Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017

Arak Medical University Journal (AMUJ)
2015; 18(101): 11-17

Original Article

To Study the Association of miR-196a2 rs11614913 Polymorphism with the Risk of Idiopathic Recurrent Pregnancy Loss

Mona Amin-Beidokhti[1], Reza Mirfakhraie[1*], Shohreh Zare-Karizi[2], Fatemeh Karamaldin[3], Mir Davood Omrani [1], Naser salsabili[4]

1- Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2- Department of Biology, Varamin Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin Pishva, Iran.
3- Department of Gynechology, Shafa Hospital, Semnan, Iran.
4- Department of Gynechology, MirzaKochakkhan Hospital, Tehran, Iran.

Received: 23 Feb 2015, Accepted: 10 May 2015

Abstract

Background: Recurrent pregnancy loss (RPL) is defined as the occurrence of two or more consecutive pregnancy losses prior to 20th week of gestation. There are several leading causes of RPL including uterine anatomical defects, infections, genetic, immunological, and environmental factors. However, despite in a large number of cases no causes have been identified, therefore, it is introduced as idiopathic.

Recent studies have implicated the role of miRNAs in endometriosis, preeclampsia, infertility and RPL. Therefore, the aim of the present study was to investigate the association of *miR-196a2C>T* (rs11614913) with RPL in Iranian women.

Materials and Methods: In this case-control study, 183 Iranian women including 83 patients with at least two unexplained consecutive pregnancy losses and 100 healthy controls with at least one live birth and no history of pregnancy loss were investigated. Patients with recurrent pregnancy losses due to anatomic, hormonal, chromosomal, infectious, autoimmune, or thrombotic causes were excluded from the study group. Genotyping was performed using Tetra- ARMS PCR method.

Results: Significant difference in distribution of *miR-196a2* rs11614913 genotypes was found in RPL patients in comparison to controls, with *p value* of 0.04 and odds ratio equal to 2.96 (95% CI: 1.03-7.03).

Conclusion: The results of the present study provide evidence for association between genetic variation in *miR-196a2* and recurrent pregnancy loss. Further studies will be required to validate the significance of the studied genetic variation in diverse populations and its regulatory role on target genes.

Keywords: Recurrent pregnancy loss, Polymorphism, MiRNAs

*Corresponding Author:
Address: Department of Medical Genetics, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
Email: reza_mirfakhraie@yahoo.com

مقاله پژوهشی
مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۱۸، شماره ۸ (شماره پیاپی ۱۰۱)، آبان ۱۳۹۴، ۱۷-۱۱

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017

مطالعه همراهی پلی مورفیسم miR196a2 rs11614913 با خطر بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک

مونا امین بیدختی[۱]، رضا میرفخرایی[۲*]، شهره زارع کاریزی[۳]، فاطمه کرم الدین[۴]، میر داود عمرانی[۵]، ناصرسلسبیلی[۶]

۱- فوق لیسانس، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲- استادیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳-استادیار، گروه زیست شناسی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، ورامین پیشوا، ایران
۴- استادیار، گروه زنان، بیمارستان شفا، سمنان، ایران
۵- استاد، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۶- استاد، گروه زنان، بیمارستان میزا کوچک خان، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۴ تاریخ پذیرش: ۹۴/۲/۲۰

