Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Evaluating the expression of miRNAs in the culture medium of human embryos with normal sex chromosomes and embryos with an X sex chromosome (Turner syndrome)

Shahrazad Aghajani [1], Ali Salehzadeh [1*], Fatemeh Ghasemian [2], Marzieh Mehrafza [3]

[1] Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
[2] Dept of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
[3] Mehr Fertility Research Center, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: 15 April 2023
Revised: 19 May 2023
Accepted: 02 July 2023
Published Online:14 October 2023

**** Correspondence to:***
Ali Salehzadeh
Dept of Biology, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
Email:
salehzadeh@iaurasht.ac.ir

A B S T R A C T

Introduction: Assisted reproductive techniques and Preimplantation Genetic Test (PGT) are performed to detect aneuploidy to achieve a euploid baby's birth in infertile or low-fertility couples. miRNAs are single-stranded, non-coding RNA molecules and essential regulators of gene expression in various biological and physiological processes. The present study aimed to investigate some miRNAs damaged in the culture media of human embryos (as diagnostic biomarkers) and their relationship with the degree of aneuploidy of the embryo and assisted reproductive methods.

Material & Methods: The PGT cycles derived sperm intracytoplasmic injection (April 2021 to June 2021) were evaluated using fluorescence in situ hybridization (FISH). Following that, the culture medium of three euploids and three aneuploid embryos with an X sex chromosome (Turner) was collected and the expression of has-miR-199a-5p, has-miR-199b-3p has-miR-379-5p, has-miR-483-5p, has-miR-99a-5p, and has-miR-432-5p were investigated using quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR).

Findings: In the culture medium of euploid embryos, a significant increase was observed in the expression of three miRNAs, including hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p. Moreover, a decrease was detected in the expression of three miRNAs, including hsa-miR-432-5p, hsa -miR-483-5p, and hsa-miR-99a-5p, with a significant difference ($P<0.0001$). The expression of these miRNAs in the culture medium of Turner embryos with the model was the opposite.

Discussion & Conclusion: In examining the expression level of miRNAs investigated in this project, the increase in the expression of three miRNAs and the decrease in the expression of three other miRNAs in euploid embryos demonstrated the opposite expression pattern of the same miRNAs in Turner embryos. These results can be considered promising for using non-invasive methods instead of fetal biopsy in the diagnostic studies of the number of sex chromosomes.

Keywords: Fluorescence in Situ Hybridization (FISH), Genetic Testing, miRNA, Intracytoplasmic Sperm Injection, Preimplantation Spent Blastocyst Medium

➢ **How to cite this paper**
Aghajani S, Salehzadeh A, Ghasemian F, Mehrafza M. Evaluating the expression of miRNAs in the culture medium of human embryos with normal sex chromosomes and embryos with an X sex chromosome (Turner syndrome). Journal of Ilam University of Medical Sciences. 2023;31(4): 67-78.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام
P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸
E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

بررسی بیان miRNAهای محیط کشت جنین‌های انسانی با کروموزوم‌های جنسی طبیعی و جنین‌های با یک کروموزوم جنسی X (سندرم ترنر)

شهرزاد آقاجانی [۱]، علی صالح‌زاده [۱*]، فاطمه قاسمیان [۲]، مرضیه مهرافزا [۳]

[۱] گروه زیست‌شناسی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
[۳] مرکز تحقیقات و درمان ناباروری مهر پویای گیل، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۶
تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۰۲/۲۹
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۱
تاریخ انتشار: ۱۴۰۲/۰۷/۲۲

نویسنده مسئول:
علی صالح‌زاده
گروه زیست‌شناسی، دانشکدهٔ علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
Email:
salehzadeh@iaurasht.ac.ir

چکیده

مقدمه: روش‌های کمک‌باروری و آزمایش ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی (PGT) برای تشخیص آنوپلوئیدی، به‌منظور دستیابی به تولد نوزاد یوپلوئید و در زوجین نابارور یا کم بارور انجام می‌شود. miRNAها مولکول‌های RNA غیر رمزگذار تک‌رشته‌ای و مهم تنظیم‌کننده پس از رونویسی بیان ژن در فرایندهای مختلف بیولوژیکی و فیزیولوژیکی هستند. هدف این مطالعه بررسی برخی miRNAهای ترشح‌شده در محیط‌های کشت جنینهای انسان (به‌عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی) و ارتباط آن با میزان آنوپلوئیدی جنین و نتایج روش‌های کمک‌باروری است.

مواد و روش‌ها: چرخه‌های PGT حاصل از تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم (از فروردین سال ۱۴۰۱ تا خرداد سال ۱۴۰۱) با استفاده از مکمل‌سازی فلورسانس درجا Fluorescence in situ hybridization (FISH) ارزیابی شد. در ادامه، محیط کشت سه جنین یوپلوئید و سه جنین آنیوپلوئید با یک کروموزوم جنسی X (ترنر) جمع‌آوری گردید و بیان miRNA hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p, hsa-miR-379-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-432-5p با استفاده از RT-qPCR بررسی شد.

یافته‌های پژوهش: در محیط کشت جنین‌های یوپلوئید، افزایش معنی‌دار میزان بیان سه miRNA شامل hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p و کاهش بیان سه miRNA شامل hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p با اختلاف معنی‌دار $P<0.001$ مشاهده گردید. بیان این miRNAها در محیط کشت جنین‌های ترنر با الگو کاملاً عکس بود.

بحث و نتیجه‌گیری: در بررسی میزان بیان miRNAهای بررسی‌شده در این طرح، افزایش بیان سه miRNA و کاهش بیان سه miRNA دیگر در جنین‌های یوپلوئید با الگو، بیان عکس همین miRNAها در جنین‌های ترنر را نشان داد. این نتایج می‌تواند نویدبخش باشد و برای استفاده از روش‌های غیرتهاجمی به جای بیوپسی جنین در بررسی‌های تشخیصی تعداد کروموزوم‌های جنسی مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم، هیبریداسیون فلورسنت درجا (FISH)، آزمایش ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی، miRNA، محیط کشت بلاستوسیست

استناد: آقاجانی، شهرزاد؛ صالح‌زاده، علی؛ قاسمیان، فاطمه؛ مهرافزا، مرضیه. بررسی بیان miRNAهای محیط کشت جنین‌های انسانی با کروموزوم‌های جنسی طبیعی و جنین‌های با یک کروموزوم جنسی X (سندرم ترنر). مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام، مهر ۱۴۰۲؛۳۱(۴): ۷۸-۶۷.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

CC BY NC

حق‌مؤلف © نویسندگان

مقدمه

miRNAها مولکول‌های RNA غیر رمزگذاری تک‌رشته‌ای و مهم تنظیم‌کننده در تنظیم پس از رونویسی بیان ژن، در فرایندهای مختلف بیولوژیکی و فیزیولوژیکی هستند (۱). miRNAها می‌توانند سطح بسیاری از ژن‌های هدف را به‌طور هم‌زمان، توسط توالی‌های مکمل جزئی و مداخلات بعدی با پایداری mRNA و یا ترجمهٔ پروتئین تنظیم کنند (۲، ۱). ازآنجاکه آن‌ها در محیط خارج سلولی پایدارند و بیان غیرطبیعی آن‌ها با وضعیت فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک همراه است، می‌توان miRNAها را به‌عنوان نشانگرهای جدید غیرتهاجمی درمان مدنظر قرار داد (۳). به‌طور گسترده‌ای گزارش‌شده است که miRNAها در کاشت جنین و نارسایی کاشت شرکت می‌کنند و نقش دارند (۵، ۴). باسان و همکاران پیشنهاد کردند که miR۳۱- در تنظیم دستگاه ایمنی در هنگام کاشت نقش داشته باشد (۶)، درحالی‌که راجو و همکاران نشان دادند که miR۲۶- ممکن است یک نشانگر نامزد برای بارداری بیشتر در گاوها باشد (۷). امروزه miRNAها در زمینه‌های مختلف پزشکی، ازجمله روش‌های کمک‌باروری مورد توجه قرار گرفته‌اند.

