بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 با خطر بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک در زنان جنوب ایران

رخشان امیری جهرمی[۱]، محبوبه نصیری[۱*]

۱) گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

تاریخ دریافت:۹۵/۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۷

چکیده

مقدمه: سقط مکرر به از دست رفتن دو یا تعداد بیشتر بارداری قبل از هفته بیستم اطلاق می شود. منشاء سقط مکرر در ۵۰ درصد موارد نامشخص می باشد، که به چنین مواردی سقط مکرر ایدیوپاتیک می گویند. آسیب های رویان با منشاء ایمنی نقش قابل توجهی در ایجاد سقط های مکرر ایفا می کنند. فاکتور تنظیمی اینترفرون-۵ (IRF-5) عضوی از خانواده IRF می باشد که تنظیم کننده بالادستی سیتوکین های التهابی مانند اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور نکروز کننده تومور آلفا(TNF-α) می باشد. هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 با احتمال وقوع سقط مکرر ایدیوپاتیک می باشد.

مواد و روش ها: در مطالعه مورد-شاهدی حاضر، نمونه خون از ۱۷۶ زن دارای حداقل ۲ سقط جنین ایدیوپاتیک با میانگین سن: ۳۴/۲±۱۰/۹ سال به عنوان گروه بیمار و ۱۷۳ زن سالم یائسه و حداقل صاحب ۲ فرزند سالم و بدون هیچ گونه سابقه سقط(میانگین سن ۵۶/۵±۷/۷ سال) به عنوان گروه کنترل، تهیه گردید. آنالیز ژنوتیپ با روش T-ARMS PCR انجام گرفت. نتایج با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ آنالیز شدند.

یافته های پژوهش: فراوانی آلل G در گروه بیمار کمتر از گروه کنترل بود. این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود و از نقش حفاظتی این آلل در برابر ریسک بروز سقط حمایت کرد(OR:0.7, 95% CI:0.5-0.9, P=0.04). فراوانی ژنوتیپ های حامل آلل G (GG+GA) در زنان مبتلا به سقط کمتر از زنان گروه کنترل بود و این ژنوتیپ ها نقش حفاظتی در برابر بروز سقط نشان دادند(OR:0.45, 95% CI:0.22-0.91, P=0.02).

بحث و نتیجه گیری: بر اساس یافته های این پژوهش می توان گفت حضور آلل G در ارتباط با پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 یک عامل محافظت کننده در برابر سقط مکرر در زنان ایران می باشد.

واژه های کلیدی: سقط مکرر ایدیوپاتیک، پلی مورفیسم، ژن IRF-5، ایران

*نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران

Email: nasiri@iaua.ac.ir

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

مقدمه

سقط جنین مکرر به حالتی اطلاق می گردد که حداقل ۲ بارداری و یا بیشتر پیش از هفته بیستم به سقط خاتمه یابد(۱). سقط مکرر در حدود ۱ درصد از زوج هایی که قصد بچه دار شدن دارند، رخ می دهد(۲). سقط مکرر اولیه به وضعیتی اطلاق می شود که مبتلایان تولد بچه زنده ای را تجربه نکرده باشند، در حالی که خانمی با سقط مکرر ثانویه سابقه تولد حداقل یک بچه زنده را دارد(۳). عوامل مختلفی در روند ایجاد این عارضه سهیم می باشند که از جمله آن ها می توان به سن مادر، تعداد سقط های قبلی، سندرم آنتی فسفولیپید، عوامل ژنتیکی، ناهنجاری های آناتومیک دستگاه تولید مثلی، اختلالات اندوکرین، فاکتورهای ایمنی و عوامل عفونی اشاره کرد(۴). علی رغم گستردگی مطالعات انجام شده بر روی علل درگیر و مستعدکننده زنان برای عارضه سقط مکرر، در ۵۰ درصد موارد هنوز علت مشخصی برای سقط شناسایی نشده است که به چنین وضعیتی سقط جنین با منشاء ناشناخته(ایدیوپاتیک) گفته می شود(۵). با توجه به ماهیت سمی آلوگرافت جنین، اخیراً پاسخ سیستم ایمنی مادر به عنوان یکی از مکانیسم های عملکردی در بروز سقط پیشنهاد شده است(۶). سلول های T کمکی(Th) اجزای اصلی واکنش های ایمنی سلولی محسوب می شوند و دارای نقش آنتاگونیستی در بارداری می باشند. سلول های Th-1 با ترشح سیتوکین های التهابی مانند اینترفرون، TNF-α/β و IL-6 مسئول پاسخ های التهابی هستند، در حالی که سلول های Th-2 با ترشح سیتوکین های ضد التهابی شامل IL-10 و IL-12 خاصیت ضد التهابی دارند و در پیشبرد حاملگی موفق دخالت دارند(۷). سلول های Th-17 با ترشح سیتوکین التهابی IL-17 نقش مهمی در ایجاد پاسخ های التهابی از طریق تحریک سیتوکین های التهابی دارند و به طور مستقیم تحت کنترل اینترلوکین-۶ (IL-6) القاء می شوند(۸).

