Journal of Ilam University of Medical Sciences

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

Association of KISS1R gene polymorphism (rs397515615) with idiopathic female infertility in the northern of Iran

Peghah Yousefkhah [1], Hamid Reza Vaziri [1*], Tooba Mirzapour [1*]

[1] Dept of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Dec. 14, 2023
Received in Revised Form: Feb. 23, 2024
Accepted: May. 21, 2024
Published Online: Oct. 06,2024

**** Correspondence to:***
Hamid Reza Vaziri
Tooba Mirzapour
Dept of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Email:
vaziri@guilan.ac.ir
dr.tooba72@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: Mutations in the KISS1R gene are among the most critical potential causes of infertility. This gene plays a role in the regulation of the hypothalamus-pituitary-gonadal (HPG) axis and is used in the regulation of reproductive cycles and maturation of humans. The present study aimed to investigate the relationship between the Gly56Ala genetic variation of the KISS1R gene and infertility in a population of women in northern Iran.

Materials & Methods: In this work, among the women referred to Al-Zahrai Hospital of Rasht (Gilan Province, Iran) 100 women (50 infertile and 50 healthy) with age range (35.1 ± 2.1) were examined as patient and control group, respectively. Blood samples were collected with a volume of 2 ml and poured into EDTA carrier tubes. The DNA was extracted from leukocytes using a GPP kit. Allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR) was used to determine the genotype of KISSIR gene polymorphism (rs397515615).

Results: The findings indicated that there was no significant correlation in genotype distribution between patients and control subjects in the samples evaluated in Gilan Province, Iran (P=0.216).

Conclusion: The Gly56Ala polymorphism of the KISS1R gene is not related to an increase in the risk of female infertility in the population of Gilan Province, Iran. Moreover, this gene is not considered a risk factor for female infertility in northern Iran. The change in the sampling location or size makes it possible to obtain different results.

Keywords: Allele-specific polymerase chain reaction (AS-PCR), Infertility, KISS1R gene, Polymorphism

How to cite this paper: Yousefkhah P, Vaziri HR, Mirzapour T. Association of KISS1R gene polymorphism (rs397515615) with idiopathic female infertility in the northern of Iran. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2024;32(4):99-109.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

© The Author(s)

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

P-ISSN: ۱۵۶۳-۴۷۲۸

E-ISSN: ۲۵۸۸-۳۱۳۵

ارتباط پلی‌مورفیسم rs397515615 ژن گیرندهٔ KISS1 با ناباروری ایدیوپاتیک زنان در شمال ایران

پگاه یوسف خواه [۱]، حمیدرضا وزیری [۱*]، طوبی میرزاپور [۱*]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۲/۰۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۱

تاریخ انتشار: ۱۴۰۳/۰۷/۱۵

نویسنده مسئول:

حمیدرضا وزیری

طوبی میرزاپور

گروه زیست شناسی, دانشکده علوم, دانشگاه گیلان , رشت ,ایران

Email:

vaziri@guilan.ac.ir

dr.tooba72@gmail.com

چکیده

مقدمه: جهش در ژن KISS1R یکی از حیاتی‌ترین علل بالقوهٔ ناباروری است. این ژن در تنظیم محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد (HPG) نقش دارد و در تنظیم چرخه‌های تولیدمثل و بلوغ افراد به‌کار گرفته می‌شود. هدف از این ارزیابی بررسی ارتباط تنوع ژنتیکی Gly56Ala ژن KISS1R با ناباروری در جمعیتی از زنان شمال ایران بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش، از میان زنان مراجعه‌کننده به بیمارستان الزهرای رشت، ۱۰۰ زن شامل ۵۰ فرد نابارور و ۵۰ فرد سالم (کنترل)، با دامنهٔ سنی (۳۵/۱±۲/۱)، به‌عنوان گروه بیمار و کنترل بررسی گردیدند. نمونه‌های خون با حجم ۲ میلی‌لیتر جمع‌آوری و به داخل لوله‌های حامل EDTA ریخته شد. DNA با استفاده از کیت GPP از لکوسیت‌ها استخراج گردید. برای تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم ژن KISSIR (rs397515615)، از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی آلل (AS-PCR) استفاده شد.

یافته‌های پژوهش: نتایج نشان داد، ارتباط معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ میان بیماران و افراد کنترل در نمونه‌های ارزیابی‌شده در این استان وجود ندارد (P=0.216)..

بحث و نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم Gly56Ala ژن KISS1R با افزایش خطر ناباروری زنان در جمعیت استان گیلان مرتبط نیست و این ژن به‌عنوان عامل خطر ناباروری زنان در شمال ایران به‌شمار نمی‌آید. با تغییر مکان یا اندازه نمونه‌گیری احتمالاً بتوان نتایج متفاوتی به‌دست آورد.

واژه‌های کلیدی: ناباروری، ژن KISS1R، پلی‌مورفیسم

استناد: یوسف خواه پگاه، وزیری حمیدرضا، میرزاپور طوبی. ارتباط پلی‌مورفیسم rs397515615 ژن گیرندهٔ KISS1 با ناباروری ایدیوپاتیک زنان در شمال ایران. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، مهر ۱۴۰۳؛ (۴)۳۲: ۱۰۹-۹۹.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

CC BY NC

مقدمه

ناباروری به‌عنوان باردار نشدن پس از گذشت ۱۲ ماه، با وجود ادامهٔ آمیزش جنسی محافظت‌نشده توصیف می‌شود (۱). علت ناباروری چندعاملی است و عوامل زنانه و مردانه در آن دخیل هستند. عوامل زنانهٔ مرتبط با ناباروری شامل هورمون‌ها، سن، بیماری‌های عفونی، چاقی، ناهنجاری‌های گامت، اختلالات پزشکی، عوامل ناشی از سموم محیطی، سرطان، ترومبوز و بیماری‌های خودایمنی است (۲).

