	از دست رفتن جنین سه قبل از هفته ۲۰ حاملگی به استثنای حاملگی‌های مولار، خارج رحمی
سقط اولیه	سقط در فردی که هرگز بارداری زنده نداشته است
سقط ثانویه	سقط در فردی که حداقل یک بارداری زنده داشته است

❑ عوامل مؤثر در سقط جنین

ناباروری و سقط دو مشکل عمده تولید مثلی هستند که در بسیاری از موارد دلایل هم پوشانی برای آن‌ها ذکر می‌شود. تعدادی از شرایط پاتولوژیک با سقط و ناباروری همراه هستند، مشکلاتی از جمله تخمدان پلی کیستیک[5]، نقایص دیواره رحم[6] و فیبروئید رحم[7] بیشترین فراوانی را در افراد نابارور دارند و همچنین در سقط‌های مکرر نیز گزارش شده‌اند [۱۲]. برای سقط خودبخودی دلایل زیادی مطرح شده است که مهم‌ترین عوامل در جدول ۲ لیست شده است، سقط خودبخودی جنین شامل عوامل شناخته شده و عوامل ناشناخته می‌باشد [۸].

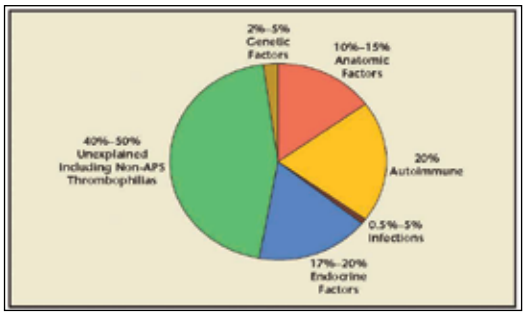
جدول:۲ دلایل اصلی و شناخته شده برای سقط و مثال‌هایی برای هر کدام از عوامل [۸].

سبب شناسی	تشخیص پیشنهادی: ارزیابی
هورمونی	بررسی مقاومت به انسولین، پرولاکتین خون، بررسی آنتی بادی‌های ضد تیروئید
عفونت	ارزیابی تنها در موارد اندومتریوز حاد یا کمبود ایمنی توصیه می‌شود
خودایمنی	بررسی سطح آنتی بادی‌های آنتی کاردیو لیپین و آنتی‌کواگولانت‌های لوپوس
ترومبوفیلی غیر سندرمی (سندرم آنتی فسفولیپید)	بررسی هموسیستئین، فاکتور V لیدن، جهش در پروموتر پروترومبین، مقاومت به پروتئین C فعال شده

از مهم‌ترین دلایل سقط می‌توان به ناهنجاری‌های کروموزومی، ناهنجاری‌های ژنی، ناهنجاری‌های ساختاری رحم، بیماری‌های ایمونولوژیکی، ترومبوفیلی های ارثی یا اکتسابی، بیماری‌های هورمونی مانند مشکلات تیروئیدی، دیابت ملیتوس کنترل نشده، بیماری‌هایی مثل سندرم آنتی‌بادی آنتی فسفولیپید، عوامل عفونی، کیفیت و ویژگی‌های اسپرم، سن والدین، عوامل محیطی و سبک زندگی اشاره کرد. کلیه این عوامل فقط علت ۵۰٪ از سقط‌ها را توجیه می‌کند و علی رغم همه پیشرفت‌ها هنوز علت سقط در ۵۰٪ موارد ناشناخته باقی می‌ماند [۹و ۸ و ۶ و ۲]. عوامل سقط و سهم هر یک از عوامل در سقط در شکل ۱ نشان داده شده است.

5- Polycystic ovarian
6- Uterin septum
7- Uterin fibroid

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019



شکل ۱ - عوامل مهم مؤثر در سقط جنین و سهم نسبی هرکدام از عوامل [۸].

برخی از مطالعات دیگر عنوان کرده‌اند که علت سقط در ۷۹-۳۷٪ از زنان مبتلا ناشناخته باقی‌می ماند و گفته شده است که بیش از ۵۰٪ موارد سقط مکرر خودبخودی[۸] به عنوان ایدیوپاتیک یا ناشناخته (URSA) [۹]طبقه بندی می‌شوند و مکانیسم‌های آن به طور کامل درک نمی‌شوند [۱۳ و ۷].

بررسی‌ها نشان داده است که حدود ۲۵٪ از سقط جنین‌ها با اصلاح عوامل خطرساز قابل پیشگیری و درمان می‌باشند [۱۴]. تشخیص علت سقط نیاز به آزمایش‌های متعدد برای تشخیص وضعیت کروموزوم‌های والدین، ترومبوفیلی‌های مادرزادی، اختلالات غدد درون ریز، اختلالات ایمنی سبک زندگی، نقایص تشریحی رحم و عفونت مادران دارد [۱۳ و۷]. طبق برخی از مطالعات احتمالاً با مصرف ویتامین‌ها، میوه‌های تازه، سبزیجات و احساس آرامش و شادابی در دوران بارداری خطر ابتلا به سقط جنین کاهش می‌یابد، البته برای تأیید این یافته‌ها به تحقیقات بیشتری نیاز است [۱۵].

علاوه بر این عوامل خطرساز محیطی و سبک زندگی شواهد فراوانی وجود دارد که نشان می‌دهد سقط مکرر جنین دارای استعداد ژنتیکی است و معمولاً سابقه خانوادگی نشان می‌دهد. مطالعات گسترده ژنومی نشان داده است که برخی از زوج‌ها واجد فاکتورهای ژنتیکی هستند که خطر سقط جنین را افزایش می‌دهند [۷].

❑ میکرو RNA [۱۰] و سقط جنین

میکرو RNA ها از عوامل ژنتیکی جدید مؤثر در سقط جنین می‌باشند که با تغییرات بیان ژن‌ها نقش خود را ایفا می‌کنند. میکرو RNA ها، RNA های کدکننده غیر پروتئینی هستند و حدود ۲۲ نوکلئوتید طول دارند و موجب خاموش شدن ژن‌ها در سطح پس از رونویسی می‌شوند. اعتقاد بر این است که میکرو RNA ها تقریباً بیان یک سوم از ژنوم انسان را تنظیم می‌کنند. پیشنهاد شده است که چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی[۱۱] (SNP) در توالی‌های میکرو RNA می‌تواند به طور بالقوه بر عملکرد تنظیم کننده آن‌ها تأثیر بگذارد و برخی مطالعات ارتباط میکرو RNA ها با RPL، را نشان داده‌اند تحقیقات بیشتری برای نقش میکرو RNA ها نیاز است [۹].

