

Association of rs1042658 Polymorphism of the *CSF3* Gene with the Susceptibility of Recurrent Pregnancy Loss in Women of Fars Province

Kobra Jahangirizade¹, Mahboobeh Nasiri^{2*}, Naeimehossadat Asmarian³

1- MSc in Developmental Biology, Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran.

3- PhD Student in Biostatistics, Department of Biostatistics, Shiraz University of Medical Sciences, Iran.

Received: 19 Oct 2015, Accepted: 25 Nov 2015

Abstract

Background: Recurrent pregnancy loss (RPL) is a heterogeneous condition with the prevalence of more than 1% among women of reproductive age, which is defined as the occurrence of more than two miscarriages. Immune-mediators, cytokines, determine the role of immune cells in response to tissue incompatibility conditions. Colony stimulating factor 3 (CSF3) is a cytokine affecting the expression of other cytokines such as IL-4, and suppressing the immune response against semi-allograft embryo. This study was done for the first time on the association of the rs1042658 polymorphism at 3'UTR of the *CSF3* gene with the susceptibility to recurrent pregnancy loss, supposing the effect of it on the expression level and stability of the *CSF3* gene transcript.

Materials and Methods: 122 RPL women and 140 healthy fertile women as a control group were enrolled in this case-control study. Genotype distribution of the selected polymorphism was evaluated by T-ARMS PCR method and the results were analyzed by logistic regression test.

Results: comparison of the genotypic frequencies in the 3'UTR of the *CSF3* gene in patients and controls resulted in the statistically significant difference in the incidence of pregnancy loss in order to the protection effect of the genotypes carrying T allele was observed between two groups ($p < 0.05$). History of the abortion among the relatives of RPL women versus the relatives of controls showed significant differences ($p = 0.05$).

Conclusion: Findings showed significant relationship between rs1042658 polymorphism and the risk of recurrent pregnancy loss, which can affect the susceptibility of the condition.

Keywords: CSF3, Cytokine, Polymorphism, Recurrent pregnancy loss

*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Islamic Azad University, Arsanjan Branch, Arsanjan, Iran
Email: nasiri@iaua.ac.ir

بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1042658 ژن CSF3 با استعداد بروز سقط مکرر در زنان استان فارس

کبری جهانگیری زاده^۱، محبوبه نصیری^{۲*}، نعیمه السادات اثماریان^۳

۱- کارشناسی ارشد زیست شناسی تکوینی، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران.

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، ارسنجان، ایران.

۳- دانشجوی دکتری تخصصی آمار زیستی، گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۴

چکیده

زمینه و هدف: سقط خود به خودی مکرر یک اختلال هتروژن با شیوع بالای ۱ درصد در میان زنان سنین باروری می باشد، که به عنوان از دست رفتن بارداری بیش از دو بار تعریف می گردد. میانجی های ایمنی شامل سیتوکین ها ماهیت عمل سلول های ایمنی در پاسخ به شرایط ناسازگار بافتی را تعیین می کنند. فاکتور محرک کلونی (CSF3) سیتوکینی است که با تأثیر بر روی بیان سایر سیتوکین ها از جمله IL-4 و افزایش بیان آن، پاسخ ایمنی بر علیه جنین سمی آلوگرافت را سرکوب می نماید. این مطالعه با فرض تأثیر پلی مورفیسم rs1042658 در موقعیت 3'UTR ژن CSF3 بر روی میزان بیان و پایداری رونوشت ژن CSF3 برای اولین بار در ارتباط با استعداد سقط مکرر انجام گرفت.