ناباروری بین ۸ تا ۱۲ درصد از زوج‌های بالغ در سراسر جهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. ناباروری ثانویه شناخته‌شده‌ترین نوع ناباروری زنان در سراسر جهان است که اغلب به علت عفونت‌های دستگاه تناسلی ایجاد می‌شود. سه عامل اصلی تأثیرگذار بر ناباروری عبارت‌اند از: استفاده از داروها برای کنترل بارداری ناخواسته، سن بیمار و بیماری‌های مربوط به تخمدان (۳). علل یا عواملی را که به ناباروری زنان منجر می‌گردد، می‌توان بر اساس اینکه آیا ارثی است و یا کاملاً بر اساس محیط هستند، طبقه‌بندی کرد؛ به‌عبارت‌دیگر، ناباروری زنان معمولاً ترکیب پیچیده‌ای از عوامل محیطی و غیرمحیطی است. انجمن پزشکی باروری آمریکا (ASRM) بیان می‌کند که سن، عادت سیگار کشیدن، عفونت‌هایی که از طریق جنسی منتقل می‌شوند، داشتن اضافه‌وزن یا تودهٔ بدنی کم، همگی در کنار هم می‌توانند بر باروری تأثیر بگذارند؛ اما به‌تنهایی به ناباروری منجر نمی‌گردند (۴).

از سویی، ژن‌های متعددی کشف شده‌اند که جهش در آن‌ها می‌تواند به ناباروری زنان بینجامد. این ژن‌ها می‌توانند به‌عنوان عوامل ارثی به نسل‌های بعد منتقل شوند (۵). گیرندهٔ جفت‌شده به پروتئین G نوع ۵۴ GPR54() که به‌عنوان گیرندهٔ ژن KISS1 (KISS1R) نیز شناخته‌شده، یکی از حیاتی‌ترین ژن‌هایی است که در باروری نقش دارد. در انسان، ژن KISS1R بر روی بازوی بلند کروموزوم شمارهٔ ۱۳ قرار دارد و حاوی پنج اگزون و چهار اینترون با ORF 1197 جفت باز است که یک پروتئین با ۳۹۸ اسید آمینه را کد می‌کند. داشتن سه محل برای گلیکوزیله شدن و هفت ناحیهٔ گذرکننده از غشا از حوزه‌های ساختاری این ژن به‌شمار می‌آیند (۶).

کیسپپتین (KP) که یک نوروپپتید مترشحه از هیپوتالاموس است و KISS1R/Kiss1r که گیرندهٔ KP است، مهم‌ترین بازیگران کلیدی مسیر سیگنالینگ هیپوتالاموس هستند (۸، ۷). KP و KISS1R از محصولات کدشدهٔ ژن KISS1 و KISS1R به‌طور جداگانه‌اند (۱۰، ۹). پروتئینی که توسط این ژن کدگذاری می‌شود، به‌عنوان گیرندهٔ نوروپپتیدی کیسپپتین (پروتئین ژن KISS1) به‌شمار می‌آید و در خط مقدم کنترل نوروآندوکرین محور هیپوتالاموس- هیپوفیز- گناد بیان می‌شود. بررسی‌های پیشین نشان داده است که نوروپپتید کیسپپتین و گیرندهٔ آن، GPR54، به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های مهم برای ترشح هورمون آزادکنندهٔ گنادوتروپین (GnRH) عمل می‌کنند. هورمون آزادکنندهٔ گنادوتروپین توسط کیسپپتین از طریق GPR54 تحریک می‌گردد و به دنبال آن، ترشح هورمون LH برای شروع بلوغ اتفاق می‌افتد. همان‌طور که می‌دانیم، هورمون محرک فولیکولی (FSH) نیز بخشی از این دستگاه سیگنال‌دهی تحریک و بازخورد به‌شمار می‌آید (۱۱).

مجموعهٔ گسترده‌ای از اطلاعات نشان داده است که بلوغ در نخستینی‌ها و غیر پریمات‌ها توسط مسیرهای سیگنالینگ KP-kiss1r تنظیم می‌شود (۱۲، ۶). تغییر ظرفیت ژن‌های KISS1 یا KISS1R در انسان به بالغ نشدن یا به تعویق افتادن دورهٔ نوجوانی منجر می‌گردد (۱۳، ۶). جهش در ژن KISS1R برخی مشکلات بلوغ را به دنبال دارد (۱۴).

ترائو و همکاران برای اولین بار گزارش کردند که بیان mRNA کیسپپتین در تخمدان موش‌های صحرایی نشان‌دهندهٔ نقش مهم کیسپپتین در بافت تولیدمثلی است (۱۵).

امروزه ارتباط میان پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی و استعداد ابتلا به بیماری‌های مختلف بسیار مورد توجه قرار گرفته است. پلی‌مورفیسم مکان مشخصی در ژنوم است. اگر دست‌کم دو توالی متفاوت یا آلل در یک جمعیت رخ دهند، برای یک ناحیه‌ای که پلی‌مورفیک نامیده می‌شود، آلل نادرتر باید حداقل در ۱- ۰/۵ درصد از جمعیت یافت گردد (۱۶). حذف نوکلئوتید G از کدون ۵۶ (rs397515615) یکی از چندشکلی‌های موجود (پلی‌مورفیسم) در ژن مطالعه‌شده