فاکتورهای تنظیمی اینترفرون(IRFs) شامل خانواده ای متشکل از ۹ فاکتور رونویسی(IRF1-9) می باشند که نقش اساسی در تنظیم بیان سیتوکین های التهابی دارند. بیان دقیق IRF های خاص در سلول های ایمنی متفاوت اجازه اثرات اختصاصی-سلولی را می دهد. IRF-5 یک فاکتور رونویسی در مسیر اینترفرون تیپ ۱ است که توسط اینترفرون آلفا/بتا(IFNα/β) فعال شده و بیان سایر ژن های وابسته به اینترفرون، سیتوکین های التهابی مانند فاکتور نکروز کننده تومور آلفا(TNFα)، IL-6، و IL-12 و ژن های درگیر در مسیر آپوپتوز، چرخه سلولی و اتصال سلول ها و مهم تر از همه خود IFNα/β را تنظیم می کند که همگی در بروز بیماری های خود ایمنی نقش اساسی را ایفا می کنند(۹). بنا بر این با توجه به نقش IRF-5 در القای تکثیر سلول های Th-1 و Th-17 و عدم تاثیر آن روی سلول های Th-2(۱۰)، القای فرآیندهای التهابی محتمل ترین مکانیسم اثر IRF-5 در پاتوژنز سقط به نظر می رسد. ژن کدکننده فاکتور IRF-5 بر روی بازوی بلند کروموزوم ۷ در موقعیت سیتوژنتیکی 7q32 قرار گرفته است. این ژن به طور عمده در سلول های دندریتیک، منوسیت و سلول های B بیان می شود و در غیاب محرک های فعال کننده عمدتاً در سیتوپلاسم قرار دارد(۱۱). پلی مورفیسم های عملکردی متعددی در ژن IRF-5 شامل rs2004640 (واریانت اینترون ۱)، rs2280714 (واریانت پایین دستی ناحیه '۳ ترجمه نشونده) و rs10954213 (واریانت '۳ ترجمه نشونده) وجود دارد که می توانند با تغییر الگوی بیان ژن و تغییر در توازن سیتوکینی سلول در ایجاد پاسخ های التهابی و ایمونولوژیک نقش داشته باشند(۱۳،۱۲). بر اساس نتایج حاصل از مطالعه بیان ژن، مشخص شده است که پلی مورفیسم rs10954213A بیشترین تاثیر را روی سطح بیان ژن IRF-5 دارد(۱۴).

در این مطالعه با توجه به اهمیت ژن IRF-5 در تنظیم پاسخ های ایمنی و اهمیت واکنش های ایمونولوژیک در بیماری زایی سقط جنین مکرر، برای اولین بار ارتباط پلی مورفیسم عملکردی rs10954213 در ناحیه '۳ ترجمه نشونده ژن IRF-5 و بروز سقط جنین مکرر ایدیوپاتیک مورد بررسی قرار گرفته است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