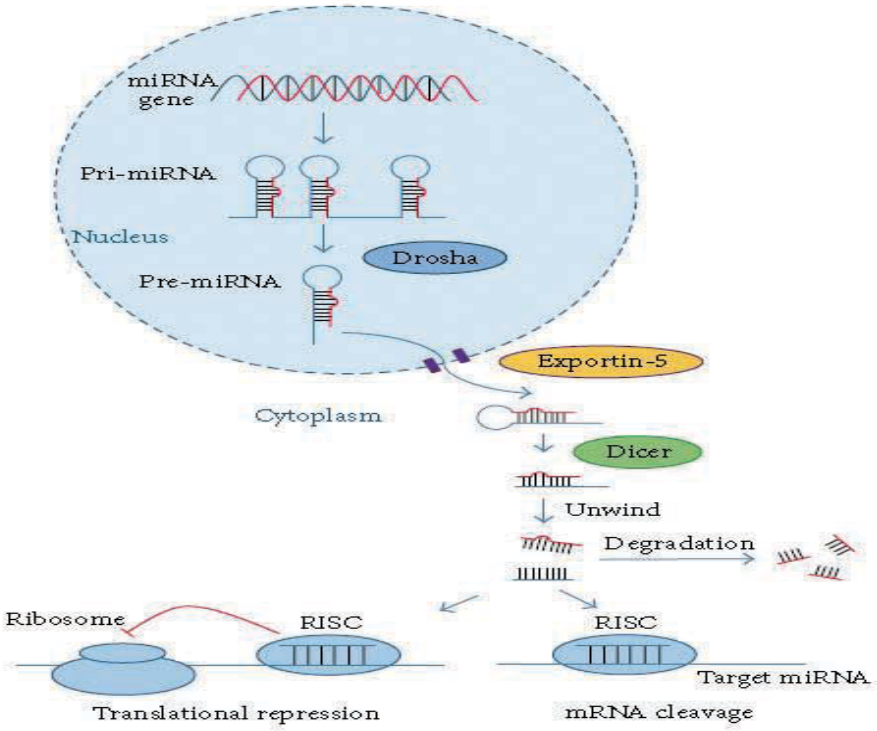
❑ سنتز میکرو RNA

اکثر میکرو RNA ها توسط RNA پلی مراز II[۱۲] در هسته رونویسی می‌شوند و میکرو RNA اولیه [۱۳] (pri- mir) ایجاد می‌شود و سپس تغییرات کلاهک گذاری، پیرایش و پلی آدنیلاسیون روی آن انجام می‌گیرد [۱۶]. میکرو RNA اولیه سپس تحت پردازش کمپلکس ریز پردازنده[۱۴] که شامل یک آنزیم RNase به نام دروشا (Drosha) است و کوفاکتور آن DGCR8[۱۵] قرار می‌گیرد. در اثر فعالیت این کمپلکس یک RNA دو رشته با طول ۷۰-۶۰ نوکلئوتید و حاوی ساختار سنجاق سری ایجاد می‌شود که در این حالت به آن pre-mir گفته می‌شود [۱۷]. دروشا دارای دو دومین RNas III می‌باشد که هرکدام یکی از رشته‌های pri-mir را برش می‌دهند و pre-mir را ایجاد می‌کنند. این کمپلکس قطعه ای حدود

8- Recurrent Spontaneous Abortion (RSA)
9- Unknown Recurrent Spontaneous Abortion (URSA)
10- MicroRNA (miRNA)
11- Single Nucleotide Polymorphism (SNP)
12- RNA Polymerase II
13- Primary microRNA
14- Micro processor
15- Double-strand RNA (dsRNA)-binding protein DiGeorge Syndrome Critical

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

۱۱ جفت باز از RNA دو رشته ای را در هر دو رشته برش داده و یک ساختار سنجاق سری ایجاد می‌کند که دارای یک سر آویزان[16] است. در میکرو RNA های گروه I این سر آویزان دو نوکلئوتید و در میکرو RNA های گروه Π یک نوکلئوتید طول دارد [۱۹ و ۱۸]. این ساختار توسط پروتئین Exportin5 از هسته خارج و وارد سیتوپلاسم می‌شود و سپس تحت اثر دومین RNase کلاس III این مسیر یعنی دایسر[17] قرار می‌گیرد. این آنزیم با ایجاد دو برش نامتقارن سبب ایجاد میکرو RNA بالغی می‌شود که ۲۲ نوکلئوتید طول دارد و در انتهای ۳ نیز دارای چند نوکلئوتید اضافی است؛ این ساختار به 3′-overhang معروف است. پروتئین دیگری به نام TRBP[18] نیز در این فرآیند به Dicer کمک می‌کند. این پروتئین برای عملکرد Dicer ضروری نیست اما در افزایش کارایی Dicer در ایجاد شکست و نیز در انتخاب رشته راهنما برای کمپلکس RISC[19] نقش دارد [۲۲-۲۰]. پس از آن که میکرو RNA بالغ سنتز شد، یک رشته از آن با پروتئین آرگونات (AGO)[20] تشکیل کمپلکسی به نام RISC را می‌دهد که سبب تخریب mRNA هدف در سطح پس از رونویسی می‌شود. میکرو RNA ها به سمت ۳′ مولکول mRNA هدف، که ناحیه ۳′ ترجمه نشده[21] (3′-UTR) است، متصل می‌شوند و این اتصال با نوکلئوتیدهای ۷-۲ میکرو RNA بالغ صورت می‌گیرد [۲۲ و ۱۷]. در شکل ۲ این فرآیند نشان داده شده است.



شکل ۲: مکانیزم سنتز میکرو RNA ها (جهت توضیحات شکل به متن مراجعه شود) [۲۳].

16- Overhang
17- Dicer
18- Trans activation-responsive RNA-Binding Protein
19- RNA-Induced Silencing Complex
20- Argonaute
21- 3′-UnTranslated Region

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

❑ بیان میکرو RNA و سقط

همان طور که قبلاً اشـــاره شـــد میکرو RNA ها در بیان ژن‌ها تأثیر دارند. مشـــاهده شده که در بسیاری از سقط‌ها با دلایل ناشناخته بیان میکرو RNA ها دچار تغییر شده است. میکرو RNA ها در وقایع مختلف بارداری از جمله لانه گزینی جنین، حاملگی خارج رحمی، پره اکلامپسی، زایمان زودرس، وزن کم جنین هنگام تولد و سقط خودبخودی، پاسخ‌های ضد التهابی و نیز لانه گزینی جنین نقش بسیار مهمی دارند و در هرکدام از این وقایع بیان میکـــرو RNA های خاصی دچار تغییر می‌شود و براساس ژن‌های هدف هر کدام وقایع خاصی رخ می‌دهد. در جدول ۱-۴ تغییرات بیان تعدادی از این میکرو RNA ها در ســـقط‌های خودبخودی نشان داده شده است. در بررســـی زنان مبتلا به ســـقط جنین مکرر دیده شده که miR-133aدچار افزایش بیان شـــده است و miR-133a با کاهش ترجمـــه HLA-G با اتصال بـــه 3′-UTR عمل می‌کند و چون این پروتئین نقش اساســـی در تحمل جنین توسط سیستم ایمنی مادر دارد پس کاهش بیان آن در نهایت می‌تواند منجر به سقط خودبخودی شود [۲۴]. مطالعات نشان داد که در زنان مبتلا به ســـقط مکرر ۴۱ میکرو RNA دچار کاهـــش بیان و تنها ۴ میکرو RNA افزایش بیان داشـــتند. تعـــداد ۷ میکرو RNA نیز دچار افزایـــش بیان بیش از حد شـــدند. دو میکرو RNA شـــامل mir187 و $mir125b_2$ به طور چشـــمگیری در زنـــان مبتلا به ســـقط جنین دچار افزایش بیان بیش از حد شـــدند. miR520f, miR3175, miR4672 کاهش بیان و miR های 517c، 522، 520h، 591a-1 و 184 افزایش بیان نشان دادند. در مطالعات دیگر نیز miR هـــای 125a، 34a، 155، 141 و 125b افزایش بیان و miR34 کاهش بیان در زنان مبتلا به ســـقط جنین نشان دادند. اطلاعات در مورد تغییرات بیان میکرو RNA ها و ارتباط آن با سقط در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳ تغییرات بیان میکرو RNA در سقط خودبخودی (هفته ۷ بارداری) [۲۴]