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

است. ازآنجاکه حذف آلل G در موقعیت mRNA 326 گیرندهٔ KISS1 رخ می‌دهد، ممکن است تغییرات چشمگیری در پروتئین کدگذاری‌شده ایجاد کند. این حذف می‌تواند به ایجاد جهش تغییر قاب منجر گردد و ترتیب رمزگذاری اسید آمینه پس از این موقعیت کاملاً تغییر نماید؛ بنابراین، این پلی‌مورفیسم پروتئین KISS1R را تغییر می‌دهد. با وجود اهمیت این جهش، هیچ ارتباطی میان این تنوع ژنتیکی و ناباروری ایدیوپاتیک در مردان گزارش نشده است. تا به امروز، هیچ مطالعه‌ای دربارهٔ پلی‌مورفیسم کدون ۵۶ ژن KISS1R در زنان انجام‌نشده است. در دهه‌های اخیر، تولید و استفاده از مواد شیمیایی مختلف در سراسر جهان به‌طور چشمگیری افزایش‌یافته است. برخی از این مواد شیمیایی فعال‌کننده‌های زیستی مانند شبه‌هورمون‌ها هستند و می‌توانند عملکرد فیزیولوژیکی هورمون‌های درون‌زا را مختل کنند. به دنبال آن، دستگاه‌های بیولوژیکی ازجمله متابولیسم، تبادل انرژی، تولیدمثل، رشد، پیری و مرگ تحت تأثیر این مختل‌کننده‌های شیمیایی غدد درون‌ریز قرار می‌گیرند (۱۷). اختلال در فعالیت غدد درون‌ریز می‌تواند بر تخمک‌گذاری، رشد، بلوغ فولیکول و پارگی آن تأثیر بگذارد. این حالت در ۲۰ درصد از زوج‌های نابارور وجود دارد. گاهی اوقات در افراد رحم، حفرهٔ رحم و صفاق و لوله‌های فالوپ تحت تأثیر قرار می‌گیرند و چسبندگی‌های مختلف لگنی در دستگاه تناسلی زنانه اتفاق میافتد. این مشکلات رحمی در حدود ۳۰ درصد از زوج‌های نابارور مشاهده می‌شود (۱۸). البته ناباروری را می‌توان به‌عنوان یک بیماری چندعاملی تعریف کرد که در آن، عوامل مختلف ژنتیکی و محیطی دخیل هستند. در این تحقیق به بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم ژن GPR54 و ناباروری ایدیوپاتیک در زنان پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

در ارزیابی حاضر، ۱۰۰ زن شامل ۵۰ فرد نابارور و ۵۰ فرد سالم (کنترل) به‌ترتیب به‌عنوان گروه‌های بیمار و شاهد ارزیابی گردیدند. افرادی که برای کنترل وضعیت خود به بیمارستان الزهرای گیلان (واقع در شمال ایران) مراجعه کرده بودند و آزمایش‌های مربوط به شاخص‌های ناباروری را در بیمارستان طی یک سال گذشته انجام داده بودند، به‌عنوان شاهد و بیمار وارد مطالعه شدند. افرادی که پس از معاینات بالینی و انجام آزمایش‌های مختلف، هیچ‌گونه بیماری در آنان تشخیص داده نشد، به‌عنوان سالم (کنترل) و سایر به‌عنوان بیمار در نظر گرفته شدند. متخصصان آموزش‌دیده افراد بیمار را شناسایی کردند. بررسی سابقهٔ خانوادگی افرادی که مصاحبه‌شده بودند و همچنین سوابق بالینی به‌عنوان یک شاخص مناسب برای تعیین ناباروری استفاده گردید. گروه شاهد شامل افراد بزرگ‌سال دارای حداقل یک فرزند در نظر گرفته شد. پیش از ورود آزمودنی‌ها به مطالعهٔ حاضر، همهٔ آنان برگه‌های رضایت آگاهانه را پر کردند و رضایت خود را برای شرکت در مطالعه اعلام نمودند. تمام مراحل انجام کار مورد تایید کمیته اخلاق دانشگاه گیلان قرار گرفت (شناسه اخلاق IR.IUMS.FMD.REC 1396.33110). معمولاً در پژوهش‌های ژنتیک، هرچه مطالعه بر روی نمونه‌های بیشتری صورت گیرد، اطمینان بیشتری حاصل می‌شود که نتایج از نظر آماری قابل‌اعتماد و تعمیم‌پذیر است. بر اساس منظور اصلی این پژوهش که تشخیص آثار کوچک پلی‌مورفیسم یک ژن خاص است و همچنین میزان تنوع ژنتیکی جمعیت استان گیلان، سطح اهمیت آماری و قدرت آماری، بودجه و زمان انجام پژوهش و نیز بر اساس نتایج مقالات پیشین انجام‌شده، تعداد ۵۰ نمونه بیمار و ۵۰ نمونه سالم (کنترل) برای این پژوهش در نظر گرفته شد. درواقع، نقش تنوع ژنتیکی (KISS1R) Gly56Ala در ۵۰ بیمار نابارور و ۵۰ فرد سالم (کنترل) ارزیابی گردید.

نمونه‌های خون با حجم ۲ میلی‌لیتر از افراد گرفته شد و در لوله‌هایی با پوشش EDTA (بلژیک Venoject) نگهداری گردید. استخراج DNA از نمونه‌های خون محیطی (لکوسیت‌ها) با استفاده از روش استخراج کیت (ایران GPP,Gen Pajoohan)، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت گرفت. حضور DNA استخراج‌شده با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید تأیید گردید. DNA استخراج‌شده برای انجام کارهای مولکولی بعدی در دمای ۲۰- درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

برای تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم ژن KISSIR (rs397515615)، از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی آلل (AS-PCR) استفاده گردید. با استفاده از دو جفت پرایمر اختصاصی در واکنش PCR، محدودهٔ ژنی حاوی پلی‌مورفیسم مدنظر تقویت شد. با استفاده از نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی آلل، ژنوتیپ KISSIR تعیین گردید. توالی پرایمرها در جدول شمارهٔ ۱ نشان داده‌شده است.

کیفیت محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد و با استفاده از دستگاه ژل داک تعیین گردید. در این تحقیق، rs397515615 از ژن KISSIR در ناحیهٔ اگزون شمارهٔ یک بررسی شد. این پلی‌مورفیسم سه ژنوتیپ GG، G/– و –/– دارد (منظور از خط تیره آلل حذف‌شده است).