مواد و روش ها

جمعیت مورد مطالعه: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۷۶ زن با سابقه ۲ سقط و بیشتر که منشاء آن توسط متخصص زنان و زایمان ناشناخته اعلام شده بود گروه بیمار را تشکل داد. به منظور اطمینان از عدم وقوع سقط های آتی در زنان گروه کنترل، ۱۷۳ زن یائسه سالم که حداقل دارای ۲ فرزند سالم و بدون هیچ گونه سابقه سقط بودند، برای بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 با ریسک بروز سقط مکرر مورد بررسی قرار گرفتند. معیارهای خروج از مطالعه شامل سایر علل مطرح در سقط از جمله وجود ناهنجاری های کروموزومی در والدین و جنین، مشکلات آناتومیکی رحم، اختلالات هورمونی و عفونت های مرتبط با سقط بود. تمام افراد شرکت کننده در تحقیق قبل از نمونه گیری فرم رضایت نامه مشارکت آگاهانه در طرح تحقیقاتی را تکمیل نمودند. اطلاعاتی مانند سن، سابقه خانوادگی سقط در مادر و یا خواهر، و تاریخچه بارداری(ها) از طریق مصاحبه حضوری با تمام افراد گروه بیمار و کنترل ثبت گردید.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ rs10954213: حدود ۵ سی سی نمونه خون محیطی از تمام زنان گروه کنترل و گروه بیمار گرفته شد و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA جمع آوری شدند و تا زمان شروع مرحله استخراج در فریزر ۲۰- نگه داری شدند. DNA ژنومی با روش استاندارد رسوب دهی با نمک اشباع استخراج گردید(۱۵). کیفیت DNA توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد تعیین شد. از روش Tetra primer ARMS PCR (T-ARMS PCR) جهت تعیین ژنوتیپ افراد استفاده گردید. در این روش از دو پرایمر خارجی(forward outer [FO], reverse outer [RO]) و غیر اختصاصی آلل که مکمل توالی دورتر از جایگاه پلی مورفیسم هستند و محصول PCR به طول ۵۴۱ جفت باز ایجاد می کنند، استفاده شد. محصول این جفت پرایمر به عنوان یک کنترل داخلی برای تایید انجام PCR می باشد. علاوه بر این، در هر تیوب دو پرایمر اختصاصی آلل نیز اضافه شد، که پرایمر اختصاصی آلل A محصول ۳۴۱ جفت بازی و پرایمر اختصاصی آلل G محصول ۲۱۹ جفت بازی تولید می کند. اختلاف اندازه محصولات حاصل از تکثیر دو پرایمر اختصاصی نوع ژنوتیپ را تعیین می کند. پرایمرهای مورد استفاده(جدول شماره ۱) با استفاده از نرم افزار آنلاین primer 1 طراحی شدند(۱۶). واکنش T-ARMS PCR در حجم نهایی ۱۲/۵ میکرولیتر و با مقادیر ارائه شده در مطالعه دیگری که در همین راستا صورت گرفته است، انجام شد(۱۷). محصولات PCR برای تعیین ژنوتیپ بر روی ژل آگارز ۲ درصد مورد بررسی قرار گرفتند.

آنالیز آماری: به منظور مقایسه متغیرهای کمی بین دو گروه بیمار و کنترل از آزمون t مستقل، و برای متغیرهای کیفی از آزمون مجذور خی پیرسون استفاده شد. فراوانی های آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم مورد مطالعه در دو گروه کنترل و بیمار محاسبه گردید و وجود یا عدم وجود اختلاف بین مقادیر مشاهده شده و مقادیر مورد انتظار بر اساس تعادل هاردی-واینبرگ در هر دو جمعیت با روش مجذور خی(χ^2 test) ارزیابی شد. تاثیر هر یک از ژنوتیپ های جایگاه پلی مورفیسم روی ریسک بروز سقط مکرر با آزمون رگرسیون لجستیک، نسبت شانس و فاصله اطمینان ۹۵ درصد ارزیابی شد. مقدار احتمال(P) کمتر از ۰/۰۵ به لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شده است. کلیه آنالیزهای آماری با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت.

یافته های پژوهش

در شکل شماره ۱ محصولات حاصل از تکثیر جایگاه مورد بررسی با روش T-ARMS PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد نشان داده شده است. باند ۵۴۱ جفت بازی که به عنوان کنترل داخلی عمل می نماید، صرف نظر از نوع ژنوتیپ افراد در تمام چاهک ها حضور دارد. پرایمر اختصاصی آلل A تولید محصول PCR به طول ۳۴۱ جفت باز و پرایمر اختصاصی آلل G تولید محصول PCR به طول ۲۱۹ جفت باز می‌نماید، بنا بر این به ترتیب ژنوتیپ های هموزیگوت AA، هتروزیگوت AG و هموزیگوت GG در چاهک های ۱-۳ دیده می شود(شکل شماره ۱).