یک روش ایدئال برای پیش‌بینی سلامت جنین نباید کاشت جنین را به خطر بیندازد. اعتقاد بر این بوده است که با جمع‌آوری miRNAهای ترشح‌شده در محیط‌های کشت جنینی جنین‌های انسان، به‌راحتی این امکان فراهم می‌آید که از آن‌ها به‌عنوان نشانگرهای زیستی غیرتهاجمی برای تعیین صلاحیت تولیدمثلی جنین استفاده شود. تحقیقات گسترده‌ای را در زمینهٔ توسعهٔ غیرتهاجمی نشانگرهای زیستی انجام داده‌اند که با هدف کلی بهبود میزان موفقیت کاشت و درمان IVF بوده است. جیانگ و همکاران miRNAهایی را که از جنین‌های پیش از کاشت به داخل محیط‌های کشت جنینی ترشح می‌شوند، تجزیه‌وتحلیل کردند و مشخص نمودند که miR-634 با نتیجهٔ مثبت بارداری ارتباط دارد (۸)؛ سپس در سال ۲۰۱۹، گراداستین و همکارانش گزارش دادند که فراوانی miR-p3b-19 در نمونه‌های محیط کشت (SCM) مرتبط با بارداری مثبت، به‌طور چشمگیری کمتر بود (۹). گاردنر و همکاران نشان دادند که HSA-MIR-P5B-26 و HSA-MIR-P5-21 می‌توانند به‌عنوان نشانگرهای زیستی بالقوه برای تولیدمثل، با تشخیص پروفایل miRNA در محیط‌های کشت جنین انسان باشند (۱۰).

علی‌رغم سال‌ها تلاش برای بهبود روش‌های کمک‌باروری در انسان، تأثیرات مثبت و منفی استفاده از روش‌های تزریق درون سیتوپلاسمی اسپرم، انجماد، ذوب و بیوپسی برای انجام آزمایش‌های ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی، در روند تکوین در آزمایشگاه، به‌عنوان مسائل حل‌نشده در این زمینه باقی‌مانده است (۱۱). امروزه، بررسی‌ها در سطح miRNAها بسیار پرکاربرد شده است و بررسی آن‌ها می‌تواند گام تشخیصی بزرگی در پیشبرد روش‌های تشخیص پیش از لانه‌گزینی به‌صورت کاملاً غیرتهاجمی باشد؛ ازاین‌رو، اینکه آیا می‌توان با تشخیص برخی miRNA خاص ترشح‌شده توسط جنین در محیط کشت جنین‌ها، از طبیعی بودن یا نبودن جنین‌ها مطلع شد، گامی مهم و اثربخش در عرصهٔ درمان ناباروری و بررسی‌های ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی خواهد بود.

فرض بر این بوده است که با تشخیص الگوی بیان miRNAهای محیط کشت جنین‌های انسانی با کروموزوم‌های جنسی طبیعی و جنین‌های با یک کروموزوم جنسی X (سندرم ترنر)، از وضعیت کروموزومی جنین حتی بدون انجام آزمایش ژنتیکی مطلع شد. نتایج قابل استناد در روش‌های غیرتهاجمی تشخیصی پیش از لانه‌گزینی روی جنین‌های انسانی می‌تواند بسیاری از نگرانی‌ها و آسیب‌های حاصل از روش‌های تهاجمی تشخیصی پیش از لانه‌گزینی بر جنین‌های انسانی را مرتفع سازد. هدف این مطالعه بررسی برخی miRNAهای ترشح‌شده در محیط‌های کشت جنینهای انسان (به‌عنوان نشانگرهای زیستی تشخیصی) و ارتباط آن با میزان آنوپلوئیدی جنین و نتایج روش‌های کمک‌باروری است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه، مشخصات بیان miRNAهای ترشح‌شده توسط جنین‌های پیش از لانه‌گزینی، از طریق بررسی miRNAهای استخراج‌شده از محیط کشت در

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

آزمایشگاه جنین‌شناسی مرکز تحقیقات و درمان ناباروری مهر پویای گیل رشت ارزیابی شد. سنجش میان یک گروه سه‌تایی از جنین‌های یوپلوئید از نظر کروموزوم‌های جنسی و گروه دوم سه‌تایی شامل جنین‌های آنیوپلوئید (ترنر) انجام گردید که در فاصلهٔ زمانی فروردین ۱۴۰۱ تا خرداد ۱۴۰۱ تحت درمان IVF و آزمایش ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی برای بررسی کروموزوم‌های جنسی بوده‌اند. نتایج برای بررسی نشانگرهای پیش‌بینی‌کنندهٔ بالقوه تجزیه‌وتحلیل شد.

جمع‌آوری نمونهٔ محیط کشت جنین‌های انسانی: جنین‌های انسانی پس از انجام بیوپسی تک‌بلاستومر به قطرات جنینی شماره‌گذاری‌شده منتقل گردیدند. پس از انجام آزمایش ژنتیکی و مشخص شدن وضعیت کروموزوم‌های جنسی و با توجه به نتایج، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محیط کشت جنینی (جنین‌های یوپلوئید با دو کروموزوم جنسی و جنین‌های با یک کروموزوم جنسی X) توسط پیپت در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری‌شده ریخته شد و به فریزر منفی ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد منتقل گردید.

استخراج miRNA با استفاده از کیت یکتا تجهیز و دقیقاً بر اساس دستورالعمل کیت صورت گرفت. پس از تعیین مقدار و غلظت RNA استخراج‌شده، ساخت مولکول cDNA از روی RNA استخراج‌شده بر اساس دستورالعمل کیت Revert Aid TM First Strand cDNA Synthesis Kit (Fermentas) انجام شد؛ سپس کیفیت و غلظت RNAهای استخراج‌شده توسط دستگاه نانودراپ ارزیابی گردید.

پرایمرهای اختصاصی طراحی‌شده: پرایمرهای اختصاصی هر مارکر از روی مقالات رفرنس انتخاب و سفارش داده شد. به‌منظور افزایش بازدهی واکنش Real-time RT-PCR و جلوگیری از موارد مثبت کاذب ناشی از تکثیر توالی‌های نوکلئوتیدی DNA، کارایی پرایمرها (efficiency) سنجیده گردید و پرایمرهای با کارایی ۹۹-۹۸ درصد استفاده شدند. جدول شمارهٔ ۱ ویژگی‌های پرایمرهای استفاده‌شده را نمایش می‌دهد. پرایمرهای ژن کنترل داخلی از توالی‌هایی انتخاب گردید که در مطالعات پیشین استفاده‌شده بودند. پس از دریافت پرایمرهای ساخته‌شده به شکل پودر لیوفلیزه از شرکت سازنده، رقیق‌سازی محلول پرایمر با غلظت 100 pm/µl با افزودن آب مقطر اتوکلاوشده انجام و این محلول تا زمان استفاده در دمای $C20^{o}$- نگهداری شد. برای استفادهٔ نهایی از پرایمر، این محلول رقیق‌سازی گردید و با غلظت ۱۰ pm/µl وارد واکنش نهایی شد.