کاهش بیان miRNAs	افزایش بیان miRNAs	تکنیک استفاده شده	جمعیت مورد مطالعه	نام محقق و سال انتشار
-------	miR-133a	Microarray +qRT-PCR	۱۲ بیمار و ۱۰ کنترل	Wang و همکاران 2012
miR-520f, miR3175, miR4672	miR-184, miR-187,and miR-125b-2 miR-517c, miR-519a-1 miR-522, miR-520h, miR-184	Microarray +qRT-PCR	۲۰ بیمار و ۱۵ کنترل	Dong و همکاران 2014
miR-24	miR-34a, miR-155 miR-141, miR-125a, and miR-125b	qRT-PCR	۲۰ بیمار و ۲۰ کنترل	Li و Li 2016
miR-101-3p	miR-320b, miR-146b-5p, miR221-3p, and miR-559	miRNAarray + qRTPCR	۲۷ بیمار و ۲۸ کنترل	Qin و همکاران 2016

مشخص شـــد، اعضای خانواده miR-24 تنظیم کننده p53 هســـتند و بنابراین در مکانیسم‌های آپوپتوز و تکثیر سلولی نقش دارند. اســـتفاده از میکرو RNA ها به عنوان بیومارکرهای تشـــخیصی هنوز به طور کامل مشخص نشده است و بررسی‌های بیشتر به منظور تأیید نقش احتمالی این miRNA ها به عنوان بیو مارکر برای توضیح ســـقط‌های مکرر بدون دلیل مورد نیاز اســـت [۲۴]. ســـنتز و عملکرد میکرو RNA ها تحت کنترل بســـیار دقیق قرار دارد و بر هم خوردن این نظم با بروز بیماری‌های نظیر ســـرطان نیز مرتبط اســـت [۲۶ و ۲۵]. عواملی که این نظم و بیان میکرو RNA را تغییر می‌دهند شامل تغییرات اپی ژنتیک و چند شکلی‌های تک نوکلئوتیدی می‌باشند [۲۷].

❑ تغییرات اپی ژنتیک و سقط

تغییـــرات اپی ژنتیک بـــه کلیه تغییرات در ژنوم اشـــاره دارد کـــه بدون تغییر در توالی نوکلئوتیدی ژنوم، بیان ژن‌ها را تغییـــر می‌دهند. تغییرات اپی ژنتیک در هیســـتون ها و نیز در DNA ســـاختار محلی کروماتین را تعیین می‌کند. این تغییرات نقش مهمـــی در بیان نواحی کد کننده و غیر کدکننده ایفا می‌کنند [۱۷]. یکی از مکانیســـم‌های تغییر بیان میکرو RNA ها تغییرات اپی ژنتیک می‌باشد که این تغییرات بـــه طور عمده نواحی CpG [۲۲] در پروموتر ژن‌های مختلف رخ می‌دهد و باعث خاموشـــی یا روشن شدن ژن‌ها می‌شود [۲۸].

❑ تغییرات تک نوکلئوتیدی و سقط

تغییـــرات تـــک نوکلئوتیـــدی منجـــر بـــه تغییـــر بیان میکرو RNA می‌شود، در سنتز میکرو RNA ها آنزیم‌های متعـــددی نقش دارند که تغییر بیان هر کدام از این آنزیم‌ها می‌توانـــد بر میـــزان بیان میکرو RNA تأثیر گذار باشـــد. مطالعات زیادی در زمینه بررسی ارتباط این چند شکلی‌ها با ســـقط جنین و ناباروری انجام شده اســـت که در زیر به تعدادی از آن‌ها اشاره می‌شود.

❑ چند شکلی‌های موجود در آنزیم‌های مرتبط با سنتز میکرو RNA ها و ارتباط آن با سقط

در یک مطالعه که در جمعیت چین انجام شد نقش ۷ چند شکلی در آنزیم‌های دایسر و دروشا در مورد کیفیت مایع منی و ارتباط آن با ناباروری و سقط انجام شد. این چند شکلی‌ها شـــامل rs1057035 ,rs13078 و rs12323635 در آنزیم دایســـر و چندشکلی‌های rs10719, rs2291109, rs17409893 و rs64232 درآنزیم دروشا بررسی شد و نتایج نشان داد که این چند شکلی‌ها با ناباروری و سقط در ارتباط هستند [۲۹].

در یـــک مطالعه دیگر نقش چند شـــکلی‌های موجود در آنزیم‌های دخیل در ســـنتز میکرو RNA از جمله دایسر، دروشا و اکسپورتین ۵ و ارتباط آن با سقط مورد بررسی قرار گرفت. این چند شـــکلی‌ها شامل rs3742330 در دایسر، rs10719 در دروشـــا، rs14035 در RAN GTPase، rs11077 در اکســـپورتین ۵ بـــود و در جمعیـــت کره ای انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که این چند شکلی‌ها با ســـقط خودبخودی جنین ارتباط دارنـــد [۳۰]. بنابراین براساس مطالعات انجام شده، میکرو RNA ها می‌توانند به عنوان مارکرهای زیستی جدید در سقط خودبخودی مطرح باشند و باید مورد بررسی و تحقیقات بیشتری قرار گیرند.

❑ تغییـــرات تـــک نوکلئوتیـــدی در ژن‌های رمز کننده میکرو RNA و ارتباط آن با سقط

تغییرات تک نوکلئوتیدی کـــه درون ژن‌های رمز کننده میکرو RNA ها اتفاق می‌افتد، با تغییر در اختصاصی بودن عملکـــرد میکرو RNA، باعث تغییر در اتصال به توالی‌های هدف یـــا تغییر در بیان ژن‌های هدف می‌شـــود، همچنین با تغییـــر در فرآیندهای پردازش میکـــرو RNA می‌تواند باعث تغییر در میزان بیان میکرو RNA شـــود [۳۱]. این نشانگرهای چند شکلی می‌توانند در تشخیص بیماری‌های ژنتیکی مختلف از جمله انواع ســـرطان‌ها مورداستفاده قرار گیرند [۳۲]. این نشـــانگرها برحسب موقعیت قرارگیری در

22- CpG island

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

ژنوم و درجــه هتروزیگوتی آن‌ها دارای ارزش تشــخیصی متفاوتی هستند [۳۳] از طرفی این نشانگرهای چند شکلی در جمعیت‌های مختلف دارای فراوانی و درجه هتروزیگوتی متفاوت هســتند [۳۴]. این تغییرات تک نوکلئوتیدی تحت عنوان پلی مورفیســم شناخته می‌شــوند و در مورد ارتباط این پلی مورفیســم ها با سقط خودبخودی جنین مطالعات مختلفی تاکنون انجام شــده است که در ادامه مورد بررسی قرار می‌گیرند.