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای استفاده‌شده در این پلی‌مورفیسم

Rs397515615	Tm (°C)	Base Paired (bp)	توالی آغازگرها (5′ → 3′)
Gly56Ala (Mutant)	64	521	F: 5′ CGAGCCCCTTCCTGAGTTCC 3′ R: 5′ CGAGTTCCCCACCAGGCCC 3′
Gly56Ala (Healthy)	63	300	F: 5′ GCTCTCACTCCGACCTTGC 3′ R: 5′ CGAGTTCCCCACCAGGCCA 3′

محصولات PCR حاصل از ژن KISSIR دو قطعهٔ ۳۰۰ جفت بازی و ۵۲۱ جفت بازی بودند. واکنش PCR برای هر نمونهٔ استخراج‌شده به‌طور جداگانه انجام شد و ژنوتیپ‌ها برای هر فرد شناسایی گردیدند. محصولات PCR با یک Ladder با وزن مولکولی ۵۰ جفت باز، روی ژل آگارز ۲ درصد بارگذاری شدند. افراد (سالم و بیمار) که هر دو قطعه را پس از واکنش PCR با پرایمرهای سالم و جهش‌یافته تکثیر کردند، هتروزیگوت در نظر گرفته شدند و کسانی که تنها یک قطعهٔ ۵۲۱ جفت بازی یا تنها یک قطعهٔ ۳۰۰ جفت بازی را تکثیر کردند، به‌ترتیب هموزیگوت جهش‌یافته و هموزیگوت سالم ارزیابی گردیدند.

ابتدا توالی DNA ژن KISS1R از بانک ژن به‌دست آمد (NM_032551.4)؛ سپس نرم‌افزار الیگوآنالایزر (نسخهٔ ۷/۵۴) برای طراحی پرایمرها استفاده شد که پلی‌مورفیسم کدون ۵۶ KISS1R را تقویت می‌کند. حجم کل واکنش PCR 10 میکرولیتر بود (DNA استخراج‌شده ۲/۵ میکرولیتر، PCR Master Mix 5 میکرولیتر، پرایمر فوروارد ۰/۵ میکرولیتر، پرایمر معکوس ۰/۵ میکرولیتر، آب ۱/۵ میکرولیتر). در دستورالعمل ما، شرایط PCR برای آلل حذف‌شده (–) به شرح زیر بود: ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد برای ۵ دقیقه، ۳۴ چرخه در ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، دمای اتصال در ۶۲ درجهٔ سانتی‌گراد برای ۴۰ ثانیه. مؤلفه‌های واکنش PCR برای آلل G به آلل حذف‌شده (–) شباهت داشت؛ اما دمای اتصال برای آن ۶۳ درجهٔ سانتی‌گراد بود.

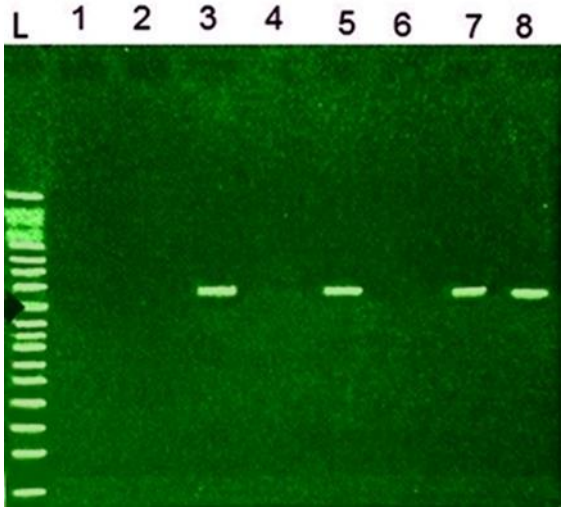
محصولات PCR روی ژل آگارز ۲ درصد ارزیابی شد و برای مشاهدهٔ محصولات از رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده گردید. درنهایت برای تأیید، همهٔ قطعات تکثیرشده توالی‌یابی و تجزیه‌وتحلیل شدند. برای تجزیه‌وتحلیل آماری از نرم‌افزار MedCalc vol.15.8 استفاده گردید. فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی‌مورفیسم KISS1R در افراد نابارور و سالم (کنترل) با استفاده از آزمون $\chi 2$ بررسی شد. سطح معنی‌داری از نظر آماری $P<0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌های پژوهش

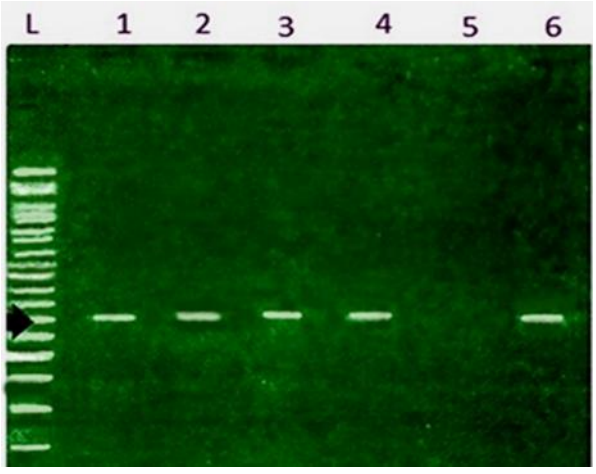
پژوهش حاضر شامل ۵۰ زن نابارور (به‌عنوان بیمار) و ۵۰ زن سالم به‌عنوان گروه کنترل بود. محدودهٔ سنی افراد نابارور و سالم (کنترل) ۲/۱±۳۵/۱ بود که تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند ($P<0.05$). ژنوتیپ Gly56Ala به روش AS-PCR تکثیر گردید. اندازهٔ مولکولی محصولات Gly56Ala PCR (پرایمر طراحی‌شده برای این ژن) که تکثیرشده بود، برای آلل چندشکلی ۵۲۱ جفت باز بود (شکل