انجام واکنش Real-Time PCR با SYBR2 Premix Ex Taq Kit: واکنش PCR کپی‌هایی از DNA الگو را در یک قالب تصاعدی ایجاد می‌کند. همان‌طور که از معنی واژه برمی¬آید، مفهوم Real-Time PCR مشاهدهٔ لحظه‌به‌لحظهٔ فرایند است، به‌گونه‌ای که می‌توان میزان محصول PCR را هنگامی‌که هنوز در فاز تصاعدی است، محاسبه کرد. از کیت محصول شرکت Takara استفاده گردید که SYBR green دارد که یک رنگ فلورسانس است و پس از اتصال به DNA دورشته‌ای، نور فلورسانس ساطع می‌کند و توسط دستگاه ترموسایکلر قابل‌اندازه‌گیری است. در این واکنش، از cDNA ساخته‌شده در مرحلهٔ پیش به‌عنوان الگو استفاده شد. تکثیر ژن‌ها در دو تکرار و با استفاده از کیت‌های اختصاصی هر ژن و Master mix صورت گرفت.

جدول شماره ۱. مشخصات توالی پرایمرها و اندازهٔ محصولات به‌کاررفته در واکنش Real-Time PCR

پرایمر	توالی	اندازه (جفت باز)	TM	درصد GC
miR-199b-3p				
F	5'- GTCACAGTAGTCTGCACAT -3'	۱۹	۵۵	۶۵
R	-3' 5'- GTTGCAGGGTCCGAGGT	۱۷	۵۶	۶۶
hsa-miR-199a-5p				
F	5'- CCCAGTGTTCAGACTACCTGTTC -3'	۲۳	۶۲	۵۳
R	5'- CAGTGCAGGGTCCGAGGTAT -3'	۲۰	۶۲	۶۰
hsa-miR-379-5p				

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

F	5'- GCGCTGGTAGACTATGGAA -3'	۱۹	۵۹	۵۴
R	5'- GTGTCAGGTGTCCGAGGT -3'	۱۸	۵۸	۵۷
hsa-miR-432-5p				
F	'.5'- AACGAGACGACGACAGACT -3	۱۹	۵۸	۵۴
R	5'- CTTGGAGTAGGTCATTGGGT -3'	۲۰	۶۰	۵۵
hsa-miR-99a-5p				
F	5'- AACCCGTAGATCCGATCTTGTG -3'	۲۲	۶۲	۵۴
R	5'- CACAAGATCGGATCTACGGGTT -3'	۲۲	۶۳	۵۴
hsa-miR-483-5p				
F	5'- CCGAGAAGACGGGAGGAAA -3'	۱۹	۶۲	۵۷
R	5'- CTCAACTGGTGTCGTGGA -3'	۱۸	۵۷	۵۵
human hsa-U6				
F	5'- TCCGACGCCGCCATCTCTA -3'	۱۹	۶۳	۵۸
R	5'- TATCGCACATTAAGCCTCTA -3'	۲۰	۶۱	۵۶

روش تفسیر نتایج: پس از پایان هر واکنش، تفسیر نتایج بر اساس منحنی‌های Melting peak و Amplification صورت گرفت. بدین منظور، در انتهای انجام هر نوبت آزمایش، پیک ذوب (Melting peak) مربوط به هر نمونهٔ آزمایش‌شده بررسی گردید و چنانچه در محدودهٔ دمایی منطبق بر دمای ذوب قطعهٔ تکثیرشدهٔ (Amplicon melting temperature) ژن مورد بررسی قرار داشت، به‌عنوان جواب مثبت تلقی می‌شد. با توجه به اینکه دمای ذوب شاخصی است که تحت تأثیر غلظت یونی محیط تغییر می‌کند؛ بنابراین، در محدودهٔ ۱ درجه بالاتر و پایین‌تر از میزان اعلام‌شده قابل‌قبول تلقی گردید. برای بررسی آلودگی‌های احتمالی از روش کنترل منفی استفاده شد. در این روش، یک واکنش Real-time PCR با اجزای غلظت‌ها و همچنین دما و زمان‌های کاملاً مشابه با واکنش اصلی انجام می‌شود که بدون cDNA الگو است؛ بنابراین، اصطلاحاً به آن No Template Control یا به‌اختصار NTC اطلاق می‌گردد. منفی بودن نتیجهٔ این واکنش به مفهوم نبودِ آلودگی در اجزای استفاده‌شده در واکنش است.

اجزا و دماهای واکنش در مراحل setup مقدماتی تحقیق به‌گونه‌ای تنظیم شد که بهینه‌ترین نتایج برای ژن‌ها حاصل گردد و حتی‌الامکان از اشتباهاتی اجتناب شود که تفسیر نتایج را با مشکل مواجه می‌کنند (مانند تشکیل primer dimer). پس از تعیین مقدار چرخهٔ آستانهٔ (Ct) مربوط به ژن‌های پژوهش ما و مقایسهٔ آن با Ct ژن کنترل داخلی، نتایج آنالیز شد. پس از انجام واکنش، داده‌های خام به‌صورت Ct از دستگاه استخراج گردید و اندازه‌گیری میزان بیان ژن با روش ΔΔCt، با استفاده از نرم‌افزار Rest صورت گرفت.

آنالیز آماری: آنالیز داده¬های Real time-PCR بر اساس مقایسهٔ Ct انجام شد. در این مطالعه، ΔCt به‌دست‌آمده از نمونه‌های آزمایش‌شده (محیط کشت جنین‌های غیرطبیعی ترنر) و نمونه‌های کنترل (محیط کشت جنین‌های یوپلوئید از نظر کروموزوم‌های جنسی) محاسبه گردید و با استفاده از فرمول ΔΔCt، ژن هدف به نسبت به ژن کنترل داخلی (U6) از طریق سنجش ۲− ΔΔCt محاسبه شد؛ سپس با استفاده از نرم‌افزار Graph pad vol.6، نمودار بیان ژن رسم گردید. از آزمون‌های آماری one-way ANOVA و Tukey's HSD post-hoc به‌منظور بررسی آماری میزان تغییرات بیان ژن‌ها استفاده شد؛ همچنین همهٔ واکنش‌ها به‌صورت دو تکرار انجام گردید. این مطالعه کد اخلاق کار بر محیط کشت جنین‌های انسانی از کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

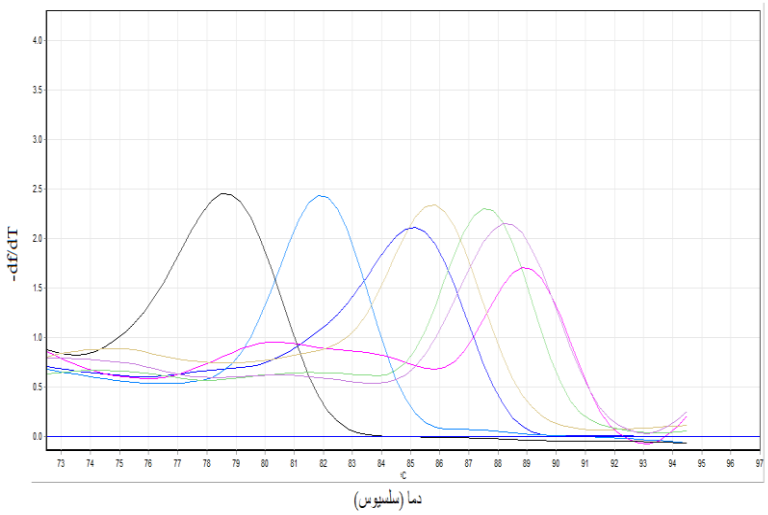
شمارهٔ IR.IAU.RASHT.REC.1398.053 دارد.