چکیده

زمینه و هدف: سقط مکرر (RPL)، به وقوع دو یا تعداد بیشتر سقط پشت سر هم قبل از هفته‌ی بیستم بارداری اطلاق می‌شود. برخی از دلایل عمده‌ی RPL نقایص آناتومیک رحمی، عفونت‌ها، فاکتورهای ژنتیکی، ایمنی و محیطی می‌باشند. با این وجود، در بسیاری از موارد، علت RPL نامشخص است که به آن ایدیوپاتیک گفته می‌شود. اخیرا، مطالعات نشان دهنده‌ی نقش میکرو RNAها در اندومتریوز، پره‌اکلامپسی، ناباروری و سقط مکرر می‌باشند. به همین جهت، هدف از این مطالعه بررسی همراهی چندشکلی miR-196a2C>T (rs11614913) با خطر بروز سقط مکرر در خانم‌های ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، ۱۸۳ خانم ایرانی شامل۸۳ بیمار با سابقه حداقل دو سقط پشت سر هم با علت نامشخص و ۱۰۰ فرد کنترل سالم با حداقل سابقه یک تولد زنده و بدون هیچ گونه سابقه سقط مورد بررسی قرار گرفتند. بیمارانی که دلیل سقط مکرر آن‌ها عوامل آناتومیک، هورمونی، کروموزومی، عفونت، بیماری‌های خودایمنی یا اختلالات انعقادی بود، از گروه مورد مطالعه کنار گذاشته شدند. تعیین ژنوتیپ با روش Tetra ARMS PCR انجام گرفت.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپی *miR-196a2* rs11614913 در خانم‌های دارای سقط مکرر در مقایسه با افراد سالم، با مقدار p برابر با ۰/۰۴ و نسبت شانس ۲/۹۶ مشاهده شد(۷/۰۳-۱/۰۳:CI ۹۵ درصد).

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر بیان‌گر شواهدی مبنی بر همراهی واریانت ژنتیکی *miR-196a2* و سقط مکرر می‌باشد. مطالعات بیشتر برای ارزیابی اهمیت واریانت ژنتیکی مطالعه شده در جمعیت‌های متفاوت و بررسی اثر تنظیمی این واریانت بر ژن‌های هدف مورد نیاز می‌باشد.

واژگان کلیدی: سقط مکرر، چند شکلی، میکرو RNA

***نویسندگان مسئول:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه ژنتیک پزشکی
reza_mirfakhraie@yahoo.com

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017

مقدمه

میکروRNAها، RNAهای کوچک ۲۲ نوکلئوتیدی هستندکه بیشتر در نواحی بین ژنی یا توالی‌های آنتی‌سنس ژن‌ها واقع شده‌اند(۱)، میکرو RNAها معمولا به وسیله RNA پلی‌مراز II رونویسی شده و miRNA اولیه (primiR) را به وجود می‌آورند که سپس به وسیله کمپلکس DGCR8-DROSha به premiR تبدیل می‌شود. PremiRها از طریق پروتئین exportin5 از هسته به ماتریکس سیتوزولی منتقل می‌گردند و با شکسته شدن از طریق اندوریبونوکلئاز Dicer به miR بالغ دو رشته‌ای تبدیل می‌شوند. در مرحله بعدی این دو رشته از هم باز شده و رشته راهنما یا miR بالغ به پروتئین آرگونات در کمپلکس RISC متصل می‌شود. در پستانداران، موجب مهار هدف‌مند رونویسی می‌گردد اتصال RISC به 3'UTR در mRNA مهار می‌شود و به این ترتیب ترجمه mRNA هدف غیرفعال می‌شود. mRNAی غیرفعال متصل به کمپلکس miRNA-RISC در ساختارهای سیتوزولی به نام P-body یا به صورت ذخیره شده باقی می‌ماند و یا تجزیه می‌شود(۲، ۳).

به طور کلی میکروRNAها در مسیرهای تکوین، تمایز، تکثیر و مرگ سلولی دخالت دارند(۴). مطالعات اخیر نیز نشان داده‌اند که میکروRNAها در اندومتریوز، پره‌اکلامپسی و ناباروری دخیل‌اند. به علاوه، میکرو RNAهای زیادی چه در حالت بیماری و چه در حالت نرمال در آندومتر شناخته شده‌اند و بیان‌گر این هستند که احتمالا برای عملکرد نرمال سیستم تولید مثل ضروری می‌باشند(۸-۵).