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

شمارهٔ ۱) و برای آلل وحشی ۳۰۰ جفت باز (شکل شمارهٔ ۲). شکل شمارهٔ ۱ اندازهٔ مولکولی محصول پرایمر Gly56Ala برای آلل جهش‌یافته را نشان می‌دهد. اندازهٔ این ژن برای آلل جهش‌یافته ۵۲۱ جفت باز بود. نوک پیکان در شکل شمارهٔ ۱، محدودهٔ ۵۰۰ جفت باز را نشان می‌دهد. باندهای ۱، ۲، ۳ و ۴ مربوط به افراد سالم (کنترل) و باندهای ۵، ۶، ۷ و ۸ مربوط به افراد بیمار است. حرف L نشان‌دهندهٔ ladder به‌کار گرفته‌شده است که در محدودهٔ ۵۰ جفت باز بود. شکل شمارهٔ ۲ اندازهٔ مولکولی محصول Gly56Ala PCR تکثیرشده برای آلل وحشی در افراد بیمار و سالم (کنترل) را نشان می‌دهد. برای آلل وحشی اندازهٔ این ژن ۳۰۰ جفت باز بود. پیکان روی شکل محدودهٔ ۳۰۰ جفت باز را نشان می‌دهد. باندهای ۱، ۲، ۳ و ۴ مربوط به افراد سالم (کنترل) و باندهای ۵ و ۶ مربوط به بیماران است.



شکل شماره ۱. اندازهٔ مولکولی محصول Gly56Ala PCR تکثیرشده در افراد بیمار و سالم (کنترل) برای آلل چندشکلی؛ DNA Ladder: 50 bp و Allele:- (521 bp)



شکل شماره ۲. اندازهٔ مولکولی محصول Gly56Ala PCR تکثیرشده در افراد بیمار و سالم (کنترل)؛ DNA Ladder: 50 bp و Allele:G (300 bp)

نتایج به‌دست‌آمده از ۵۰ زن نابارور نشان داد که ۸ بیمار (۱۶ درصد) ژنوتیپ G/G هموزیگوت، ۳۹ بیمار (۷۸ درصد) ژنوتیپ G/– هتروزیگوت و ۳ بیمار (۶ درصد) ژنوتیپ هموزیگوت –/– دارند (جدول شمارهٔ ۲). در گروه سالم (کنترل) که شامل ۵۰ نفر بود، ۱۰ نفر (۲۰ درصد) ژنوتیپ G/G و ۴۰ نفر (۸۰ درصد) ژنوتیپ G/– داشتند. با استفاده از آزمون کای اسکوئر، تفاوت معنادار میان دو گروه از نظر آماری بررسی شد. مقدار $\chi 2$ که نشان‌دهندهٔ اختلاف

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

فراوانی ژنوتیپ میان دو گروه است، در این تحقیق برابر با ۳/۰۶۲ و مقدار P برابر ۰/۲۱۶ به‌دست آمد. با مقدار P به‌دست‌آمده می‌توان نتیجه گرفت که هیچ ارتباطی میان این چندشکلی و ناباروری در این جمعیت از زنان شمال ایران وجود ندارد (جدول شمارهٔ ۲).

جدول شماره ۲. نتایج آزمون کای اسکوئر و نیز فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده‌شده در گروه‌های بیمار و کنترل

ژن	ژنوتیپ	بیماران (درصد)	کنترل (درصد)	P	χ^2
KISS1R Gly56Ala	G/G	۸ (۱۶ درصد)	۱۰ (۲۰ درصد)	-	۳/۰۶۲
	G/-	۳۹ (۷۸ درصد)	۴۰ (۸۰ درصد)	-	
	-/-	۳ (۶ درصد)	۰ (۰ درصد)	۰/۲۱۶	

در گروه بیماران، فراوانی افراد دارای آلل G 94 درصد (۴۷ نفر) و فراوانی افراد دارای آلل حذف‌شده ۶ درصد (۳ نفر) بود. در افراد سالم (گروه کنترل)، فراوانی افراد دارای آلل G 100 درصد (۵۰ نفر) و فراوانی افراد دارای آلل حذف‌شده ۰ درصد (۰ نفر) بود. با توجه به مقدار P به‌دست‌آمده از نتایج (P=0.88)، میان فراوانی آلل افراد سالم (کنترل) و بیمار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول شمارهٔ ۳).

جدول شماره ۳. نتایج آزمون کای اسکوئر و نیز فراوانی آلل‌های مشاهده‌شده در گروه‌های بیمار و کنترل

ژن	ژنوتیپ	بیماران(%)	کنترل (%)	P	χ^2
KISS1R	G	۴۷ (۹۴ درصد)	۵۰ (۱۰۰ درصد)	-	۰/۰۲۲۶
	Deletion	۳ (۶ درصد)	۰ (۰ درصد)	۰/۸۸۰	