یافته های پژوهش

بررسی منحنی ذوب و تکثیر واکنش Real-time PCR ژن‌های مطالعه‌شده نشان داد که تکثیر ژن‌ها بدون آلودگی است و قطعات مدنظر به‌خوبی تکثیر شده‌اند. شکل‌های شمارهٔ ۱ و ۲ به‌ترتیب منحنی ذوب و تکثیر ژن‌های مطالعه‌شده را نمایش می‌دهد. نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری این شش miRNA در گروه‌های مطالعه که شامل محیط کشت سه جنین یوپلوئید از نظر کروموزوم جنسی که سلامتشان توسط آزمایش FISH بررسی‌شده بود و توسط پروب‌های رنگی کاملاً طبیعی و واضح کروموزوم‌های X و Y در آن‌ها مشاهده‌شده است، با محیط کشت سه جنین آنیوپلوئید از نظر کروموزوم‌های جنسی و با یک کروموزوم جنسی X (سندرم ترنر) نشان می‌دهد که میزان بیان این miRNAها در جنین‌های یوپلوئید و آنیوپلوئید الگوی متفاوتی را نشان می‌دهد که از نظر آماری نیز کاملاً معنی‌دار است.

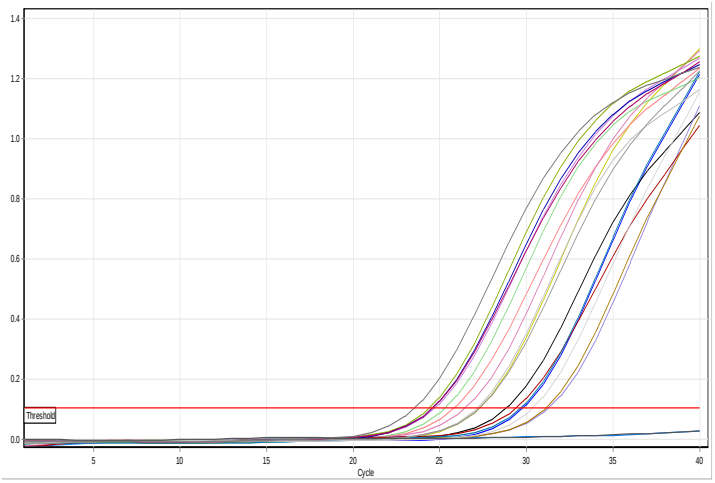
بیان hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p در محیط کشت جنین‌های یوپلوئید به‌طور معنی‌داری افزایش دارد و بیان hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p کاهش را نشان داد، درحالی‌که بیان این miRNAها در محیط کشت جنین‌های ترنر با یک کروموزوم جنسی X الگوی کاملاً عکس را نشان می‌دهد. در محیط کشت جنین‌های ترنر بیان سه miRNA، hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p به‌طور معنی‌داری کاهش دارد و hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p افزایش بیان می‌یابند. میزان و روند بیان این سه ژن در جنین‌های یوپلوئید در مقایسه با جنین‌های ترنر کاملاً برعکس، ناهمسو و با تفاوت معنی‌دار آماری است (شکل شمارهٔ ۳).

مقایسهٔ تک‌به‌تک و دقیق میزان بیان miRNA های محیط کشت جنین‌ها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری در جنین‌های یوپلوئید در مقایسهٔ با جنین‌های ترنر و با یک کروموزوم جنسی به همراه آنالیز آماری آن در جدول شمارهٔ ۲ آورده شده است. این نتایج در جنین‌های با کروموزوم‌های جنسی یوپلوئید بیان بالاتر در سه miRNA، hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p و بیان کمتر سه miRNA، hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p را و در جنین‌های با یک کروموزوم جنسی (ترنر) بیان بالاتر سه miRNA، hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p و بیان پایین‌تر سه miRNA، hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p را نشان می‌دهد.

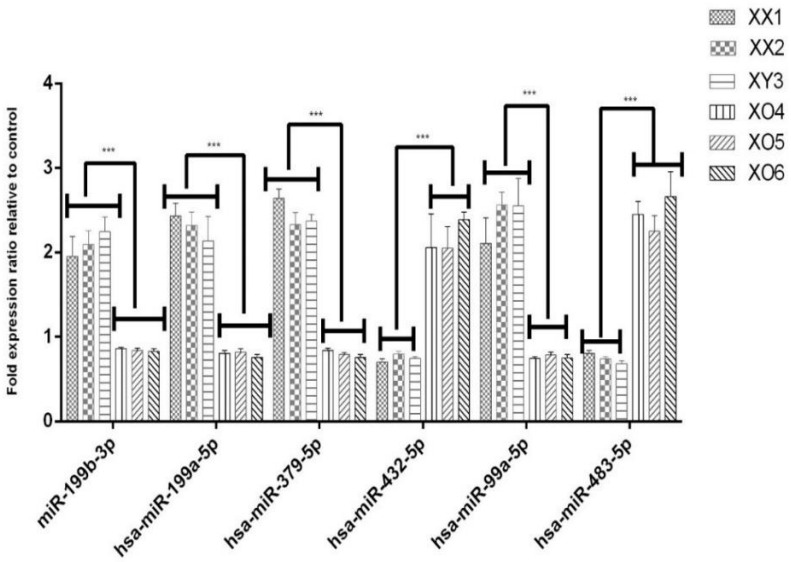


شکل شماره ۱. منحنی ذوب مربوط به hsa-miR-379-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p, hsa-miR-432-5p hsa-miR-199a-5p و hsa-miR-199b-3p در محیط کشت یک جنین یوپلوئید (نرم‌افزار Rest) (has-U6 به‌عنوان رفرنس در مطالعه قرار گرفته است).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]



شکل شماره ۲. تکثیر محصولات در Real-time PCR برحسب سیکل.(Ct) مراحل فاز خطی، فاز رشد نمایی تا رسیدن به فاز اشباع در این نمودار به‌خوبی نشان داده‌شده است. نمودارهای ذوب به‌صورت تجمیع ارائه گردیده‌اند (نرم‌افزار Rest).



شکل شماره ۱. نتایج آنالیز آماری بیان شش miRNA در نمونه‌های یوپلوئید و آنیوپلوئید (ترنر) از نظر کروموزوم‌های جنسی در جنین‌های انسانی.