در این مطالعه ۱۷۶ زن با سابقه حداقل ۲ سقط و با دامنه سنی ۸۵-۱۷ سال و میانگین سنی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

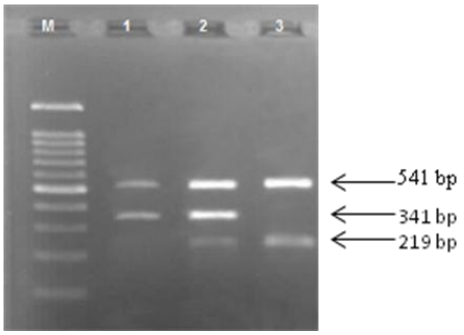
۳۴/۲±۱۰/۹ و ۱۷۳ زن سالم و یائسه و زنانی که قصد بچه دار شدن نداشتند و دارای حداقل ۲ بارداری موفق با دامنه سنی ۷۹-۳۳ و میانگین سنی ۵۶/۵±۷/۷ بودند، از نظر وضعیت ژنوتیپی جایگاه پلی مورفیسم rs10954213 در ژن IRF-5 مورد بررسی قرار گرفتند(جدول شماره ۲). نتایج بررسی تاثیر ریسک فاکتورهای سقط روی خطر بروز بیماری نشان داد وجود سابقه سقط در فامیل درجه اول(مادر، خواهر) به صورت مستقل از سن ریسک بروز سقط را افزایش می دهد(OR:3.4, 95% CI:1.5-7.7, P=0.003). تاثیر مصرف قرص های خوراکی ضد بارداری روی خطر بروز سقط وابسته به سن می باشد، به طوری که قبل از تعدیل آنالیزها برای سن، کاهش ریسک بروز بیماری مشاهده شد(OR:0.6, 95% CI:0.39-0.92, P=0.02)، اما بعد از تعدیل آنالیز برای سن تاثیر مشاهده شده از بین رفت(OR:1.02, 95% CI:0.5-2, P=0.95)(جدول شماره ۳).

فراوانی آلل شایع A به ترتیب در زنان سالم و بیمار ۰/۷۰ و ۰/۷۷ برآورد گردید. فراوانی آلل پلی مورف G در زنان سالم و بیمار به ترتیب ۰/۳۰ و ۰/۲۳ برآورد شد. بر اساس نتایج آنالیز آماری مشخص شد که آلل G خطر بروز سقط را کاهش می دهد(OR:0.7, 95% CI:0.5-0.9, P=0.04). در سطح ژنوتیپی، اختلاف معنی داری بین فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت GA بین دو گروه کنترل و بیمار مشاهده شد، و مشخص شد که وضعیت هتروزیگوت ریسک بروز بیماری را کاهش می دهد(OR:0.46, 95% CI:0.21-0.98, P=0.04). با در نظر گرفتن وضعیت فنوتیپی به نفع غالبیت آلل G (GG+GA در مقابل AA) نیز نقش محافظتی این آلل دیده شد(OR:0.45, 95% CI:0.22-0.91, P=0.02). ارتباط بین ژنوتیپ های این جایگاه پلی مورفیسم و ریسک بروز سقط در جدول شماره ۴ آورده شده است. اختلاف معنی داری بین فراوانی های ژنوتیپی مشاهده شده در گروه کنترل(χ^2=3.77، df=1، P>0.05) نسبت به مقادیر مورد انتظار بر اساس تعادل هاردی-واینبرگ وجود نداشت.

جدول شماره ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت انجام واکنش PCR

نام پرایمر	توالی	اندازه محصول
FI	5'- ATTTTTATGTATTTTTGGATTACTG-3'	219bp
RO	5'- CAGGTGAGTGTTTATGAAGG -3'	
RI	5'- GCTDAGTCTGTTTTTAACAATT -3'	341bp
FO	5'- GAGCAGGGAAAGAACTCTC -3'	

نوکلئوتیدهای که زیر آن‌ها خط کشیده شده است، مکمل نوکلئوتیدهای جایگاه پلی مورفیسم هستند.
محصول کنترل داخلی پرایمرهای OF و OR به طول ۵۴۱ جفت باز می باشد.



تصویر شماره ۱. الکتروفورز محصولات حاصل از T-ARMS PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد. باند ۵۴۱ جفت بازی حاصل تکثیر جفت پرایمر غیراختصاصی خارجی است که به عنوان کنترل داخلی عمل می کند. باند ۳۴۱ جفت بازی حاصل تکثیر پرایمر اختصاصی آلل A می باشد و حضور این باند در چاهک شماره ۱ نشان دهنده فردی با ژنوتیپ AA است. باند ۲۱۹ جفت بازی در نتیجه تکثیر توسط پرایمر اختصاصی آلل G است که حضور این باند در چاهک شماره ۳ نشان دهنده ژنوتیپ GG است. حضور دو باند ۳۴۱ و ۲۱۹ جفت بازی در حضور باند ۵۴۱ جفت بازی نشان دهنده ژنوتیپ هتروزیگوت AG است. اولین ستون از سمت راست سایز مارکر ۱۰۰ جفت بازی است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