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت باروری در همهٔ جوامع، این تحقیق به‌منظور درک ارتباط میان پلی‌مورفیسم‌های ژنی KISS1R (Gly56Ala) و ناباروری در جمعیتی از زنان شمال ایران انجام شد. نتایج نشان داد که ارتباط معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ میان گروه‌های بیمار و کنترل دیده نمی‌شود (P=0.216). درواقع، بررسی ژنوتیپ هتروزیگوت در افراد نابارور و سالم (کنترل) نشان داد که میزان این پلی‌مورفیسم در بیماران، به‌اندازهٔ گروه کنترل است و به‌نظر نمی‌رسد که توزیع آللی آن تأثیر چشمگیری بر خطر کلی ناباروری زنان شمال کشور داشته باشد (P=0.880). در توافق با پژوهش حاضر، مطالعهٔ وزیری و همکاران در سال ۲۰۱۴، بر روی جمعیت زنان شمال ایران نشان داد که میان جهش پلی‌مورفیسم T305C گیرندهٔ KISS1 با ناباروری ایدیوپاتیک زنان ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (۲۴). از سویی، نتایج پژوهش المطواع و همکاران در سال ۲۰۲۳، روی جمعیت زنان عربستان سعودی نیز نشان داد که هیچ ارتباطی میان Q36R SNP در ژن KISS1 و ناباروری در این زنان وجود ندارد (۲۵). رحمان و همکاران با مطالعه روی جهش‌های خاموش ژن‌های KISS1 و KISS1R نیز نشان دادند که ارتباطی میان این جهش‌ها و ناباروری وجود ندارد (۲۶). در پژوهشی دیگر، وزیری و همکاران با مطالعه روی جمعیت زنان شمال ایران نشان دادند که Q36R (rs3543622) ژن KISS1 با ناباروری زنان در شمال ایران مرتبط نیست (۲۷).

نتایج مطالعات بالا در مغایرت با نتایجی است که نشان می‌دهد این ژن نقش مهمی در بلوغ و باروری، به‌ویژه در زنان دارد (۲۸، ۶). در تحقیقات سیاهپوش و همکاران در سال ۲۰۲۱، میان ناباروری و پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی (SNP)rs587777844 ژن KISS1R ارتباط معناداری

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

به‌دست آمد (۲۹). مطالعات تنن بام و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد، تغییر نوکلئوتید در اگزون ۵ باعث جایگزینی لوسین با آرژنین Arg297Lue)) در انتهای سیتوپلاسمی سومین حلقهٔ (domain) خارجی KISS1R خواهد شد (۲۱). این تغییر می‌تواند به نوع خاصی از ناباروری منجر شود.

در مغایرت با مطالعهٔ ما، در تحقیقی دیگر، سمپل و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند، جهش تک‌نوکلئوتیدی در اگزون ۴ KISS1R باعث جایگزینی اسید آمینهٔ آرژنین با سیستئین (Cys223Arg) در انتهای سیتوپلاسمی KISS1R می‌گردد. راکووار و همکارانش یک جهش هموزیگوت در موقعیت ۳۰۵ را گزارش کردند که باعث جایگزینی تیمیدین به سیتوزین می‌شود. این تعویض نوکلئوتیدی به جایگزینی لوسین با پرولین در کدون ۱۰۲ در اولین حلقهٔ (domain) خارج سلولی منجر می‌گردد که درنهایت، به کاهش عملکرد ژن KISS1R می‌انجامد (۲۳). در توصیف بیوانفورماتیکی این جهش‌ها می‌توان عنوان کرد، حذف بعضی آلل‌ها (مثل حذف آلل G در موقعیت کدون ۵۶) ممکن است به تغییر قالب در ژن GPR54 منجر شود که درنهایت، به بیان پروتئینی منجر گردد که ناحیهٔ N ترمینال ندارد. تحقیقات پیشین نشان داده است، ناحیهٔ N ترمینال پروتئین یادشده نقش مهمی در اتصال کیسپپتین دارد (۲۳). احتمالاً نبودِ ناحیهٔ N ترمینال ممکن است علت ناباروری در بیمارانی باشد که ژنوتیپ (-/-) دارند.

در مغایرت با مطالعهٔ ما، مطالعهٔ بلاسکو و همکاران نیز نشان داد، ناباروری زنان با بیان تغییریافتهٔ دستگاه‌های kisspeptin/KISS1R در سلول‌های گرانولوزای تخمدان و کومولوس همراه است (۳۰). درواقع، KISS1R (GPR54) یک گیرندهٔ غشایی جفت‌شده با پروتئین G است و جهش در ژنی که گیرنده‌های گنادوتروپین را کد می‌کند، می‌تواند موجب بروز ناباروری گردد (۱۹). نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که کیسپپتین فعال‌کنندهٔ اصلی نورون‌های GnRH است و هدفی برای غدد درون‌ریز و متابولیک محسوب می‌شود. این پروتئین به‌عنوان پیش‌نیازی برای شروع بلوغ و حفظ عملکرد طبیعی تولیدمثل به‌شمار می‌آید؛ زیرا دستگاه غیرطبیعی KISS1/GPR54 در هر دو مدل انسانی و حیوانی می‌تواند موجب ناباروری از طریق هیپوگنادیسم هیپوگنادوتروپیک ایدیوپاتیک (IHH) و سندرم تخمدان پلی‌کیستیک گردد (۳۲). درواقع، کمترین نقش KISS1R در تنظیم تولیدمثل، آزادسازی هورمون‌های گنادوتروپینی (GnRH) است؛ زیرا KISS1R روی نورون‌های GnRH بیان می‌شود و به کیسپپتین متصل می‌گردد. این ارتباط به تحریک گنادوتروپین‌ها و ترشح GnRH منجر می‌شود (۲۰). در موش‌هایی که KISS1R وجود ندارد، کاهش هورمون‌های آستروئیدی و گنادوتروپینی، گامتوژنز ناقص و نبودِ چرخهٔ قاعدگی مشاهده می‌گردد (۶). گیتن و همکاران نشان دادند، جهش‌هایی که درنهایت موجب کمبود KISS1R می‌شوند، می‌توانند موجب بروز یک فنوتیپ تخمدانی قابل‌تشخیص گردند که با کاهش ذخیرهٔ فولیکولی تخمدان و نبودِ تخمک‌گذاری زودرس مشخص می‌شود (۳۱).