جدول شماره ۲. مقایسهٔ تک‌به‌تک و دقیق میزان بیان miRNA های محیط کشت جنین‌ها با یکدیگر. بررسی دقیق فاصلهٔ اطمینان نتایج معنادار بیان miRNAهای محیط کشت جنین‌های یوپلوئید با جنین‌های ترنر با ضریب معناداری کمتر از ۰/۰۰۰۱ را برای بیان سه miRNA، hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p در مقایسه با miRNAهای hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p در جنین‌های یوپلوئید نشان می‌دهد (نرم‌افزار Rest).

آزمون مقایسه‌ای چندگانهٔ Tukey's	خطای اطمینان	فاصلهٔ اطمینان ۹۵ درصد	معناداری	مقدار احتمال P Value
hsa-miR-199b-3p				
XX1 vs. XX2, XY3	۲۹/۰-؛ ۱۴/۰-	۶۲/۰- تا ۳۴/۰ ؛ ۷۷/۰- تا ۱۹/۰	بی‌معنا	۰/۹۵ ؛۰/۴۶
XX1 vs. XO4, XO5, XO6	۱/۱۱ ؛۱/۱۲ ؛۱/۱۳	۶۲/۰ تا ۵۷/۱ ؛ ۶۴/ تا ۵۹/۱ ؛ ۶۵/ تا ۶۰/۱	معنادار	<۰/۰۰۰۱
XX2 vs. XY3	۱۵/۰-	۶۳/۰- تا ۳۳/۰	بی‌معنا	۰/۹۳

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

<۰/۰۰۰۱	معنادار	۷۶/۰ تا ۷۱/۱ ؛۰ ۷۸/ تا ۷۳/۱ ؛۰ ۷۹/ تا ۷۴/۱	۲۴/۱ ؛۱ ۲۶/ ؛۱ ۲۷/	XX2 vs. XO4, XO5, XO6
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۹۱/۰ تا ۸۶/۱ ؛۰ ۹۳/ تا ۸۸/۱ ؛۰ ۹۴/ تا ۸۹/۱	۳۹/۱ ؛۱ ۴۱/ ؛۱ ۴۲/	XY3 vs. XO4, XO5, XO6
>۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۶/۰ تا ۵۰/۰ ؛-۴۵/۰ تا ۵۱/۰	۰۲/۰ ؛۰ ۰۳/	XO4 vs. XO5, XO6
>۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۷/۰ تا ۴۹/۰	۰۱/۰	XO5 vs. XO6
				hsa-miR-199a-5p
۰/۹۸ ؛۰/۴۳	بی‌معنا	-۳۶/۰ تا ۵۹/۰ ؛-۱۸/۰ تا ۷۷/۰	۱۱/۰ ؛۰ ۳۰/	XX1 vs. XX2, XY3
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۱۵/۱ تا ۱۰/۲ ؛۱ ۱۴/ تا ۰۹/۲ ؛۱ ۲۰/ تا ۱۵/۲	۶۲/۱ ؛۱ ۶۱/ ؛۱ ۶۸/	XX1 vs. XO4, XO5, XO6
۰/۸۵	بی‌معنا	-۲۹/۰ تا ۶۶/۰	۱۹/۰	XX2 vs. XY3
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۰۴/۱ تا ۹۹/۱ ؛۱ ۰۳/ تا ۹۸/۱ ؛۱ ۰۹/ تا ۰۴/۲	۵۰/۱ ؛۱ ۵۱/ ؛۱ ۵۷/	XX2 vs. XO4, XO5, XO6
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۸۵/۰ تا ۸۱/۱ ؛۰ ۸۴/ تا ۷۹/۱ ؛۰ ۹۰/ تا ۸۶/۱	۳۳/۱ ؛۱ ۳۲/ ؛۱ ۳۸/	XY3 vs. XO4, XO5, XO6
>۰/۹۹ ؛۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۹/۰ تا ۴۶/۰ ؛-۴۳/۰ تا ۵۳/۰	۰۲/۰- ؛۰ ۰۵/	XO4 vs. XO5, XO6
۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۱/۰ تا ۵۴/۰	۰۷/۰	۶ vs. XO۵XO
				hsa-miR-379-5p
۰/۳۸ ؛۰/۵۶	بی‌معنا	-۱۷/۰ تا ۷۹/۰ ؛-۲۱/۰ تا ۷۴/۰	۳۱/۰ ؛۰ ۲۷/	XX1 vs. XX2, XY3
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۳۳/۱ تا ۲۸/۲ ؛۱ ۳۷/ تا ۳۲/۲ ؛۱ ۴۱/ تا ۳۶/۲	۸۰/۱ ؛۱ ۸۴/ ؛۱ ۸۹/	XX1 vs. XO4, XO5, XO6
۰/۹۹	بی‌معنا	-۵۲/۰ تا ۴۳/۰	۰۵/۰-	XX2 vs. XY3
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۰۲/۱ تا ۹۶/۱ ؛۱/۰۶ تا ۲/۰۱ ؛۱ ۱۰/ تا ۰۵/۲	۴۹/۱ ؛۱ ۵۴/ ؛۱ ۵۸/	XX2 vs. XO4, XO5, XO6
<۰/۰۰۰۱	معنادار	۰۶/۱ تا ۰۱/۲ ؛۱ ۱۱/ تا ۰۵/۲ ؛۱ ۱۵/ تا ۰۹/۲	۵۴/۱ ؛۱ ۵۸/ ؛۱ ۶۲/	XY3 vs. XO4, XO5, XO6
۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۳/۰ تا ۵۲/۰ ؛-۳۹/۰ تا ۵۶/۰	۰۴/۰ ؛۰ ۰۸/	۶XO4 vs. XO5, XO
۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۴/۰ تا ۵۲/۰	۰۴/۰	۶XO5 vs. XO
				hsa-miR-432-5p
۰/۹۹	بی‌معنا	-۵۷/۰ تا ۰/؛ ۳۹-۵۲/۰ تا ۴۴/۰	۰۹/۰- ؛ ۰۴/۰-	XX1 vs. XX2, XY3
<۰/۰۰۰۱	معنادار	-۸۳/۱ تا- ۸۸/۰ ؛-۸۲/۱ تا- ۸۷/۰ ؛-۱۶/۲ تا -۲۰/۱	-۳۵/۱ ؛-۳۴/۱ ؛-۶۸/۱	XX1 vs. XO4, XO5, XO6
۰/۹۹	بی‌معنا	-۴۲/۰ تا ۵۳/۰	۰۵/۰	XX2 vs. XY3
<۰/۰۰۰۱	معنادار	-۷۴/۱ تا- ۷۸/۰ ؛-۷۳/۱ تا- ۷۷/۰ ؛-۰۶/۲ تا -۱۱/۱	-۲۶/۱ ؛-۲۵/۱ ؛-۵۹/۱	XX2 vs. XO4, XO5, XO6
< ۰/۰۰۰۱	معنادار	-۷۹/۱ تا- ۸۴/۰ ؛-۷۸/۱ تا- ۸۳/۰ ؛-۱۲/۲ تا -۱۶۷/۱	-۳۱۵/۱ ؛-۳۱/۱ ؛- ۶۴/۱	XY3 vs. XO4, XO5, XO6
>۰/۹۹ ؛۰/۳۳	بی‌معنا	-۴۷/۰ تا ۴۸/۰ ؛-۸۰/۰ تا ۱۵/۰	۰۱/۰ ؛۰ ۳۳/۰-	XO4 vs. XO5, XO6
۰/۲۹	بی‌معنا	-۸۱/۰ تا ۱۴/۰	۳۴/۰-	XO5 vs. XO6
				hsa-miR-99a-5p