جدول شماره ۲. خصوصیات بالینی زنان گروه کنترل و بیمار

متغیر	بیمار(n=۱۷۶)	کنترل(n=۱۷۳)	P*
میانگین سن	۳۴/۲±۱۰/۹	۵۶/۵±۷/۷	<۰/۰۰۱
دامنه سنی	۱۷–۸۵	۳۳–۷۹	
دامنه سقط	۲–۱۱	–	
تعداد بارداری	۴/۲±۲/۳	۵/۱±۲/۲	<۰/۰۰۱
تعداد فرزند زنده متولد شده	۱/۱±۱/۹	۵/۱±۲/۲	<۰/۰۰۱

* آزمون t– مستقل

جدول شماره ۳. ریسک فاکتورهای بیماری سقط مکرر

ریسک فاکتور	کنترل(n,%)	بیمار(n,%)	OR*(95% CI) P	OR(95% CI) Pa
سابقه خانوادگی سقط			۲/۵ (۱/۵ – ۴/۱)	۳/۴ (۱/۵ – ۷/۷)
دارد	۳۴ (۱۹/۷)	۶۷ (۳۸/۱)	۰/۰۰۱	۰/۰۰۳
ندارد	۱۳۹ (۸۰/۳)	۱۰۹ (۶۱/۹)	–	–
مصرف قرص ضد بارداری			۰/۶ (۰/۳۹–۰/۹۲)	۱/۰۲ (۰/۵–۲)
بلی	۱۰۷ (۶۱/۸)	۸۷ (۴۹/۴)	۰/۰۲	۰/۹۵
خیر	۶۶ (۳۸/۲)	۸۹ (۵۰/۶)	–	–

* آزمون رگرسیون لجستیک(P<0.05)؛ a برای سن تعدیل شده است.

جدول شماره ۴. پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 در زنان مبتلا به سقط مکرر ایدیوپاتیک و گروه کنترل

پلی مورفیسم		کنترل	بیمار	p*	OR (95%CI)
ژنوتیپ	AA	۹۰ (۵۲)	۱۱۰ (۶۲/۵)	–	reference
	GA	۶۲ (۳۵/۸)	۵۲ (۲۹/۵)	۰/۰۴	۰/۴۶ (۰/۲۱ –۰/۹۸)
	GG	۲۱ (۱۲/۱)	۱۴ (۸)	۰/۱۴	۰/۴۲(۰/۱۳– ۱/۴)
	GG+GA	۸۳ (۴۷/۴)	۶۷ (۳۷/۸)	۰/۰۲	۰/۴۵ (۰/۲۲– ۰/۹۱)
آلل	A	۲۴۲ (۰/۷۰)	۲۷۲ (۰/۷۷)	–	reference
	G	۱۰۴ (۰/۳۰)	۸۰ (۰/۲۳)	۰/۰۴	۰/۷ (۰/۵ – ۰/۹)

* آزمون رگرسیون لجستیک؛ مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

فاکتور IRF-5 یکی از اعضای خانواده فاکتور تنظیمی اینترفرون(IRF) است که نقش مهمی در دفاع ضد ویروسی، پاسخ ایمنی، تنظیم رشد سلولی و آپوپتوز ایفا می کند(۱۸). هم چنین IRF-5 به عنوان یک فاکتور رونویسی بیان طیف وسیعی از ژن ها از جمله ژن های کدکننده سیتوکین های التهابی را تنظیم می کند که نقش آن ها در عدم موفقیت بارداری به اثبات رسیده است(۱۹). نتایج مطالعات متعددی نشان داده است که واکنش های التهابی با تخریب رشد جفت در ضمن حاملگی در پاتوژنز سقط مکرر دخالت می کنند(۱۰). از جمله مطالعاتی که به بررسی دخالت سیتوکین های التهابی در روند بارداری و سقط پرداخته است می توان به مطالعه سایجو و همکاران اشاره کرد که ارتباط مستقیمی بین کاهش سطح سرمی IL-6 و کاهش سقط در زنان ژاپنی پیدا کردند(۲۰). لیو و همکاران نیز گزارش کردند پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی 238G/A- با افزایش بیان سیتوکین التهابی TNF-α، ریسک بروز سقط را افزایش