یکی از مشکلات رایج سیستم تولید مثل در زمان بارداری، سقط جنین است که تقریبا ۱۵ درصد بارداری‌های بالینی تشخیص داده شده را در برمی‌گیرد. سقط مکرر به دلیل تکرارپذیربودن دارای وجه مخرب بیشتری می‌باشد. سقط مکرر به دو یا تعداد بیشتر بارداری‌های بالینی از دست رفته قبل از هفته بیستم حاملگی اطلاق می‌شود. طبق این تعریف، سقط مکرر ۱ تا ۲ درصد کل بارداری‌ها در سراسر جهان را شامل می‌شود(۹). در حال حاضر دلایل پذیرفته شده مختلفی برای سقط مکرر وجود دارد که شامل فاکتورهای ژنتیکی و نقایص کروموزومی والدی، نقایص آناتومیک رحمی، عفونت‌های آندومتر، نقایص اندوکرین، ترومبوفیلی ارثی، علل ایمونولوژیک و فاکتورهای محیطی می‌باشند(۱۲-۱۰). عوامل مذکور تقریبا نیمی از دلایل را شامل می‌شوند و متاسفانه هنوز علت حدود نیمی از موارد بروز سقط مکرر ناشناخته است. از این رو، مطالعات وسیعی جهت شناسایی علل احتمالی سقط مکرر در حال انجام می‌باشد. باتوجه به گستره وسیع فعالیت میکروRNAها در مسیرهای پیام‌رسانی و هم‌چنین اندام‌های مختلف از جمله دستگاه تولید مثل زنان، پرداختن به این RNAهای کوچک تنظیمی،گزینه‌ی مناسبی به نظر می‌آید.

از این رو، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط چندشکلی miR196a2C>T(rs11614913) با خطر بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک در خانم‌های ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

افراد مورد مطالعه

در یک مطالعه مورد-شاهدی، ۸۳ خانم مبتلا به سقط مکرر که در فاصله زمانی سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران مراجعه کرده بودند، انتخاب گردیدند. این بیماران با میانگین سنی۵/۰۳±۲۷/۷ دارای حداقل دو سقط مکرر بوده و فاقد اختلالات آناتومیکی رحم، مشکلات هورمونی، ناهنجاری‌های کروموزومی، بیماری‌های عفونی، بیماری‌های خودایمنی و ترومبوفیلی بودند. به علاوه خانم‌هایی که همسرانشان نیز دارای کاریوتایپ غیر طبیعی و یا اختلال در فاکتورهای اسپرمی بودند از این مطالعه کنار گذاشته شدند. در مقابل، گروه شاهد ۱۰۰ خانم بدون سابقه‌ی سقط و حداقل دارای یک بارداری موفق با میانگین سنی ۴/۶۶±۳۰ بودند.

نمونه‌گیری و استخراج DNA جهت بررسی‌های ژنتیکی

پس از دادن آگاهی و کسب رضایت‌نامه، ۴ میلی‌لیتر خون محیطی از افراد مورد مطالعه در لوله‌های

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017

حاوی EDTA گرفته شد. استخراج DNA با روش نمک زدن صورت گرفت(۱۳). DNAی استخراج شده تا زمان تحلیل در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

بررسی پلی‌مورفیسم *miR196a2C>T* (rs11614913) با روش Tetra ARMS PCR:

در این مطالعه، جهت بررسی چندشکلی *miR196a2C>T* یک جفت پرایمر بیرونی و یک جفت پرایمر درونی طراحی گردید. توالی پرایمرها در جدول ۱ ارائه شده است. محصول ۳۶۲ نوکلئوتیدی، حاصل تکثیری است که با استفاده از پرایمرهای خارجی صورت گرفته و به عنوان کنترل داخلی در واکنش PCR عمل می‌کند و در همه ژنوتیپ‌ها وجود دارد. طول محصولات PCR در افراد دارای ژنوتیپ TT ، ۳۶۲ و ۱۹۸جفت باز، در افراد CC ، ۳۶۲ و ۲۱۸ جفت باز و در افراد هتروزیگوت TC ، ۳۶۲، ۲۱۸ و ۱۹۸ جفت باز می‌باشد.

جدول۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی چندشکلی miR196a2C>T.