پلــی مورفیســم در ژن miRNA-10a: ایــن میکرو RNA در اکثر پســتانداران از جمله انســان وجود دارد و تقریبــاً در اکثــر بافت‌های بدن بیان شــده و دارای فعالیت‌های مختلفی می‌باشد و با بسیاری از بیماری‌ها ارتباط دارد. در ژن کد کننده این میکرو RNA پلی مورفیسم‌های متعددی وجود دارد و ارتباط برخی از پلی مورفیســم‌های این میکــرو RNA بــا بیماری‌ها و از جمله ســقط مورد مطالعه قرار گرفته اســت. در یکی از مطالعات انجام شــده ارتباط پلی مورفیســم rs3809783 A > T با ســقط در جمعیت چین بررســی شده اســت. این پلی مورفسیم در pri-miR-10a اتفاق می‌افتد و باعث کاهش شــکل بالغ این میکرو RNA می‌شــود و یکــی از ژن‌های هدف این میکرو RNA ژن Bim می‌باشد و پلی مورفسیم فوق باعث افزایش بیان این ژن می‌شود. همچنین این چند شکلی باعث کاهش حساسیت سلول‌ها به پروژسترون و آنتاگونسیت آن یعنی میفپریســتون[۲۳] می‌شود و در مجموع این چند شکلی با افزایش سقط خودبخودی همراه است [۳۵].

پلی مورفســیم در ژن miRNA-423: ایــن میکرو RNA در رشد و تکثیر سلولی و نیز مهاجرت سلولی نقش مهمی دارد. یکی از پلی مورفسیم های موجود در این میکرو RNA چند شــکلی rs6505162 می‌باشد که این چند شــکلی باعث افزایش شکل بالغ این میکرو RNA می‌شود و چون ایــن میکرو RNA پروتئیــن PA2G4 را تنظیم می‌کنــد، در نتیجه در صورت وجود این چند شــکلی این پروتئین دچار تغییر در بیان می‌شــود و این میکرو RNA بــا ناهنجاری‌ها و اختــلالات ژنتیکی که ایجــاد می‌کند با سقط خودبخودی جنین در ارتباط است. یک مطالعه که به بررســی ارتباط این چند شکلی با سقط جنین در جمعیت چین انجام شــد، نقش این میکرو RNA را با سقط نشان داد [۳۶].

پلــی مورفســیم در ژن miRNA-17HG: در مورد پلی‌مورفســیم‌های موجود در این ژن شامل rs6492538 مطالعاتی در مورد جداســازی زود هنــگام جفت از رحم و نیز بیماری‌های قلبی- عروقی انجام شــده بود. در مطالعات دیگر نیز نقش این چند شــکلی با نقایص و ناهنجاری‌های جفت و نیز ســقط جنین مورد بررســی قــرار گرفت. این میکرو RNA خوشه‌های MIR17~92 را شامل می‌شود. بیان بالای MIR-92a باعث مهار تشــکیل لوله، مهاجرت ســلولی و چســبندگی ســلول‌های اندوتلیال می‌شود، در حالی که هیچ تاثیری در بقا و تکثیر ســلولی ندارد. بر این اســاس، مهار MIR-92a با آنتاگومیر باعث ایجاد آنژیوژنز می‌شود و با بهبود جریان خون در اندام یا ایسکمی میوکارد موجــب زنده ماندن بافــت در منطقه می‌شــود. همچنین مطالعات نشان داده که حذف MIR17~92 باعث افزایش نقایــص قلبــی و ریوی در جنیــن و در نهایــت مرگ آن می‌شــود. همچنین این میکرو RNA ها منجر به افزایش ســقط‌های خودبخودی می‌شوند. MIR17HG در تنظیم TGF-beta دخالت دارد که این پروتئین در رشــد و نمو جفت و لانه گزینی جنین نقش دارد. دو عضو از خانواده این میکرو RNA شــامل MIR-17 و MIR-19b در اوایل حاملگی نقش دارند و کاهش بیان این دو در ســقط‌های ۳ ماهه اول به وفور دیده شــده است و احتمالاً این دو میکرو RNA در مهاجرت و لانه گزینی نقش دارند. در یک مطالعه که در مورد ارتباط این پلی مورفسیم ها با سقط خودبخودی در جمعیت ایرانی انجام شــد، نقش این پلی مورفسیم را در سقط نشان داد [۳۷].

پلی مورفســیم در ژن miRNA-27a: یک مطالعه که در زنان کره ای انجام شــد، ارتباط معنــا داری بین برخی ژنوتیپ هــای rs895819 در ژن MIR-27a و ســطح فولات پلاسما نشان داد. افزایش فولات نقش محافظتی در

23- Mifepristone

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

جلوگیری از سقط جنین دارد، این میکرو RNA به واسطه سطح فولات پلاسما می‌تواند در سقط مؤثر باشد [۳۸]. در مطالعه دیگری نیز ارتباط این پلی مورفسیم با سقط جنین در زنان چینی انجام شد و مشخص شد برخی از ژنوتیپ‌های این ژن با افزایش سقط خودبخودی نقش دارد [۳۹].

پلی مورفسیم در ژن‌های MIR-146a و MIR-149 و MIR-196a2 و MIR-499: بررسی‌ها نشان داده است که افزایش بیان MIR-196a2 بر بیان ژن‌های خانواده HOX و مسیر پیام رسانی Akt مؤثر است که می‌توانند در ایجاد سقط مؤثر باشند. ژن‌های این خانواده در روند لانه گزینی جنین بسیار نقش مهمی دارند. HOXB8 یکی از ژن‌های هدف MIR-196a2 می‌باشد. ژن هدف اصلی برای MIR-499، مهار کننده رونویسی ژن SOX6 می‌باشد و بیان FGF3 را سرکوب می‌کند و این ژن‌ها با سرطان سینه ارتباط دارند. مطالعات نشان داده که MIR-196a2 و MIR-499 با سقط‌های خودبخودی ارتباط دارند و این میکرو RNAها با TP53 و MDM2 نیز ارتباط دارند و در فرآیندهای مختلف سلولی تأثیر دارند. بیان MIR-146a بیان ژن Fas را تنظیم می‌کند. بیان MIR-146a توسط مسیر NF kB تنظیم می‌شود. یکی از ژن‌های هدف مهم MIR-146a ژن SMAD4 می‌باشد که نقش مهمی در عدم تمایز سلول‌های بنیادی رویان به عهده دارد و این کار را به وسیله p21/WAF1/Cip1 انجام می‌دهد. یکی دیگر از ژن‌های هدف MIR-146a ژن Akt و E2F می‌باشد که در سیکل سلولی و رشد نقش دارند. مطالعات زیادی به بررسی ارتباط MIR-146a، MIR-196a2، MIR-149 و MIR-499 با سقط جنین پرداخته‌اند. یکی از این مطالعات در زنان هندی انجام شده و ارتباط MIR-146 و MIR-196a2 با افزایش سقط مشخص شده است [۴۰]. دو مطالعه دیگر نیز در مورد ارتباط این میکرو RNA ها با سقط جنین در زنان کره ای انجام شده است و نقش این میکرو RNA ها در سقط خودبخودی جنین نشان داده‌اند [۴۲ و ۴۱]. هم‌چنین مطالعاتی در مورد ارتباط این میکرو RNA با نقایص لانه گزینی و تخمک گذاری در زنان کره این انجام شده و ارتباط آن‌ها نشان داده شده است [۴۴ و ۴۳]. ارتباط MIR-196a2 با سقط خودبخودی جنین در جمعیت ایرانی نیز انجام شده و مشخص شد که این میکرو RNA ها با ایجاد ناهنجاری‌های ژنتیکی می‌توانند در افزایش سقط خودبخودی جنین مؤثر باشند [۴۵].