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

می دهد(۲۱). نتایج مطالعه حاضر گویای ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 و کاهش خطر بروز سقط مکرر می باشد. پلی مورفیسم rs10954213 حاصل جانشینی G به A در ناحیه "۳ ترجمه نشونده ژن می باشد و قوی ترین مدرک مبنی بر تاثیر عناصر تنظیمی سیس روی بیان ژن به شمار می رود(۲۲). در مجموع، تمام مطالعات منجر به نتیجه مشابهی مبنی بر افزایش سطح mRNA ژن IRF-5 در حضور آلل A شده است(۲۳). تصور می گردد در حضور آلل A یک سایت سیگنال پلی آدنیلاسیون جدید ایجاد می شود که منجر به تولید رونوشت mRNA با ناحیه "۳ ترجمه نشونده کوتاه تر می گردد که در مقایسه با رونوشت بلندتر که در حضور آلل G تولید می شود، پایدارتر است(۲۳). نتایج مطالعه متاآنالیز توسط Tang و همکاران در سال ۲۰۱۴ ارتباط قوی بین پلی مورفیسم های ژن IRF-5 از جمله پلی مورفیسم rs10954213 با پاتوژنز گروهی از بیماری های خود ایمن شامل لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس، آرتریت روماتوئید، مالتیپل اسکلروزیس و سیستمیک اسکلروزیس را نشان داد(۲۴). در این مطالعه ارتباط قوی بین آلل rs10954213A با افزایش خطر بروز تمام بیماری های اتوایمن به استثنای آرتریت روماتوئید به دست آمد(۲۴). نتایج این مطالعه در راستای نتیجه مطالعات متعددی است که نقش این پلی مورفیسم و دیگر پلی مورفیسم های ژن IRF-5 به عنوان یک ژن تثبیت شده در پاتوژنز لوپوس سیستمیک اریتماتوزیس نشان داده اند(۲۳،۲۵). در مطالعه Ito و همکاران نیز مشخص گردید پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 یک فاکتور افزایش خطر بروز بیماری سیستمیک اسکلروزیس می باشد(۲۶). در دو مطالعه اخیر ارتباط بین ژن IRF-5 و خطر بروز بیماری را ناشی از نقش این ژن به عنوان فاکتور رونویسی اصلی در تنظیم بیان ژن های اینترفرون و سیتوکین های التهابی معرفی کرده اند. ارتباط قوی بین پلی مورفیسم rs10954213 با بروز بیماری های خود ایمن در تمام گروه های جمعیتی اروپایی، آفریقایی و امریکایی به استثنای جمعیت آسیایی دیده شده است. عدم ارتباط بین این پلی مورفیسم با خطر بروز بیماری های خود ایمن ناشی از زمینه ژنتیکی متفاوت جمعیت های مختلف است و برآوردهای فراوانی آللی در آسیا کمترین فراوانی (۴۹/۱ درصد) و در اروپا بیشترین(۶۲/۱ درصد) فراوانی را برای آلل مینور این پلی مورفیسم نشان داده است(۲۴،۲۷).

در این مطالعه فرض شده است که پلی مورفیسم rs10954213 روی بیان ژن اثر IRF-5 اثر گذاشته و با کاهش بیان آن همراه است، کاهش این اینترفرون باعث کاهش اثر تحریکی روی سیتوکین های التهابی مانند IL-6 و TNF-α به عنوان سیتوکین های اصلی در عدم موفقیت بارداری می شود، در نتیجه کاهش سیتوکین های التهابی منجر به کاهش التهاب و امکان پیشرفت بارداری تا ختم می گردد. مطالعات پیشین در ارتباط با همبستگی بین سقط مکرر و پلی مورفیسم های ژن IRF-5 بسیار محدود هستند که از جمله می توان به مطالعات مستقل توسلیان و همکاران(۲۰۱۴) و ارجمند و همکاران(۲۰۱۵) اشاره نمود. نتایج هر دو مطالعه حاکی از اختلاف فراوانی آللی و ژنوتیپی در جایگاه پلی مورفیسم rs10954213 در مقایسه بین زنان سالم و زنان مبتلا به سقط مکرر در جمعیت ایران و در نتیجه، دخالت ژن IRF-5 در پاتوژنز سقط مکرر می باشد(۲۷،۲۹).