نام پرایمر	توالی پرایمر
F (بیرونی)	5' TCTCTAATCCTTAGGGAGGTTGTGGG 3'
R (بیرونی)	5'AAATAAGGGTTCTCCAGACTTGTTCTGC 3'
F (داخلی)	5'AATTTTAAACTCGGCAACAAGAAACGGT 3'
R (داخلی)	5' GACATAAACCGACTGATGTAACTCCGG 3'

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک ،۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۰/۲۵ میلی مولار از هر dNTPs، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۵ پیکومول ازپرایمرهای داخلی، ۱۰ پیکومول از پرایمرهای خارجی و ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلی مراز Taq (سیناژن، ایران) صورت گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل و تحت دماهای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت۱ دقیقه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به مدت ۵دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و طویل سازی نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. سپس محصولات PCR روی ژل آگارز ۲/۵ درصد حاوی رنگ Gel Red برده شدند و باندها با استفاده از دستگاه ترانس‌ایلومیناتور مورد بررسی قرار گرفتند. در ادامه، توالی تعدادی از نمونه‌ها جهت تأیید نتایج تعیین شد.

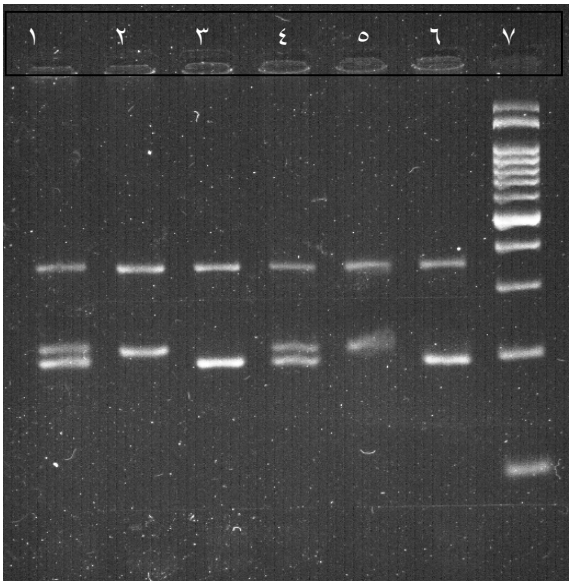
تحلیل آماری

جهت تعیین وجود تعادل یا عدم تعادل در دو گروه مورد مطالعه و هم‌چنین وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم مورد مطالعه و وقوع سقط مکرر از آزمون مربع کای و نرم افزار SNPSTAT استفاده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ارتباط چندشکلی miR196a2T>C با خطر بروزسقط مکرر ایدیوپاتیک در ۸۳ زن دارای سابقه سقط مکرر مورد بررسی قرار گرفت. شکل ۱ نمونه‌ای از نتایج الکتروفورز آگارز برای تعیین ژنوتیپ در افراد مورد مطالعه را نشان می‌دهد. هر دو گروه کنترل و بیمار از نظر شرایط تعادل هاردی‌واینبرگ با درجه آزادی یک در حال تعادل بودند (مقدار مربع کای به ترتیب برابر با ۳/۰۹۵ و ۰/۰۲). فراوانی آللی و ژنوتیپی گروه‌های مورد مطالعه در جداول ۲ و ۳ ارائه شده است. نتایج حاصل، نشان دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در فراوانی ژنوتیپ TT در زنان دارای سابقه سقط مکرر در مقایسه با گروه کنترل بود. سطح معنی‌داری به دست آمده برابر با ۰/۰۴ و نسبت شانس برابر با ۲/۹۶ (۱/۰۳-۷/۰۳ CI: ۹۵ درصد) می‌باشد.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017



شکل ۱. نمونه‌ای از ژل‌های آگارز جهت تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم miR196a2C>T در جمعیت مورد مطالعه. ستون‌های ۱و ۴: افراد با ژنوتیپ CT، ستون‌های ۲ و ۵: افراد با ژنوتیپ CC، ستون‌های ۳ و ۶: افراد با ژنوتیپ TT، ستون ۷: اندازه مارکر 100bp.

جدول ۲. فراوانی آللی چندشکلی miR196a2C>T در جمعیت مورد مطالعه.