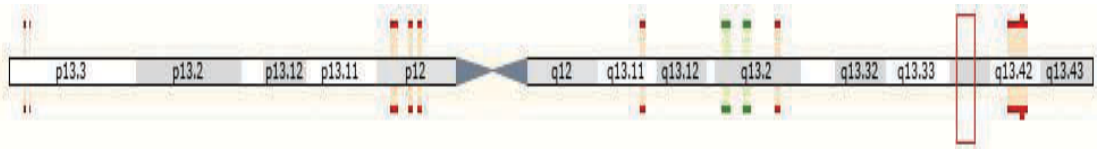
پلی مورفسیم MIR-34a-3p/5p, MIR-141-3p/5p, and MIR-24: بررسی‌ها نشان داده که 5 میکرو RNA شامل MIR-34a، MIR-155، MIR-141، MIR-125a و MIR-125b در زنان مبتلا به سقط خودبخودی جنین دچار افزایش بیان و MIR-24 دچار کاهش بیان شده است. MIR-34a-3p/5p, MIR-141-3p/5p, MIR-24 ژن‌های هدف زیادی دارند و با مسیرهای پیام رسانی PI3K-Akt،focal adhesion, MAPK, Wnt،TGF-B، تنظیم اکتین اسکلت سلولی، گیرنده‌های سلول‌های T و مسیر پیام رسانی استروژن در ارتباط هستند و این مسیرها می‌توانند در سقط‌های خودبخودی مؤثر باشند. خانواده MIR-34 به طور مستقیم P53 را تنظیم می‌کند و در آپوپتوز و تکثیر سلولی نقش دارد، ارتباط P53 با سقط‌های خودبخودی مشخص شده است و در بیماران مبتلا به سقط بیان بالای P53 دیده شده است. مطالعات دیگر نیز نشان داده است که MIR-141 ممکن است با در رشد و تکثیر سلولی و آپوپتوز به وسیله کاهش بیان PTEN مؤثر باشد و MIR-141 نقش مهمی در لانه گزینی رویان دارد. بیان MIR-24 در افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک دچار اختلال می‌شود و همراه با سایر عوارض حاملگی می‌باشد. علاوه بر این MIR-24 باعث کاهش بیان Myc می‌شود که یک فاکتور کلیدی در لانه گزینی رویان می‌باشد. در یک مطالعه ارتباط پلی مورفسیم های MIR-34a-3p/5p,MIR-141-3p/5p,MIR-24 در جمعیت چینی با سقط خودبخودی بررسی شد و مشخص شد که این پلی مورفسیم ها می‌توانند به عنوان یک مارکر زیستی برای پیشگیری از سقط‌های خودبخودی استفاده شوند [۴۶].

MIR-125: ژن MIR-125a در ناحیه کروموزومی 19q13.41 واقع شده است و با ژن‌های MIR-99B و

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

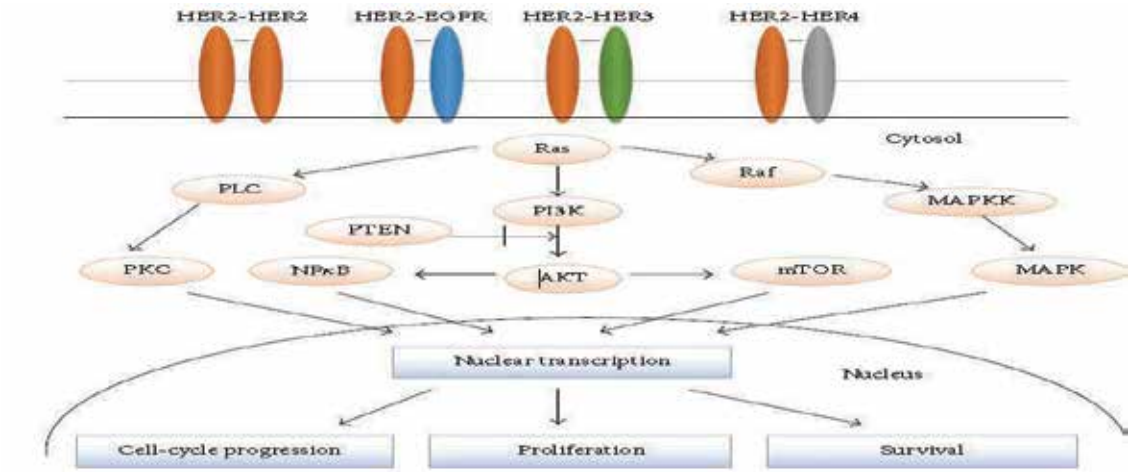
MIR-let7e در یک خوشه ژنی قرار دارد [۴۷]. تأثیر MIR-125a روی فرآیندهایی نظیر مرگ سلولی[۲۴] و رشد سلولی از طریق مسیرهای وابسته به P53 انجام می‌شود [۴۸]. دو ژن هدف MIR-125a شامل ERBB2 و LIF می‌باشد، در حاملگی‌های عادی ژن LIF در رشد و تمایز سلول‌های تروفوبلاست در جفت نقش دارد. LIF بر روی سلول‌ها به واسطه اتصال هترودایمری به LIFR عمل می‌کند و شامل دو پروتئین LIFR و gp130 می‌باشد. همچنین LIFR به عنوان محرک مسیرهای سیگنالینگ Jak/StAT,MAPK,P13-kinase عمل می‌کند. ERBB2 فاکتور رشد اپیدرمی است و تکثیر و تمایز سلول‌های تروفوبلاست در جفت را در مرحله پس از لانه گزینی تنظیم می‌کند. همچنین رگ زایی و تهاجم را با افزایش VEGF افزایش می‌دهد [۴۹]. شکل ۳ نمایی شماتیک از محل قرارگیری ژنMIR-125a را بر روی کروموزوم ۱۹ انسان نشان می‌دهد.



شکل ۳ - موقعیت کروموزومی ژن MIR-125a بر روی کروموزوم ۱۹ انسان از پایگاه NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov)

❑ ERBB2

این ژن جز خانواده گیرنده‌های فاکتور رشد اپیدرمی انسان (HER) می‌باشد. که شامل ۴ عضو HER1-4 است. اعضای این خانواده در تنظیم رشد و نمو و تمایز از طریق برخی از مسیرهای پیام رسانی فعالیت می‌کنند [۵۰]. به دلیل این که اولین بار در اریتروبلاست های مرغ کشف شد به نام ERBB2 نیز نامیده می‌شوند [۵۱]. اعضای این خانواده می‌توانند مسیرهای MAPK، PI3K/Akt، PKCفعال نمایند که همه این مسیرها در فرآیندهای رشد و نمو، تمایز و تهاجم نقش دارند. در صورت بیان بیش از حد، ERBB2 می‌تواند حتی در عدم حضور لیگاند فعال شود و تنظیم مسیرهای رشد را مختل نماید [۵۲]. شکل ۸-۱ تعامل آن را با مسیرهای پیام رسانی نشان می‌دهد.