در نتیجه در این مطالعه جهت آشکار شدن نقش واکنش های ایمونولوژیک در سلامت بارداری به بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 پراخته شد. ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم rs10954213 ژن IRF-5 و کاهش خطر بروز سقط مکرر به دست آمد که نشان می دهد این پلی مورفیسم می تواند به عنوان یک مارکر مولکولی جهت غربال گری زنان مستعد سقط استفاده شود.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت محترم پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، کارشناسان محترم آزمایشگاه ژنتیک، سرکار خانم نسیبه جعفری و نجمه نوروزی و هم چنین کارکنان مطب دکتر راسخ بابت همکاری در نمونه گیری این مطالعه تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

References

1. Branch DW, Gibson M, Silver RM. Clinical practice recurrent miscarriage. N Engl J Med 2010;363:1740-7.
2. Carrington B, Sacks G, Regan L. Recurrent miscarriage: pathophysiology and outcome. Curr Opin Obstet Gynecol 2005;17:591-7.
3. Li TC, Makris M, Tomsu M, Tuckerman E, Laird S. Recurrent miscarriage: aetiology, management and prognosis. Hum Reprod Update 2002;8:463-81.
4. Kaandorp SP, Goddijn M, van der Post JA, Hutten BA, Verhoeve HR, Hamulyák K. Aspirin plus heparin or aspirin alone in women with recurrent miscarriage. New Engl J Med 2010;362:1586-96.
5. Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. BMC Med 2013;11:154.
6. Feng D, Stone R, Eloranta M, Sangster N, Nordmark G, Sigurdsson S, et al. Genetic variants and disease associated factors contribute to enhance interferon regulatory factor 5 expression in blood cells of patients with systemic lupus erythematosus. Am Colleg Rheumat 2010;62:562-73.
7. Nasiri M, Rasti Z. CTLA-4 and IL-6 gene polymorphisms: Risk factors for recurrent pregnancy loss. Hum Immunol 2016;77:1271-4
8. Santner B, Peek MJ, Khanam R, Richarts L, Zhu E, Fazekas de St Groth B, et al. Systemic increase in the ratio between Foxp3+ and IL-17-producing CD4+ T cells in healthy pregnancy but not in preeclampsia. J Immunol 2009;183:7023-30.
9. Barnes BJ, Moore PA, Pitha P. Virus-specific activation of a novel interferon regulatory factor, IRF-5, results in the induction of distinct interferon alpha genes. J Biol Chem 2001;276:23382-90.
10. Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, Alzabin S, Lockstone H, Sahgal N, et al. IRF-5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH-1/Th-17 responses. Nature Immunol 2011;12:231-8.
11. Gathungu G, Zhang CK, Zhang W, Cho JH. A two marker haplotype in the IRF5 gene is associated with inflammatory bowel disease in a North American cohort. Genes Immun 2012;13:351-5.
12. Graham RR, Kozyrev SV, Baechler EC, Reddy MV, Plenge RM, Bauer JW, et al. A common haplotype of interferon regulatory factor 5 regulates splicing and expression and is associated with increased risk of systemic lupus erythematosus. Nat Genet 2006;15:550-5.
13. Dideberg V, Kristjansdottir G, Milani L, Libioulle C, Sigurdsson S, Louis E, et al. An insertion-deletion polymorphism in the interferon regulatory Factor 5 gene confers risk of inflammatory bowel diseases. Hum Mol Genet 2007;15:3008-16.
14. Alonso E, Suarez M, Calaza M, Kwan T, Majewski J, Gomez JJ, et al. Cis regulation of IRF5 expression is unable to fully account for systemic lupus erythematosus association: analysis of multiple experiments with lymphoblastoid cell lines. Arth Res Ther 2011;13: 80.
15. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucle Acids Res 1988;16:1215.
16. Ye S, Dhillon S, Ke X, Collins AR, Day INM. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. Nucle Acid Res 2001;29: 80-8.
17. Amiri Jahromi R, Nasiri M, Rasekh Jahromi A. Interferon Regulatory Factor 5 Gene Polymorphisms in Iranian Women with Unexplained Recurrent Pregnancy Loss. Immunol Invest 2016;31:1-11.
18. Paun A, Pitha PM. The IRF family revisited. Biochimie 2007;89:744-53.
19. Medica I, Ostojic S, Pereza N, Kastrin A, Peterlin B. Association between genetic polymorphisms in cytokine genes and recurrent miscarriage a metaanalysis. Reprod BioMed 2009;19:406-14.
20. Saijo Y, Sata F, Yamada H, Kondo T, Kato EH, Kishi R. Single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the interleukin-6 gene and the risk of recurrent pregnancy loss in Japanese women. Fertil Steril 2004;81:374-8.
21. Liu C, Wang J, Zhou S, Wang B, Ma X. Association between -238 but not -308 polymorphism of Tumor necrosis factor alpha and unexplained recurrent spontaneous abortion in Chinese population. Reprod Biol Endocrinol 2010;8:114.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