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

XX1 vs. XX2, XY3	۴۵/۰-؛ ۴۵/۰-	۹۳/۰- تا ۰۲/۰ ؛ ۹۲/۰- تا ۰۳/۰	بی‌معنا	۰/۰۷ ؛۰/۰۸
XX1 vs. XO4, XO5, XO6	۳۵/؛۱ ۳۲/ ؛۱ ۳۶/۱	۸۸/۰ تا ۸۳/۱ ؛۰ ۸۴/ تا ۷۹/۱ ؛۰ ۸۸/ تا ۸۳/۱	معنادار	<۰/۰۰۰۱
XX2 vs. XY3	۰۱/۰	۴۶/۰- تا ۴۸/۰	بی‌معنا	>۰/۹۹
XX2 vs. XO4, XO5, XO6	۸۱/ ؛۱ ۷۷/ ؛۱ ۸۱/۱	۳۴/۱ تا ۲۹/۲ ؛۱ ۳۰/ تا ۲۵/۲ ؛۱ ۳۳/ تا ۲۸/۲	معنادار	<۰/۰۰۰۱
XY3 vs. XO4, XO5, XO6	۸۰/ ؛۱ ۷۶/ ؛۱ ۸۱/۱	۳۳/۱ تا ۲۸/۲ ؛۱ ۲۹/ تا ۲۴/۲ ؛۱ ۳۲/ تا ۲۷/۲	معنادار	<۰/۰۰۰۱
XO4 vs. XO5, XO6	۰۱/۰- ؛۰۴/۰-	۵۱/۰- تا ۰/؛ ۴۳-۴۸/۰ تا ۴۷/۰	بی‌معنا	۰/۹۹
XO5 vs. XO6	۰۴/۰	۴۴/۰- تا ۵۱/۰	بی‌معنا	>۰/۹۹
hsa-miR-483-5p				
XX1 vs. XX2, XY3	۱۲/ ؛۰ ۰۷/۰	۴۱/۰- تا ۵۵/۰ ؛ ۳۶/۰- تا ۶۰/۰	بی‌معنا	۰/۹۹ ؛۰/۹۷
XX1 vs. XO4, XO5, XO6	۸۶/۱-؛ ۴۵/۱-؛ ۶۵/۱-	۱۲/۲- تا- ۱۷/۱ ؛ ۹۲/۱- تا- ۹۷/۰ ؛۳۳/۲- تا- ۳۸/۱	معنادار	<۰/۰۰۰۱
XX2 vs. XY3	۰۶/۰	۴۲/۰- تا ۵۳/۰	بی‌معنا	۰/۹۹
XX2 vs. XO4, XO5, XO6	۹۲/۱-؛ ۵۱/۱-؛ ۷۱/۱-	۱۹/۲- تا- ۲۴/۱ ؛ ۹۹/۱- تا- ۰۴/۱ ؛۴۰/۲- تا- ۴۵/۱	معنادار	<۰/۰۰۰۱
XY3 vs. XO4, XO5, XO6	۹۷/۱-؛۵۶/۱-؛۷۶/۱-	۲۴/۲- تا- ۲۹/۱ ؛۰۴/۲- تا- ۰۹/۱ ؛۴۵/۲- تا- ۵۰/۱	معنادار	<۰/۰۰۰۱
, XO6ەXO4 vs. XO5	۲۱/۰- ؛ ۲۰/۰	۲۸/۰- تا ۶۷/۰ ؛ ۶۹/۰- تا ۲۷/۰	بی‌معنا	۰/۸۰ ؛۰/۷۷
XO5 vs. XO6	۴۱/۰-	۸۹/۰- تا ۰۶۵/۰	بی‌معنا	۰/۱۲

توجه: $P<0.05$ از نظر آماری بی‌معنا در نظر گرفته شد و t تست و یا آزمون فیشر دقیق مبنا قرار گرفت.

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به محدودیت‌ها و میزان موفقیت اندک IVF ناشی از شکست لانه‌گزینی پس از درمان IVF-ET، بررسی بیومارکرها برای کیفیت جنین و پیش‌بینی نتایج انتقال جنین می‌تواند به توسعهٔ روش‌های کمک‌باروری کمک کند (۱۲). فن‌های غیرتهاجمی بررسی ژنتیکی کروموزوم‌های جنین‌ها به‌ویژه بررسی‌های دقیق مولکولی و تشخیصی در سطح miRNAها، در دههٔ اخیر بسیار موردتوجه دانشمندان و پزشکان بوده است، به‌ویژه به دنبال شبهاتی که دربارهٔ آسیب به جنین در طول نمونه‌برداری و یا کاهش پتانسیل تکوین و لانه‌گزینی و به دنبال آن، شانس بارداری وجود دارد. علی‌رغم پیشرفت‌های بسیار در آزمایش‌های ژنتیکی ازجمله استفاده از توالی‌یابی نسل جدید (NGS) و انجام عمل بیوپسی روی جنین، به علت کاهش پتانسیل تکوینی، همچنان چالش‌برانگیز است. آثار روش‌های تهاجمی بررسی جنین‌ها پیش از لانه‌گزینی همواره موردبحث و بررسی است و مطالعاتی با داده‌هایی ناهمسو از آن موجود است (۱۱). در مطالعهٔ حاضر، تفاوت miRNAهای میان جنین‌های یوپلوئید از نظر کروموزوم‌های جنسی در برابر جنین‌های ترنر (با یک کروموزوم جنسی X) سنجیده شد. تفاوت معنی‌دار بیان بیشتر سه miRNA، hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p در جنین‌های یوپلوئید و در مقابل، بیان کمتر سه miRNA، hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p مشاهده گردید. الگوی بیان این miRNAها کاملاً عکس miRNAهای محیط کشت جنین‌های ترنر بود.

اخیراً نقش انواع نشانگرهای زیستی ازجملهmiRNA ها، پروتئین‌ها و هورمون‌ها در محیط کشت جنین، به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. بورگس و همکاران

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

پیشنهاد کردند که miR-142-3p ممکن است یک نشانگر زیستی بالقوه برای شکست کاشت بلاستوسیست باشد (۱۳) و افزایش سطح آپولیپوپروتئین A1 در محیط کشت حاوی بلاستوسیست‌های با درجهٔ مورفولوژیکی بالاتر وجود دارد که ممکن است نقش لیپوپروتئین‌ها را در رشد جنینی اولیه نشان دهد (۱۴). ونگ و همکاران گنادوتروپین جفتی بتا انسانی (HCG) ترشح‌شده را به‌عنوان یک نشانگر زیستی مفید برای انتخاب جنین در روش IVF-ET نشان دادند (۱۵)، درحالی‌که ونگ و همکاران گزارش دادند که غلظت HCG در محیط کشت ارتباط مثبتی با وضعیت رشد اولیهٔ جنین و نرخ لانه‌گزینی دارد و بنابراین، به‌عنوان یک نشانگر مفید برای انتخاب جنین در روش IVF-ET عمل می‌کند (۱۵). در این پژوهش، پروفایل‌های شش miRNA ترشح‌شده از جنین‌های پیش از لانه‌گزینی در نمونه‌های محیط کشت میان یک گروه جنین‌های با کروموزوم‌های جنسی طبیعی و یک گروه با یک کروموزوم جنسی X که تحت درمان IVF و آزمایش ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی قرار گرفته بودند، به‌عنوان نشانگرهای زیستی، برای مقایسه با نتایج آزمایش ژنتیکی تجزیه‌وتحلیل گردید. درمجموع، شش miRNA شناخته‌شده در نمونه‌های محیط کشت گروه باردار شناسایی شد و از میان آن‌ها، سه miRNA شامل hsa-miR-199a-5p، hsa-miR-483-5p و hsa-miR-432-5p در محیط کشت جنین‌های با دو کروموزوم جنسی سالم، بیان بالاتری داشتند.