شکل ۴- عملکرد و ارتباط ERBB2 با مسیرهای پیام رسانی سلولی

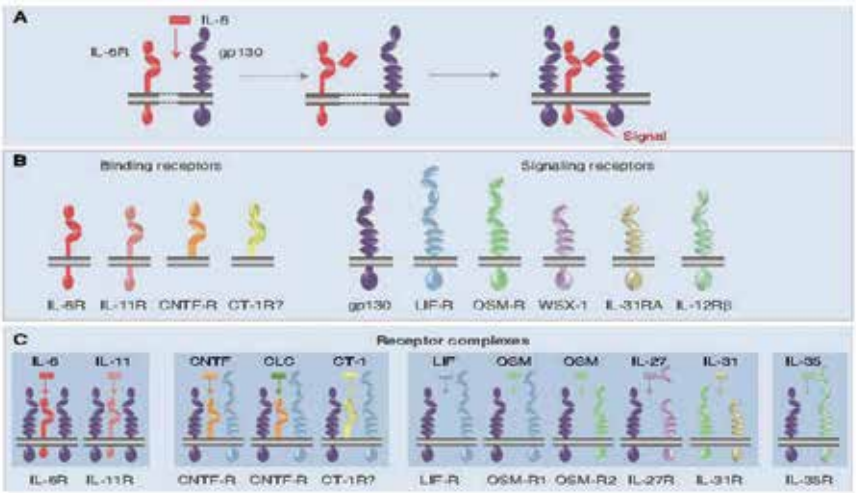
24- Apoptosis

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

(هترودایمریزاسیون گیرنده‌های HER سبب فعال سازی مسیرهای پیام رسانی PI3/Akt و MAPK می‌شود که در تکثیر، تمایز و رشد سلولی نقش مهمی دارند) [۵۳].

❑ LIF [25]

LIF عضو خانواده اینترلوکین ۶ می‌باشد. سیتوکین‌های خانواده اینترلوکین ۶ (IL-6) گروهی از سیتوکین‌های متشکل از IL-6، IL-11، فاکتور نوروتروفیک مویی (CNTF)[۲۶]، عامل مهارکننده لوسمی (LIF)، انکوستاتین[۲۷] (OSM)، کاردیوتروفین-۱ [۲۸] (CT-1)، کاردیوتروفین سیتوکین مانند (CLC) [۲۹] و IL-27 است. شکل ۵ اعضای این خانواده را نشان می‌دهد [۵۴].



شکل ۵: اعضای خانواده اینترلوکین ۶: اعضای این خانواده هر کدام حاوی دو بخش می‌باشند که شامل یک گیرنده اتصال دهنده و یک گیرنده سیگنال می‌باشند و اتصال این دو جزء با هم کمپلس گیرنده را ایجاد می‌نماید، جهت توضیحات بیشتر به متن مراجعه شود [۵۴].

همه این سیتوکین ها عضو یک خانواده هستند زیرا گیرنده هر سیتوکین شامل یکی از اعضای این خانواده (IL-11 و IL-6) و زیر واحد gp130 می‌باشند. اعضای این خانواده در فرآیندهایی مثل واکنش فاز حاد کبدی[۳۰]، در تحریک سلول B[۳۱]، در تنظیم تعادل سلول‌ها بین سلول‌های تنظیم کننده، در تنظیمات متابولیکی و عملکردهای غیر طبیعی دیگر نقش دارند. از بین رفتن فعالیت‌های این خانواده منجر به بیماری‌های خود ایمنی می‌شود. سطح اینترلوکین های ۶ در طی التهاب بسیار افزایش پیدا می‌کند. IL-6 و sIL-6 می‌توانند به gp130 متصل شوند. پس gp130 و sIL-6 می‌توانند به عنوان بافر در خون عمل نمایند، زیرا gp130 توسط بسیاری از

25- Leukemia Inhibitory Factor
26- Ciliary NeuroTrophic Factor
27- OncoStatin M
28- Cardiotrophin
29- Cardiotrophin-Like cytokine
30- Hepatic acute phase reaction
31- B-cell stimulation

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

سلول‌ها تولید می‌شـــود و در صورت اتصال IL-6 منجر به ایجاد التهاب می‌شود ولی اتصال sIL-6 به gp130 منجر به خنثی کردن فعالیت بیش از حد IL-6 در شـــرایط غیر التهابی می‌شود. اعضای این خانواده به عنوان محرک مسیر JAK-StATE عمـــل می‌کنند. شـــکل ۱-۱۰ این نقش بافری را نشان می‌دهد [۵۴].

❑ مسیر پیام رسانی JAK-StATE

این مســـیر در بســـیاری از فرآیندهای سلولی نقش دارد. در بارداری و اوایل رشـــد و نمو جنین، باعث حفاظت جنین می‌شـــود. در بیرون از اپی بلاست فعال شدن این مسیر نیاز نیســـت و فعال شـــدن آن می‌تواند باعث آسیب به جنین و همچنین سقط آن شود، زیرا مانع پیشرفت گاسترولاسیون می‌شـــود. این مســـیر یکی از اصلی‌ترین مسیرهای تنظیم کننده رونویســـی است. فعال شدن بیش از حد آن می‌تواند منجر به بدخیمی شـــود و برای جلوگیری از ایجاد بدخیمی این مسیر خاموش می‌شـــود و دیگر قادر به فعالیت نیست [۵۵].

چند شـــکلی rs12976445 کـــه در MIR-125a رخ می‌دهد باعث کاهش بیان MIR-125a بالغ می‌شـــود، در نتیجه ژن‌های هدف آن که LIF و ERBB2 می‌باشند دچار افزایش بیان می‌شوند. بیان اکتوپیک و نابجای LIFR تقریباً فعالیت LIF را متوقف کرده و باعث اختلال در رشد و تمایز در مرحله پس از لانه گزینی می‌شود. همچنین بیان اکتوپیک ERBB2 ممکن اســـت باعث ســـنتز بیش از حد VEGF در اســـتروما و تروفوبلاســـت می‌شـــود که منجر به تهاجم و رشد نابجای ســـلول‌های تروفوبلاست می‌شود [۴۹].این چند شکلی شـــامل تغییر نوکلئوتید C به T اســـت و ۱۵ نوکلئوتید پاییـــن دســـت pri-MIR-125a و ۶۸ نوکلوئیـــد بالادســـت MIR-125a 5p می‌باشـــد [۴۷]. ارتباط این چند شـــکلی با سقط جنین در برخی جمعیت‌ها بررسی شده است و ارتباط آن با سقط مکرر خودبخودی به اثبات رسیده است [۵۶ و ۴۹].