آلل	گروه بیماران		گروه شاهد	
	تعداد	فراوانی (درصد)	تعداد	فراوانی (درصد)
C	۹۷	۵۸	۱۳۴	۶۷
T	۶۹	۴۲	۶۶	۳۳

جدول ۳. فراوانی ژنوتیپی چندشکلی miR196a2C>T در جمعیت مورد مطالعه.

ژنوتیپ	گروه بیماران		گروه شاهد	
	تعداد	فراوانی (درصد)	تعداد	فراوانی (درصد)
C/C	۲۸	۳۴	۴۱	۴۱
C/T	۴۱	۴۹	۵۲	۵۲
T/T	۱۴	۱۷	۷	۷

بحث

مطالعات متعددی در مورد ارتباط بیان میکروRNAها و سقط مکرر انجام گرفته است. الشرفا و همکاران درسال ۲۰۱۳ به بررسی میزان بیان میکروRNAهای ۲۱، ۱۲۶، ۱۵۵، ۱۸۲، ۲۲۲ و ۵۱۷ در زنان مبتلا به سقط مکرر پرداختند. در نهایت به این نتیجه رسیدند که بیان miR 21 و miR 126 در حین بارداری و قبل از آن در زنان مبتلا به شدت کاهش می‌یابد. پس احتمالا این microRNAها علت بالقوه‌ای برای سقط مکرر می‌باشند(۱۴). در مطالعه‌ی دیگری که در سال ۲۰۱۲ توسط وانگ و همکاران انجام شد، افزایش ۳۰ برابری بیان miR133a درخانم‌های مبتلا بهRPL نسبت به خانم‌هایی که در هفته‌ی ۷ بارداری سقط عمدی داشته‌اند، مشاهده شد. miR133a، HLAG را که درحالت طبیعی در هفته‌ی ۶ تا ۷ بارداری به منظور تولرانس ایمنی مادر نسبت به جنین افزایش می‌یابد، مهارمی‌کند(۱۵).

علاوه بر مطالعات بیانی، ارتباط چندشکلی‌های میکروRNA و سقط مکرر درسال ۲۰۱۱ درکره مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، جون و همکاران به این نتیجه رسیدند که درخانم‌های کره‌ای مبتلا به سقط مکرر ایدیوپاتیک، miR196a2CC و miR-499AG+GG و ترکیبی از miR-196a2CC/miR-499AG+GG دارای شیوع بالاتری نسبت به خانم‌های سالم این جمعیت می‌باشند. در نتیجه، چندشکلی‌های مذکور با افزایش خطر بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک در خانم‌های کره‌ای ارتباط دارند(۱۶). در مطالعه حاضر، چندشکلی miR196a2C>T(rs11614913) مورد بررسی قرار گرفت. براساس این مطالعه، واریانت miR196a2C>T با خطر بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک در خانم‌های ایرانی مرتبط می‌باشد.

ژن کد کننده miR196 در موقعیت کروموزومی 12q13 قرار گرفته است. در این موقعیت کروموزومی، ژن‌های خانواده *HOX* نیز قرار دارند، یعنی miR196 از ناحیه‌ی بین ژنی این ژن‌ها رونویسی می‌شود و پیش‌سازی به طول ۱۱۰ نوکلئوتید تولید می‌کند. این پیش‌ساز طی پیرایش جایگزین امکان ایجاد دو نوع miR بالغ به نام‌های miR196a-3p و miR196a-5p را فراهم می‌کند. چندشکلی rs11614913 یکی از چندشکلی‌های موجود در ساختار miR196a-3p بالغ می‌باشد که می‌تواند بر پردازش miR196a-3p و اتصال به mRNAی هدف تاثیرگذار باشد. این چندشکلی با تاثیر بر پردازش miR196a، سبب کاهش بیان miR196a-5p، افزایش بیان

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017

miR196a-3p و افزایش اتصال آن به ژن هدف می‌گردد. از طرفی، افزایش بیان miR196a-3p بدون هیچ گونه افزایشی در سطوح پیش‌ساز آن صورت می‌گیرد که در واقع نشان‌دهنده‌ی آن است که با افزایش در پردازش پیش‌ساز، سطوح miR196a-3p بالغ نیز افزایش می‌یابد(۱۷، ۱۸).