شواهد چشمگیری نشان داده‌اند که miR-199a-5p در سرطان‌های مختلف نقش دارد (۱۶) و گزارش‌شده است که mmu-miR-199a-5p ، خود تجدید سلول‌های بنیادی جنینی موش را خاموش می‌کند (۱۷). سنگ و همکاران گزارش دادند که در مقایسه با یک گروه لقاح داخل بدن، miR-199a-5p با تنظیم پایین در بلاستوسیست‌های IVF مسئول پتانسیل رشد کمتر و زنده ماندن بعدی است (۱۹). درمجموع، در طرح حاضر به این نتیجه رسیدیم که بیان miRNA های hsa-miR-379-5p, hsa-miR-199a-5p, hsa-miR-199b-3p ارتباط نزدیکی با تعداد کروموزوم‌های جنسی جنین دارد؛ اما سازوکار اساسی الگویابی بیان این miRNA ها در جنین‌های پیش از لانه‌گزینی، نیاز به کاوش بیشتری دارد.

ازآنجاکه بیان بیش‌ازحد miR-483-5p تکثیر سلول‌های گلیوما را سرکوب می‌کند و باعث توقف G0/G1 می‌گردد، به‌عنوان یک سرکوب‌کنندهٔ تومور در نظر گرفته می‌شود (۱۸). گزارش‌شده است که miR-483-5p غلظت پروژسترون را در یک ردهٔ سلولی تومور مانند گرانولوزای انسان استروئیدوژن تنظیم می‌کند (۱۹). miR-483-5p با تنظیم پایین در سلول‌های کومولوس تخمک متافاز II از زنان مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک مشاهده شد (۲۰) و یک مطالعهٔ اکتشافی نشان داد که miR-483-5p تنظیم‌نشده با پیامدهای نامطلوب مرتبط با بارداری مرتبط است (۲۱). گزارش‌شده است که miR-483-5p یک تنظیم‌کنندهٔ اختصاصی سطح MeCP2 در مغز جنین انسان است (۲۲)، درحالی‌که کاهش miR-483-5p در جفت بیماران مبتلا به مسمومیت بارداری (پره‌اکلامپسی) و زایمان زودرس در مقایسه با زمان طبیعی حاملگی مشاهده شد که نشان می‌دهد تغییر بیان و عملکرد بیمار ممکن است با عوارض بارداری مرتبط باشد (۲۳). در این مطالعه، بیان کمتر سه miRNA، hsa-miR-432-5p, hsa-miR-483-5p, hsa-miR-99a-5p در نمونهٔ محیط کشت گروه جنین‌های با دو کروموزوم جنسی طبیعی شناسایی شد، درحالی‌که دقیقاً همین سه miRNA در گروه جنین‌های با یک کروموزوم جنسی X و سندروم ترنر، بیان بالاتری را به‌صورت معناداری نشان دادند. این یافته‌ها ممکن است نشان دهد که این سه miRNA نقش متمایز و منحصربه‌فردی را در تنظیم تعداد کروموزوم‌های جنین ایفا می‌کند.

در سال‌های اخیر، نقش miR-432-5p در سرطان‌ها به‌طور گسترده مطالعه شده است. مطالعه پیشین نشان داد که کاهش miR-432-5p با هدف قرار دادن E2F3 باعث رشد و مهاجرت سلول‌های سرطان سینه می‌شود (۲۴)؛ همچنین گزارش‌شده است که miR-432-5p با فعال کردن سیگنال‌دهی Wnt/β-catenin و ترویج رشد و متاستاز سلولی در کارسینوم سلول‌های کبدی انسان، در تسهیل پیشرفت سلولی نقش دارد (۲۶، ۲۵). یانگ و همکاران گزارش کردند

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

که سطوح پایین‌تری از miR-432-5p هم در بافت‌ها و هم در سلول‌های گلیوم مشاهده گردید (۲۷). بر اساس بررسی‌ها، هیچ مطالعه‌ای وجود ندارد که miR-432-5p را با کاهش تعداد کروموزوم‌های جنسی جنین مرتبط کند. در مطالعهٔ حاضر، بیان hsa-miR-432-5p در نمونهٔ محیط کشت گروه جنین‌های با کروموزوم جنسی طبیعی افزایش بیان داشت که نشان‌دهندهٔ تأثیر تعداد کروموزوم‌های جنسی در بیان بالاتر این miRNAها است، هرچند نقش hsa-miR-432-5pدر تعداد کروموزوم‌های جنسی جنین باید بیشتر مطالعه شود.

محدودیت‌های مطالعهٔ حاضر، فراوانی اندک miRNAها و حجم اندک نمونه است. اگرچه نتایج qRT-PCR قابلیت اطمینان نتایج توالی‌یابی RNA ما را نشان می‌دهد، آزمایش‌های ex-vivo برای تأیید نقش miRNAهای بررسی‌شده در این مطالعه مورد نیاز است و اعتبار بالینی با حجم نمونهٔ بزرگ‌تر الزامی است تا اثربخشی آن را تأیید کند.

یافته‌های حاصل از بررسی و تحلیل بیان شش miRNA ذکرشده که تاکنون بررسی مشابه آن صورت نگرفته بود، نقطه قوت این طرح را نشان می‌دهد. این نتایج ممکن است با تنظیم ژن‌های هدف در تعداد کروموزوم‌های جنسی جنین نقش داشته باشند و امکان استفاده از miRNAهای ترشح‌شده توسط جنین‌ها در محیط کشت را به‌عنوان نشانگرهای زیستی غیرتهاجمی، برای پیش‌بینی نتایج آزمایش‌های ژنتیکی پیش از لانه‌گزینی نشان می‌دهد.

سپاس‌گزاری

از همکاری‌های صمیمانهٔ پروفسور احمد حسینی و خانم دکتر مرضیه مهرافزا، رئیس و مدیرعامل مرکز تحقیقات و درمان ناباروری مهر پویای گیل رشت، برای در اختیار گذاشتن امکانات آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌کنیم.

تعارض منافع

بدین‌وسیله همهٔ نویسندگان اظهار می‌دارند که هیچ تعارض منافعی دربارهٔ این تحقیق وجود ندارد. تمام نویسندگان در طراحی، اجرا و نگارش همه بخشهای پژوهش حاضر مشارکت داشته اند.