تحقیقات مینگ و همکاران روی واریانت‌های ژن KISS1 نشان داد که واریانت‌های rs12998 G>A و rs4889 C>G موجب از دست دادن امکان حاملگی‌های مکرر می‌گردد و ممکن است به‌عنوان عامل خطر برای این بیماری محسوب شود (۳۳). مطالعات فارسی مدن و همکاران نیز نشان داد که واریانت‌های rs12998 G>A و rs4889 C>G ژن KISS1 ممکن است باعث تغییرات پاتوفیزیولوژی در تخمدان گردد و درنهایت، موجب سندرم تخمدان پلی‌کیستیک شود (۳۴).

در مطالعهٔ حاضر، در جمعیت استان گیلان ارتباط میان پلی‌مورفیسم ژن KISS1R و ناباروری مشاهده نگردید. در این مطالعه، هیچ‌یک از افراد سالم (کنترل) ژنوتیپ هموزیگوت آلل جهش‌یافته نداشتند. این امر حاکی از این است که وجود یک آلل سالم (کنترل) در فرد می‌تواند نقش محافظتی داشته باشد؛ یعنی در جمعیت مطالعه‌شده با وجود آلل جهش‌یافته در افراد سالم (کنترل) و بیمار، اختلاف معنی‌دار در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل‌ها میان گروه‌های بیمار و کنترل مشاهده نشد. این امر می‌تواند به علت اندازهٔ جمعیت و یا موقعیت جغرافیایی نمونه (شهر رشت) از نظر تنوع ژنتیکی باشد. شاید در جمعیت‌های بزرگ‌تر یا در نقاط

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

جغرافیایی وسیع‌تر، نتایج دیگری به‌دست آید. برخی از محدودیت‌های مطالعهٔ کنونی این است که ما تنها یک تنوع ژنتیکی را در ژن KISS1R ارزیابی کردیم که برای ارزیابی خطر ناباروری زنان برای ژن مطالعه‌شده کافی نیست. با افزایش حجم نمونه یا تغییر محل نمونه‌گیری و بررسی‌های ژنتیکی، نتایج متفاوتی حاصل می‌شود. به همین ترتیب، مطالعات بیشتر با مقیاس وسیع در جمعیت‌های مختلف برای تأیید نتایج پیشنهاد می‌گردد. ناباروری زنان نوعی عارضهٔ چندعاملی است و عوامل متعددی کشف شده‌اند که بر این ناتوانی چه از نظر ارثی و چه از نظر محیطی تأثیر می‌گذارند (۳۵). مطالعات تکمیلی برای به‌دست آوردن نتایج قطعی از عملکرد ژن KISS1R و نیز تغییرات پلی‌مورفیسم این ژن در جمعیت‌های مختلف، عملکرد واقعی این ژن را در کنار عوامل ژنتیکی مرتبط دیگر با ناباروری مشخص خواهد کرد.

سپاس‌گزاری

از همکاری کارشناسان محترم آزمایشگاه زیست‌شناسی تکوینی و ژنتیک دانشگاه گیلان برای فراهم آوردن بستر مناسب به‌منظور انجام کار و نیز تهیهٔ نمونه‌های انسانی تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافع در انجام این کار نداشتند.

کد اخلاق

این مطالعه دارای تاییدیه اخلاق به شماره IR.IUMS.FMD.REC 1396.33110 از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه گیلان می‌باشد.

حمایت مالی

حمایت مالی مربوط به انجام کار توسط دانشجو و اساتید مربوطه انجام گرفت.

مشارکت نویسندگان

ایده اصلی کار توسط دکتر حمیدرضا وزیری مطرح گردید. با کمک های ایشان و همراهی دکتر میرزاپور انجام کار به خانم پگاه یوسف خواه دانشجوی ارشد دانشگاه گیلان واگذار شد. بررسی صحت داده ها , کنترل تکرارها و انجام کار آماری توسط اساتید راهنما انجام گرفت. پیش نویس اولیه مقاله توسط دانشجو نوشته شد. ویرایش نهایی و امادگی برای چاپ توسط اساتید مربوطه انجام گرفت.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