22. Alonso E, Suarez M, Calaza M, Kwan T, Majewski J, Gomez JJ, et al. Cis regulation of IRF5 expression is unable to fully account for systemic lupus erythematosus association: analysis of multiple experiments with lymphoblastoid cell lines. Arth Res Ther 2011;13:80.
23. Graham RR, Kyogoku C, Sigurdsson S, Vlasova IA, Davies LR, Baechler EC, et al. Three functional variants of INF regulatory factor 5 define risk and protective haplotypes for human lupus. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:6758-63.
24. Tang L, Chen B, Ma B, Nie S. Association between IRF5 polymorphisms and autoimmune diseases: a metaanalysis. Genet Mol Res 2014;13:4473-85.
25. Ferreiro I, Calaza M, Alonso E, Marchini M, Scorza R, Sebastiani GD, et al. Opposed independent effects and epistasis in the complex association of IRF5 to SLE. Genes Immun 2007;8:429-38.
26. Ito I, Kawaguchi Y, Kawasaki A, Hasegawa M, Ohashi J, Hikami K, et al. Association of a Functional Polymorphism in the IRF5 Region with Systemic Sclerosis in a Japanese Population. Arth Rheum 2009;60:1845-50.
27. Liu HF, An XJ, Yang Y, Yang L, Li Y, Huang CZ, et al. Association of rs10954213 polymorphisms and haplotype diversity in interferon regulatory factor 5 with systemic lupus erythematosus: a metaanalysis. J Hua Uni Sci Technol Med Sci 2013;33:15-21.
28. Tavasolian F, Abdollahi E, Ghasemi N, Samadi M. Association of the SNP: rs10954213 in IRF5 gene With Recurrent Spontaneous Abortion. Iran J Immunol 2014;11:309.
29. Arjmand F, Ashrafzadeh Mehrjardi HR, Ghasemi N. Association of rs10954213 polymorphism of IRF-5 gene with idiopathic recurrent miscarriage. Iran J Reprod Med 2015;54.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]

Association Analysis of the IRF-5 rs10954213 Gene Polymorphism with the Risk of Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss in South Iranian Women

Amirijahromi R[1], Nasiri M[1]*

(Received: August 15, 2016 Accepted: December 27, 2016)

Abstract

Introduction: Recurrent pregnancy loss (RPL) is defined as the occurrence of two or more abortion before 20th week of gestation. The etiology of RPL is unknown in 50% of cases, which defines as idiopathic RPL (IRPL). Immune-related embryo injuries play an important role in the occurrence of RPL. Interferon regulatory factor-5 (IRF-5) is a member of IRF family of transcription factor, acts as upstream regulatory element of inflammatory cytokines (IL-6, and TNF-α). The aim of the present study was to investigate the relationship between *IRF-5* gene rs10954213 polymorphism in the occurrence of IRPL.

Materials & methods: In this case- control study, blood samples were collected from 176 IRPL women with a history of at least 2 miscarriages with mean age of 34.2±10.9 years as a patient group, and 173 healthy postmenopausal women with at least two live births, and without a history of previous miscarriage (mean age±SD; 56.5±7.7 years) as a control group. Genotyping was performed using T-ARMS PCR. The data were analyzed using SPSS v.16 software.

Findings: The frequency of G allele was lower in cases comparing to control subjects. This difference was statistically significant and supported the protective effect of this allele against miscarriage (OR: 0.7, 95%CI: 0.5-0.9, p=0.04). The frequency of G carriage genotypes (GG+GA vs. AA) in women with IRPL was lower comparing to the women of the control group and showed the protective role of this allele (OR:0.45, 95%CI:0.22-0.91, p-0.02).

*Discussion & conclusion*s: Regarding the results of the present study, the rs10954213G allele of the *IRF-5* gene is a protective marker against idiopathic recurrent pregnancy loss in Iranian women.

Keywords: Idiopathic recurrent pregnancy loss, Polymorphism, IRF-5 gene, Iran

1. Dept of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran
** Corresponding author Email: nasiri@iaua.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2024-03-29]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.1.94]