کد اخلاق: IR.IAU.RASHT.REC.1398.053

References

1. Palermo G, Joris H, Devroey P, Van Steirteghem AC. Pregnancies after intracytoplasmic injection of single spermatozoon into an oocyte. Lancet 1992; 340:17-8. doi: 10.1016/0140-6736(92)92425-F.
2. Yang D, Brown SE, Nguyen K, Reddy V, Brubaker C, Winslow KL. Live birth after the transfer of human embryos developed from cryopreserved oocytes harvested before cancer treatment. Fertil Steril 2007; 1: 87:1469-e1. doi: 10.1016/j.fertnstert.2006.07.1546.
3. Edwards RG, Steptoe PC, Purdy JM. Fertilization and cleavage in vitro of preovulatory human oocytes. Nature 1970; 26:227:1307-9. doi:10.1038/2271307a0.
4. Niu X, Wang CT, Li R, Haddad G, Wang W. Is day 7 culture necessary for in vitro fertilization of cryopreserved/warmed human oocytes? Reprod Biol Endocrinol 2020; 18:1-4. doi: 10.1186/s12958-020-0565-9.
5. Singla S, Iwamoto-Stohl LK, Zhu M, Zernicka-Goetz M. Autophagy-mediated apoptosis eliminates aneuploid cells in a mouse model of chromosome mosaicism. Nat Commun 2020; 11:2958. doi: 10.1038/s41467-020-16796-3.
6. Bassan S. Different but same: A call for a joint pro-active regulation of cross-border egg and surrogacy markets. Health Matrix Clevel 2018; 28:323-374.
7. Rama Raju GA, Jaya Prakash G, Murali Krishna K, Madan K. Neonatal outcome after vitrified day three embryo transfers: a preliminary study. Fertil Steril 2009; 92:143-8. doi: 10.1016/j.fertnstert.2008.05.014.
8. Jiang B, Li W, Stewart S, Ou W, Liu B, Comizzoli P, et al. Sand-mediated ice seeding enables serum-free low-cryoprotectant cryopreservation of human induced pluripotent stem cells. Bioac Mater 2021; 6:4377-88. doi: 10.1016/j.bioactmat.2021.04.025.
9. Gradstein SR, Hekking WH. Studies on Colombian Cryptogams IV. A catalog of the Hepaticae of Colombia. J Hattori Bot Lab 1979; 455:93-144.
10. Gardner D, Weissman A, Howles CM, Shoham Z. Textbook of Assisted Reproductive Techniques: Volume 2: Clinical Perspectives: CRC Press. 2017; P.468-76.
11. Aghajani S, Salehzadeh A, Ghasemian F, Mehrafza M, Hosseini A. Teffect of Single Embryo Blastomere Biopsy from Human Frozen Embryos on Assisted Reproductive Outcomes. Cell J 2022; 24:628-36. doi: 10.22074/cellj.2022.8328.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]

12. Norwitz ER, Schust DJ, Fisher SJ. Implantation and the survival of early pregnancy. New England J Med 2001; 345:1400-8. doi: 10.1056/NEJMra000763.
13. Borges Jr E, Setti AS, Braga DP, Geraldo MV, Rita de Cássia SF, Iaconelli Jr A. miR-142-3p as a biomarker of blastocyst implantation failure-A pilot study. JBRA Assist Reprod 2016; 20:200-205. doi: 10.5935/1518-0557.20160039.
14. Mains LM, Christenson L, Yang B, Sparks AE, Mathur S, Van Voorhis BJ. Identification of apolipoprotein A1 in the human embryonic secretome. Fertil Steril 2011; 96:422-7. doi: 10.1016/j.fertnstert.2011.05.049.
15. Wang H, Zhang R, Han D, Liu C, Cai J, Bi Y, et al. Association of human chorionic gonadotropin level in embryo culture media with early embryo development. Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao 2014; 34:1039-41, 1047.
16. Tan K, Wang X, Zhang Z, Miao K, Yu Y, An L, et al. Downregulation of miR-199a-5p disrupts the developmental potential of in vitro-fertilized mouse blastocysts. Biol Reprod 2016; 95:54-1. doi.: 10.1095/biolreprod.116.141051.
17. Wang Y, Melton C, Li YP, Shenoy A, Zhang XX, Subramanyam D, et al. miR-294/miR-302 promotes proliferation, suppresses G1-S restriction point, and inhibits ESC differentiation through separable mechanisms. Cell Rep 2013; 4:99-109. doi: 10.1016/j.celrep.2013.05.027.
18. Wang L, Shi M, Hou S, Ding B, Liu L, Ji X, et al. MiR-483-5p suppresses the proliferation of glioma cells via directly targeting ERK1. FEBS let 2012; 586:1312-17. doi: 10.1016/j.febslet.2012.03.035.
19. Sang Q, Yao Z, Wang H, Feng R, Wang H, Zhao X, et al. Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome in vivo. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98:3068-79. doi: 10.1210/jc.2013-1715.
20. Shi L, Liu S, Zhao W, Shi J. miR-483–5p and miR-486–5p are down-regulated in cumulus cells of metaphase II oocytes from women with polycystic ovary syndrome. Reprod Biomed Online 2015; 31:565-72. doi: 10.1016/j.rbmo.2015.06.023.
21. Rodosthenous RS, Burris HH, Sanders AP, Just AC, Dereix AE, Svensson K, et al. Second trimester extracellular microRNAs in maternal blood and fetal growth: an exploratory study. Epigenetics 2017; 12:804-10. doi: 10.1080/15592294.2017.1358345.
22. Han K, Gennarino VA, Lee Y, Pang K, Hashimoto-torii K, Choufani S, et al. Human-specific regulation of MeCP2 levels in fetal brains by microRNA miR-483-5p. Genes Dev 2013; 27:485-90. doi: 10.1101/gad.207456.112.
23. Mayor-Lynn K, Toloubeydokhti T, Cruz AC, Chegini N. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor. Reprod Sci 2011; 18:46-56. doi: 10.1177/19337191103741.
24. Liu Y, Lu C, Zhou Y, Zhang Z, Sun L. Circular RNA hsa_circ_0008039 promotes breast cancer cell proliferation and migration by regulating miR-432-5p/E2F3 axis. Biochem Biophys Res Commun 2018; 502:358-63. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.05.166.
25. Jiang N, Chen WJ, Zhang JW, Xu C, Zeng XC, Zhang T, et al. Downregulation of miR-432 activates Wnt/β-catenin signaling and promotes human hepatocellular carcinoma proliferation. Oncotarget 2015; 6:7866. doi: 10.18632/oncotarget.3492.
26. Liu H, Xue L, Song C, Liu F, Jiang T, Yang X. Overexpression of circular RNA circ_001569 indicates poor prognosis in hepatocellular carcinoma and promotes cell growth and metastasis by sponging miR-411-5p and miR-432-5p. Biochem Biophys Res Commun 2018; 503:2659-65. doi: 10.1016/j.bbrc.2018.08.020.
27. Yang G, Han B, Feng T. ZFAS1 knockdown inhibits viability and enhances cisplatin cytotoxicity by up-regulating miR-432-5p in glioma cells. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2019; 125:518-26. doi: 10.1111/bcpt.13286.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-02]