از طرف دیگر، مطالعات مختلفی در زمینه‌ی ارتباط چندشکلی miR196a2C>T با انواع سرطان‌ها انجام گرفته است که خود موید این مطلب است که چندشکلی مذکور می‌تواند از طریق تکثیر سلولی بر سقط مکرر تاثیرگذار باشد. زیرا پایه‌ی اصلی سرطان، نقص چرخه‌ی سلولی است. احتمالا تکثیر سلولی در بیماران مبتلا به سقط مکرر بر حالت آندومتر تاثیر می‌گذارد. از جمله شواهدی که موید نقش تکثیر سلولی معیوب در RPL می‌باشند، ارتباط چندشکلی‌های ژن‌های مربوط به چرخه‌ی سلولی شامل *MDM2* و *TP53* با خطر افزایش یافته‌ی سقط است(۱۹). مطالعات دیگری نیز براساس ژن هدف miRNA ی مذکور انجام شده است که عملکرد این miRNA را مشخص‌تر می‌کند. ژن هدف miR 196a2، *HOXB8* می‌باشد که در فرآیند تمایز میلوئید و تشکیل اندام دخیل است(۲۰). *HOXB8* از تمایز سلول‌های اجدادی به سلول‌های تمایز یافته‌ی میلوئید جلوگیری می‌کند. miR 196a2 با مهار ترجمه‌ی *HOXB8* آن را مهار می‌کند؛ بنابراین افزایش miR 196a2 سبب کاهش *HOXB8* شده و تمایز میلوئیدها حاصل می‌شود(۲۱). در روند تشکیل اندام و به منظور ایجاد محور پشتی شکمی، با بیان *HOXB8* در اندام پیشین مسیر ارسال پیام Sonic Hedgehog تحریک می‌شود و در اندام پشتی، mir196a2 بیان می‌شود که سبب بلوکه شدن بیان *HOXB8* در اندام پشتی می‌شود(۲۲). به علاوه، *HOXB8* برای لانه‌گزینی جنین نیز ضروری می‌باشد که با مهار آن لانه‌گزینی با شکست مواجه می‌شود(۲۳). هم‌چنین، طبق مطالعه‌ی زو و همکاران، پلی‌مورفیسم miR196a2C>T سبب کاهش تبدیل premir به miR بالغ آن می‌شود، بنابراین توانایی انجام وظایف مذکور را ازدست می‌دهد(۱۶).

در نهایت، نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده‌ی فراوانی ژنوتیپ miR196a2TT در خانم‌های مبتلا به RPL و در نتیجه ارتباط پلی‌مورفیسم miR196a2C>T با افزایش خطر بروز سقط مکرر ایدیوپاتیک در خانم‌های ایرانی می‌باشد. تایید اهمیت واریانت ژنتیکی مطالعه شده، نیازمند مطالعات بیشتر درسایر جوامع و نیز بررسی میزان بیان miR196a2 و ژن‌های هدف آن می‌باشد.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان بیان نمود که چندشکلی rs11614913 در ژن miR196a2 دارای ارتباط معنی‌داری با خطر وقوع سقط مکرر جنین در نمونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از همکاری ارزشمند ریاست و اعضای محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران و نیز کلیه افراد شرکت کننده در این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Santamaria X, Taylor H. MicroRNA and gynecological reproductive diseases. Fertility and sterility. 2014; 101(6):1545-51.
2. Lee Y, Kim M, Han J, Yeom KH, Lee S, Baek SH, et al. MicroRNA genes are transcribed by RNA polymerase II. The EMBO journal. 2004; 23(20):4051-60.
3. Gregory RI, Chendrimada TP, Shiekhattar R. MicroRNA biogenesis: isolation and characterization of the microprocessor complex. MicroRNA Protocols: Springer; 2006. p. 33-47.
4. Lim LP, Lau NC, Garrett-Engele P, Grimson A, Schelter JM, Castle J, et al. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. Nature. 2005; 433(7027):769-73.
5. McCallie B, Schoolcraft WB, Katz-Jaffe MG. Aberration of blastocyst microRNA expression is associated with human infertility. Fertility and sterility. 2010; 93(7):2374-82.