References

1. Kara E, Simoni M. Genetic screening for infertility: When should it be done? Middle East Fertil Soc J 2010; 15:139-45. doi: 10.1016/j.mefs.2010.06.002.
2. Tinneberg HR, Gasbarrini A. Infertility today: the management of female medical causes. Int J Gynaecol Obstet 2013; 123: S25-30. doi: 10.1016/j.ijgo.2013.09.004.
3. Vander Borght M, Wyns C. Fertility and infertility: Definition and epidemiology. Clin Biochem 2018; 62:2-10. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2018.03.012.
4. Corander MP, Challis BG, Thompson EL, Jovanovic Z, Loraine Tung YC, Rimmington D, et al. The effects of neurokinin B upon gonadotrophin release in male rodents. J Neuroendocrinol 2010; 22:181-7. doi: 10.1111/j.1365-2826.2009.01951. x.
5. Sultan C, Biason-Lauber A, Philibert P. Mayer–Rokitansky–Kuster–Hauser syndrome: recent clinical and genetic findings. Gynecol Endocrinol 2009; 25:8-11. doi: 10.1080/09513590802288291.
6. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno Jr JS, Shagoury JK, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. N Engl J Med 2003; 349:1614-27. doi: 10.1056/NEJMoa035322.
7. Oakley AE, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin signaling in the brain. Endocr Rev 2009; 30:713-43. doi: 10.1210/er.2009-0005.
8. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. Physiol Rev 2012; 92:1235-316. doi: 10.1152/physrev.00037.2010.
9. Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, et al. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. FEBS Lett. 1999; 446:103-7. doi:10.1016/S0014-5793(99)00009-5.
10. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. J Biol Chem 2001; 276:34631-6. doi: 10.1074/jbc.M104847200.
11. d'Anglemont de Tassigny X, Colledge WH. The Role of Kisspeptin Signaling in Reproduction. Physiology 2010; 25: 207-17. doi: 10.1152/physiol.00009.2010.
12. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Nogueiras R, Tovar S, Roa J, et al. Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. Endocrinology 2005; 146:3917-25. doi:10.1210/en.2005-0337.
13. Chan YM, Broder-Fingert S, Paraschos S, Lapatto R, Au M, Hughes V, et al. GnRH-deficient phenotypes in humans and mice with heterozygous variants in KISS1/Kiss1. J Clin Endocrinol Metab 2011; 96: E1771-81. doi: 10.1210/jc.2011-0518.
14. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trarbach EB, Kuohung W, Xu S, et al. A GPR54-activating mutation in a patient with central precocious puberty. N Engl J Med 2008; 358:709-15. doi: 10.1056/NEJMoa073443.
15. Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Hattori M, Nishimura A, Ohtaki T, et al. Expression of KiSS-1, a metastasis suppressor gene, in trophoblast giant cells of the rat placenta. Biochim Biophys Acta 2004; 1678:102-10. doi: 10.1016/j.bbaexp.2004.02.005.
16. Kelada SN, Eaton DL, Wang SS, Rothman NR, Khoury MJ. The role of genetic polymorphisms in environmental health. Environ Health Perspect 2003; 111:1055-64. doi:10.1289/ehp.6065.
17. Giwercman A, Giwercman YL. Environmental factors and testicular function. Best Pract Res Clin Endocrinol Metab 2011; 25:391-402. doi: 10.1016/j.beem.2010.09.011.
18. Cohen B. Infertility and Reproductive Medicine Clinics of North America. Saunders, Philadelphia. USA 1991; 317-31.
19. Brugo-Olmedo S, Chillik C, Kopelman S. Definition and causes of infertility. Reprod Biomed Online 2001; 2:173-85. doi:10.1016/S1472-6483(10)62193-1.
20. Smith JT, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. Reproduction 2006; 131:623-30. doi: 10.1530/rep.1.00368.
21. Semple RK, Achermann JC, Ellery J, Farooqi IS, Karet FE, Stanhope RG, et al. Two novel missense mutations in g protein-coupled receptor 54 in a patient with hypogonadotropic hypogonadism. J Clin Endocrinol Metab 2005; 90:1849-55. doi:10.1210/jc.2004-1418.
22. Tenenbaum-Rakover Y, Commenges-Ducos M, Iovane A, Aumas C, Admoni O, de Roux N. Neuroendocrine phenotype analysis in five patients with isolated hypogonadotropic hypogonadism due to a L102P inactivating mutation of GPR54. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92:1137-44. doi:10.1210/jc.2006-2147.
23. Millar RP, Roseweir AK, Tello JA, Anderson RA, George JT, Morgan K, et al. Kisspeptin antagonists: unraveling the role of kisspeptin in reproductive physiology. Brain Res 2010; 1364:81-9. doi: 10.1016/j.brainres.2010.09.044.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

24. Vaziri H, Sayar Z, Faraji R. Relationship between idiopathic female infertility with KISS1receptor gene mutation in northern Iranian women. MBD 2014; 1:177-83.
25. Al-Mutawa J. Role of the Q36R polymorphism in the KISS1 gene in female infertility. J King Saud Univ Sci 2023; 35:102442. doi: 10.1016/j.jksus.2022.102442.
26. Rehman R, Jamil Z, Fatima SS, Alam F. Silent mutation in KISS1and KISS1R and unexplained infertility. Avicenna J Med Biochem 2015;3: e30138. doi: 10.17795/ajmb-30138.
27. Vaziri H, Rafeie A, Siapoosh Z. Q36R (rs 35431622) Polymorphism in KISS1 gene and idiopathic female infertility in a Northern Iranian population. Gene Cell Tissue 2017;4. doi:10.5812/gct.12355.
28. De Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. Proc Natl Acad Sci USA 2003; 100:10972-6. doi:10.1073/pnas.1834399100.
29. Siahpoosh Z, Farsimadan M, Pazhohan M, Vaziri H, Mahmoudi Gomari M. KISS1R polymorphism rs587777844 (Tyr313His) is linked to female infertility. Br. J Biomed Sci 2021; 78:98-100. doi:10.1080/09674845.2020.1856496.
30. Blasco V, Pinto FM, Fernández-Atucha A, González-Ravina C, Fernández-Sánchez M, Candenas L. Female infertility is associated with an altered expression of the neurokinin B/neurokinin B receptor and kisspeptin/kisspeptin receptor systems in ovarian granulosa and cumulus cells. Fertil Steril 2020; 114:869-78. doi: 10.1016/j.fertnstert.2020.05.006.
31. Gaytan F, Garcia-Galiano D, Dorfman MD, Manfredi-Lozano M, Castellano JM, Dissen GA, et al. Kisspeptin receptor haplo-insufficiency causes premature ovarian failure despite preserved gonadotropin secretion. Endocrinol 2014; 155:3088-97. doi:10.1210/en.2014-1110.
32. Nejad SZ, Tehrani FR, Zadeh-Vakili A. The role of kisspeptin in female reproduction. Int J Endocrinol Metab 2017;15: e44337. doi:10.5812%2Fijem.44337.
33. Meng F, Zhao A, Lu H, Zou D, Dong B, Wang X, et al. KISS1 Gene Variations and Susceptibility to Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss. Reprod Sci 2023; 28:1-7. doi:10.1007/s43032-023-01203-1.
34. Farsimadan M, Moammadzadeh Ghosi F, Takamoli S, Vaziri H. Association analysis of KISS1 polymorphisms and haplotypes with polycystic ovary syndrome. Br J Biomed Sci 2021; 78:201-5. doi: 10.1080/09674845.2020.1864109.
35. Thébaut A, Amouyal M, Besançon A, Collet M, Selbonne E, Valentin C, et al. Puberty, fertility and chronic diseases. Arch Pediatr 2013; 20:673-84. doi: 10.1016/j.arcped.2013.03.015.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]