Reference SNP (refSNP) Cluster Report: rs12976445

RefSNP	
Organism:	human (*Homo sapiens*)
Molecule Type:	Genomic
Created/Updated in build:	121/151
Map to Genome Build:	108/Weight 1
Validation Status:	
Citation:	PubMed LitVar NEW

Allele	
Variation Class:	SNV: single nucleotide variation
RefSNP Alleles:	C/T (FWD)
Allele Origin:	
Ancestral Allele:	C
Variation Viewer:	VarView
Clinical Significance:	NA
MAF/MinorAlleleCount:	T=0.4349/2178 (1000 Genomes) C=0.4277/1953 (GO-ESP) C=0.4698/58998 (TOPMED)

شکل ۶ اطلاعات آللی مارکر rs12976445 به دست آمده از پایگاه NCBI (https://www.ncbi.nlm.nih.gov)(آلل C به عنوان آلل نژادی می‌باشد)

❑ نتیجه گیری

میکـــرو RNA هـــا در تنظیـــم فرآیندهـــای مختلـــف رشـــد و تمایـــز دخالـــت دارنـــد و هرگونـــه اختـــلال در ســـنتز، بیان یـــا عملکـــرد میکـــرو RNA هـــا می‌تواند باعـــث بیماری‌های مختلـــف از جمله ســـقط‌های جنین و حتی ناباروری شود.

تغییرات تـــک نوکلئوتیدی که در ژن‌های رمز کننده این میکرو RNA هـــا رخ می‌دهد باعث تغییـــر در بیان آن‌ها می‌شود و این موضوع نقش این ترکیبات را برجسته نموده اســـت و به دلیل این که در شرایط پاتولوژیک مختلف بیان ایـــن میکرو RNA ها دچار تغییرات مختلفی می‌شـــود، از این‌رو بررســـی تغییرات بیان میکرو RNA ها می‌تواند به عنوان مارکرهای زیســـتی برای تشـــخیص، پیشگیری و یا درمان سقط جنین مورد توجه قرار گیرد.

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

References

1- A. Garcıa-Enguıdanosa, M.E.C., J. Valeroc, S. Lunaa, V. Domınguez-Rojas (2001). Risk factors in miscarriage: a review. Reproductive Biology 102, 111-119.

2- Vallian Borujeni, S. (2014). Assessment of recurrent miscarriage and the importance of genetic factors. Laboratory Quarterly and Diagnosis 25, 36-41.

3- Rasch, V. (2003). Cigarette, alcohol, and caffeine consumption: risk factors for spontaneous abortion. Acta Obstet Gynecol Scand 82, 182-188.

4-Kutteh, W.H. (2014). Recurrent pregnancy loss. Obstet Gynecol Clin North Am 41, xi-xiii.

5-Kutteh, W.H. (2015). Novel strategies for the management of recurrent pregnancy loss. Semin Reprod Med 33, 161-168.

6-Shahine, L., and Lathi, R. (2015). Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. Obstet Gynecol Clin North Am 42, 117-134.

7-M. B. Khadzhieva, N.N.L., I. V. Volodin, K. V. Morozova, L. E. Salnikova. (2014). Association of oxidative stress-related genes with idiopathic recurrent miscarriage. Free Radical Research 48, 534–541.

8-Holly B. Ford, D.J.S. (2009). Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis, and Therapy. Obstetrics and Gynecology 2 76-83.

9-Johnstone, Y.I.a.E. (2018). The male contribution to recurrent pregnancy loss. Transl Androl Urol 7, 317-327.

10-Harvey A. Risch, N.S.W., E. Aileen Clarke and Anthony N. Miller (1988). Risk factors for spontaneous abortion and its recurrence. American Journal of Epidemiology 128, 420-430.

11-Lathi, L.S.a.R. (2015). Recurrent pregnancy loss: evaluation and treatment. Obstet Gynecol Clin North Am 42, 117-134.

12-Vidya A. Tamhankar, B.L., Junhao Yan, Tin-Chiu Li. (2015). A Comparison of Pattern of Pregnancy Loss in Women with Infertility Undergoing IVF and Women with Unexplained Recurrent Miscarriages Who Conceive Spontaneously. Obstetrics and Gynecology International 2015, 1-6.

13-al., L.D.e. (2016). Association of miR-34a-3p/5p, miR-141-3p/5p, and miR-24 in Decidual Natural Killer Cells with Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. Clinical Reserch 22, 922-929.

14-S Feodor Nilsson, P.A., K Strandberg-Larsen and A-M Nybo Andersen (2014). Risk factors for miscarriage from a prevention perspective: a nationwide follow-up study. Obstetricians and Gynaecologists 121, 1375-1384.

15-N Maconochie, P.D., S Prior, R Simmons (2006). Risk factors for first trimester miscarriage—results from a UK-population-based case–control study. Obstetrics and Gynaecology, 170-186.

16-Yoontae Lee, M.K., Jinju Han, Kyu-Hyun Yeom, Sanghyuk Lee, Sung Hee Baek and V Narry Kim (2004). MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. The EMBO 23, 4051-4060.

17-Gregory, S.L.a.R.I. (2015). MicroRNA biogenesis pathways in cancer. Nature reviews cancer. 15, 321-333.

18-Han J, L.Y., Yeom K-H, Nam J-W, Heo I, Rhee J-K, et al. (2006). Molecular basis for the recognition of primary microRNAs by the Drosha-DGCR8 complex. Cell 125, 887-901.

19-Heo I, H.M., Lim J, Yoon M-J, Park J-E, Kwon SC and et al. (2012). Mono-uridylation of pre-microRNA as a key step in the biogenesis of group II let-7 microRNAs. Cell 151, 521-532.

20-Lee HY, D.J. (2012). TRBP alters human precursor microRNA processing in vitro. RNA 18, 2012-2019.

21-Kim Y, Y.J., Lee JH, Cho J, Seo D, Kim J-S, et al. (2014). Deletion of human tarbp2 reveals cellular microRNA targets

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

and cell-cycle function of TRBP. Cell reports. 9, 1061-1074.

22-Seyed Mohammad Amin Kormi, S.A., Amir Azizi, Mina Bakhshali Nezhad, Samaneh Heidarzade, Fatemeh Karimi, Pedram Zolfaghari (2017). MicroRNA and Cancer Treatment: A Commentary. Cancer Press 3, 13-15.

23-Dragos Cretoiu, J.X., Junjie Xiao, Nicolae Suciu and Sanda Maria Cretoiu (2016). Circulating MicroRNAs as Potential Molecular Biomarkers in Pathophysiological Evolution of Pregnancy. Disease Markers 2016, 1-7.

24-Martina Barchitta, A.M., Annalisa Quattrocchi, Ottavia Agrifoglio, and Antonella Agodi (2017). The Role of miRNAs as Biomarkers for Pregnancy Outcomes: A Comprehensive Review. International Journal of Genomics 2017, 1-12.

25-Lujambio A, L.S.W. (2012). The microcosmos of cancer. Nature 482, 347-355.

26-Davis-Dusenbery BN, H.A. (2010). Mechanisms of control of microRNA biogenesis. The journal of biochemistry 148, 381-392.

27-Im H-I, K.P.J. (2012). MicroRNAs in neuronal function and dysfunction. Trends in neurosciences 35, 325-334.

28-Lujambio A, C.G., Villanueva A, Ropero S, Sánchez-Céspedes M, Blanco D, et al. (2008). A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis Proceedings of the national academy of sciences. 105, 1356-1361.

29-Yufeng Qin, Y.X., Wei Wu, Xiumei Han, Chuncheng Lu, Guixiang Ji, Daozhen Chen, Honghua Wang, Ling Song, Shoulin Wang, Xinru Wang (2012). Genetic variants in microRNA biogenesis pathway genes are associated with semen quality in a Han-Chinese population. Reprod Biomed Online 24, 454-461.