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 18:10 +0430 on Tuesday September 19th 2017

6. Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, Chegini N. The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression. Molecular human reproduction. 2007; 13(11):797-806.
7. Pickering MT, Stadler BM, Kowalik TF. miR-17 and miR-20a temper an E2F1-induced G1 checkpoint to regulate cell cycle progression. Oncogene. 2009; 28(1):140-5.
8. Zhang Y, Diao Z, Su L, Sun H, Li R, Cui H, et al. MicroRNA-155 contributes to preeclampsia by down-regulating CYR61. American journal of obstetrics and gynecology. 2010; 202(5):466. e1-. e7.
9. Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. Reviews in Obstetrics and Gynecology. 2009; 2(2):76-83.
10. Vaiman D. Genetic regulation of recurrent spontaneous abortion in humans. Biomedical journal. 2015; 38(1):11-24.
11. McNamee K, Dawood F, Farquharson R. Recurrent miscarriage and thrombophilia: an update. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology. 2012; 24(4):229-34.
12. Maesawa Y, Yamada H, Deguchi M, Ebina Y. History of biochemical pregnancy was associated with the subsequent reproductive failure among women with recurrent spontaneous abortion. Gynecological Endocrinology. 2014(0):1-3.
13. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids research. 1988; 16(3):1215-6.
14. El-Shorafa HM, Sharif FA. Dysregulation of micro-RNA contributes to the risk of unexplained recurrent pregnancy loss. International Journal of Reproduction, Contraception, Obstetrics and Gynecology. 2013; 2(3):330-5.
15. Wang X, Li B, Wang J, Lei J, Liu C, Ma Y, et al. Evidence that miR-133a causes recurrent spontaneous abortion by reducing HLA-G expression. Reproductive biomedicine online. 2012; 25(4):415-24.
16. Jeon YJ, Choi YS, Rah H, Kim SY, Choi DH, Cha SH, et al. Association study of microRNA polymorphisms with risk of idiopathic recurrent spontaneous abortion in Korean women. Gene. 2012; 494(2):168-73.
17. Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, et al. Genetic variants of miRNA sequences and non–small cell lung cancer survival. The Journal of clinical investigation. 2008; 118(7): 2600-8.
18. Du M, Lu D, Wang Q, Chu H, Tong N, Pan X, et al. Genetic variations in microRNAs and the risk and survival of renal cell cancer. Carcinogenesis. 2014; 35(7):1629-35.
19. Naderi-Mahabadi F, Zarei S, Fatemi R, Kamali K, Pahlavanzadeh Z, Jeddi-Tehrani M, et al. Association study of forkhead box P3 gene polymorphisms with unexplained recurrent spontaneous abortion. Journal of reproductive immunology. 2015; 110: 48-53.
20. Kawasaki H, Taira K, editors. MicroRNA-196 inhibits HOXB8 expression in myeloid differentiation of HL60 cells. Nucleic acids symposium series.2004; 48(1):211-2.
21. Fujino T, Yamazaki Y, Largaespada DA, Jenkins NA, Copeland NG, Hirokawa K, et al. Inhibition of myeloid differentiation by Hoxa9, Hoxb8, and Meis homeobox genes. Experimental hematology. 2001; 29(7):856-63.
22. Hornstein E, Mansfield JH, Yekta S, Hu JK-H, Harfe BD, McManus MT, et al. The microRNA miR-196 acts upstream of Hoxb8 and Shh in limb development. Nature. 2005; 438(7068):671-4.
23. Xu B, Geerts D, Bu Z, Ai J, Jin L, Li Y, et al. Regulation of endometrial receptivity by the highly expressed HOXA9, HOXA11 and HOXD10 HOX-class homeobox genes. Human Reproduction. 2014; 29(4): 781-90.