30-Jung, Y.W., Jeon, Y.J., Rah, H., Kim, J.H., Shin, J.E., Choi, D.H., Cha, S.H., and Kim, N.K. (2014). Genetic variants in microRNA machinery genes are associated [corrected] with idiopathic recurrent pregnancy loss risk. PLoS One 9, e95803.

31-Ryan B. M, R.A.I., Harris C. C (2010). Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research. Nature reviews cancer 10, 389-402.

32-Rezaei H, V.S. (2011). BanI/D13S141/D13S175 represents a novel informative haplotype at the GJB2 gene region in the Iranian population. Cellular and molecular neurobiology 31, 749-754.

33-Fazeli Z, V.S. (2012). Phylogenetic relationship analysis of Iranians and other world populations using allele frequencies at 12 polymorphic markers. Molecular biology reports 39, 11187-11199.

34-Sedghi M, V.S. (2016). D5S351 and D5S1414 located at the spinal muscular atrophy critical region represent novel informative markers in the Iranian population. Meta gene 7, 9-16.

35-Ying Li1, C.-M.L., Xue-Qin Wang, Xu Ma, Lu Zhang, Xiao-Dan Lv, Xing Su, Shi Tian, Hong-Fei Xia (2016). A SNP in pri-miR-10a is associated with recurrent spontaneous abortion in a Han-Chinese population. Oncotarget 7, 8208-8222.

36- Xing Su, Y., Ying Li, Jing-Li Cao, Xue-Qin Wang, Xu Ma and Hong-Fei Xia (2015). The polymorphism of rs6505162 in the MIR423 coding region and recurrent pregnancy loss. Reproduction 150, 65-76.

37-Fatemeh Shakarami, R.M., Shohreh Zare Karizi and Hanieh Zare (2016). MIR17HG Gene Polymorphism and the Risk of Recurrent Spontaneous Abortion. Gene Cell Tissue 3, 1-4.

38-HyungChul Rah, K.W.C., Ki Han Ko, Eun Sun Kim, Jung Oh Kim, Jung Hyun Sakong, Ji Hyang Kim, Woo Sik Lee and Nam Keun Kim (2017). miR-27a and miR-449b polymorphisms associated with a risk of idiopathic recurrent pregnancy loss. PLoS One 12, 1-14.

39-Chun-Yan Wang, S.-G.W., Jia-Li Wang, Li-Ying Zhou, Hong-Jun Liu and Yi-Feng Wang (2016). Effect of miRNA-27a and Leptin Polymorphisms on Risk of Recurrent Spontaneous Abortion. Clinical Reserch 22, 3514-3522.

40-Agrawal, F.P.a.S. (2015). Recurrent miscarriage and micro-RNA among north Indian women. Reproductive Sciences 22, 410-415.

Downloaded from labdiagnosis.ir at 0:32 +0430 on Friday July 19th 2019

41-Young Joo Jeon, Y.S.C., HyungChul Rah, Su Yeoun Kim, Dong Hee Choi, Sun Hee Cha, Ji Eun Shin, Sung Han Shim, Woo Sik Lee and Nam Keun Kim (2012). Association study of microRNA polymorphisms with risk of idiopathic recurrent spontaneous abortion in Korean women. Gene 494, 168-173.

42-Young Joo Jeon, S.Y.K., HyungChul Rah, Dong Hee Choi, Sun Hee Cha, Tae Ki Yoon, Woo Sik Lee, Sung Han Shim and Nam Keun Kim (2012). Association of the miR-146aC>G, miR-149T>C, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of spontaneously aborted fetuses. American Journal of Reproductive Immunology 68, 408-417.

43-HyungChul Rah, D., Young Joo Jeon, Sung Han Shim, Sun Hee Cha, Dong Hee Choi, Hwang Kwon, Ji Hyang Kim, Ji Eun Shin and Nam Keun Kim (2013). Association of miR-146aC>G, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of premature ovarian failure in Korean women. Reproductive Sciences 20, 60-68.

44-Sung Hwan Cho, K.W.C., Jung Oh Kim, Hyogeun Jang, Jung Ki Yoo, Youngsok Choi, Jung Jae Ko, Ji Hyang Kim, Yoshihiro Nishi, Toshihiko Yanase, Woo Sik Lee and Nam Keun Kim (2016). Association of miR-146aC>G, miR-149C>T, miR-196a2T>C, and miR-499A>G polymorphisms with risk of recurrent implantation failure in Korean women. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 202, 9-14.

45-Mona Amin-Beidokhti, R.M., Shohreh Zare-Karizi, Fatemeh Karamaldin, Mir Davood Omrani, Naser salsabili (2015). To Study the Association of miR-196a2 rs11614913 Polymorphism with the Risk of Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss. Arak Medical University Journal (AMUJ) 18, 11-17.

46-al., L.D.a.e. (2016). Association of miR-34a-3p/5p, miR-141-3p/5p, and miR-24 in Decidual Natural Killer Cells with Unexplained Recurrent Spontaneous Abortion. Med Sci Monit 22, 922-929.

47-Lehmann T. P, K.K., Ibbs M, Zawierucha P, Grodecka-Gazdecka S, Jagodziński P. P (2013). rs12976445 variant in the pri-miR-125a correlates with a lower level of hsa-miR-125a and ERBB2 overexpression in breast cancer patients. Oncology letters 5, 569-573.

48-Leotta M, B.L., Raimondi L, Ronchetti D, Di Martino MT, Botta C, et al. (2014). A p53-Dependent Tumor Suppressor Network Is Induced by Selective miR-125a-5p Inhibition in Multiple Myeloma Cells. Journal of cellular physiology 229, 2106-2116.

49-Yi Hu, C.-M.L., Lu Qi, Tian-Zhu He, Liu Shi-Guo, Chan-Juan Hao, Yi Cui, Ning Zhang, Hong-Fei Xia and Xu Ma (2011). Two common SNPs in pri-miR-125a alter the mature miRNA expression and associate with recurrent pregnancy loss in a Han-Chinese population. RNA Biol 8, 861-872.

50-Mitri Z, C.T., O'Regan R. (2012). The HER2 receptor in breast cancer: pathophysiology, clinical use, and new advances in therapy.. Chemotherapy research and practice 20, 1-8.

51-Schechter AL, S.D., Vaidyanathan L, Decker SJ, Drebin JA, Greene MI, et al (1984). The neu oncogene: an erb-B-related gene encoding a 185,000-Mr tumour antigen. Nature 312, 513-516.

52-Y., Y. (2001). Biology of HER2 and its importance in breast cancer. Oncology letters 61, 1-13.

53-Iqbal, N.I.a.N. (2014). Human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications.. Molecular biology international. 2012, 1-10.

54-Rose-John, S. (2017). Interleukin-6 Family Cytokines. Cold Spring Harb Perspect Biol 10, 1-18.

55-Zandstra, K.O.a.P.W. (2015). LIF signaling in stem cells and development. Development 142, 2230-2236.

56-Yi Hu1, Z.-H.H., Chun-Mei Liu, Shi-Guo Liu, Ning Zhang, Kun-Lun Yin, Lu Qi,XuMa and Hong-Fei Xia (2014). Functional study of one nucleotide mutation in pri-miR-125a coding region which related to recurrent pregnancy loss. PLoS One 9, e114781.