مواد و روش: در این مطالعه مورد-شاهدی، ۱۲۲ زن مبتلا به RPL و ۱۴۰ زن بارور طبیعی به عنوان گروه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم با روش T-ARMS PCR ارزیابی و نتایج حاصل با استفاده از آزمون آماری رگرسیون لجستیک تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها: فراوانی ژنوتیپی در ناحیه 3'UTR ژن CSF3 در گروه بیمار و کنترل با هم مقایسه شد که از نظر آماری اختلاف معنی داری در جهت حفاظت در برابر بروز سقط در ژنوتیپ های حامل آلل T بین دو گروه دیده شد ($p < 0.05$). سابقه بروز سقط در خویشاوندان افراد مبتلا نسبت به خویشاوندان افراد سالم اختلاف قابل توجهی را نشان داد ($p = 0.05$).

نتیجه گیری: یافته های حاصل ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم rs1042658 و بروز سقط نشان داد، به نظر می رسد این مارکر می تواند در ایجاد استعداد ابتلا به بیماری نقش داشته باشد.

واژگان کلیدی: CSF3، سیتوکین، پلی مورفیسم، سقط خود به خودی مکرر

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

Email: nasiri@iaua.ac.ir

مقدمه

سقط مکرر خود به خودی (RPL) به عنوان یکی از پیچیده‌ترین مشکلات بارداری، حدود ۱ تا ۵ درصد تمام زنان سنین باروری را درگیر می‌نماید (۱). عارضه سقط مکرر به وقوع ۲ تا ۳ یا تعداد بیش‌تر سقط جنین قبل از هفته ۲۰ بارداری اطلاق می‌گردد (۲). براساس تاریخچه باروری، سقط به دو گروه اولیه فاقد بارداری منجر به تولد زنده و ثانویه که دارای تجربه بارداری موفق می‌باشند تقسیم می‌شود (۳). سقط مکرر از دیدگاه ژنتیکی در گروه بیماری‌های چندعاملی طبقه‌بندی می‌شود که با وجود تعیین نقش عواملی چون ناهنجاری‌های کروموزومی، اختلالات آناتومی رحم، اختلالات هورمونی و اختلال سیستم ایمنی اتیولوژی آن در ۵۰ درصد موارد ناشناخته باقی مانده است (۴، ۵). فاکتورهای خطرزای متعددی برای سقط مکرر معرفی شده‌اند که از جمله می‌توان به سابقه مصرف قرص‌های ضدبارداری و سابقه خانوادگی سقط در خویشاوندان درجه اول اشاره نمود (۶، ۷).

جنین محصول ژن‌های پدری و مادری می‌باشد، بنابراین نیمی از آنتی‌ژن‌های آن از مادر و نیمی از پدر به ارث می‌رسد. با این ویژگی، جنین به عنوان یک آلوگرافت برای مادر عمل نموده و انتظار می‌رود توسط سیستم ایمنی مادر دفع گردد (۸). با توجه به ماهیت نیمه آلوگرافت جنین و بقاء طبیعی آن تا ختم بارداری، نقش اختلال ایمنولوژیک در میان سایر عوامل پررنگ‌تر به نظر می‌رسد و براساس برآوردهای انجام گرفته حدود ۶۰ درصد سقط‌های ایدیوپاتیک منشأ ایمنولوژیک دارند (۹).

مسیرهای بیولوژیک متعددی جهت حفظ جنین تا پایان بارداری مطرح شده است که یکی از موثق‌ترین آن‌ها نقش غالب سیتوکین‌های ضدالتهابی در مقابل سیتوکین‌های پیش‌التهابی در طول بارداری می‌باشد که به پیش‌برد حاملگی، تکوین رویان و تشکیل جفت کمک می‌نمایند (۱۰). سیتوکین‌ها پروتئین‌های تنظیم کننده ایمنی هستند که توسط انواع مختلف سلول‌ها (هماتوپوئیتیکی و غیرهماتوپوئیتیکی) در بدن تولید می‌شوند و علاوه بر

فعالیت‌های ایمنی، یکی از نقش‌های غیرایمنولوژیک شناخته شده برای آن‌ها دخالت در فرآیندهای مختلف در مسیر امبریونز می‌باشد (۱۱).

براساس نوع واکنش التهابی، سیتوکین‌ها به دو گروه عمده ضدالتهابی و پیش‌التهابی تقسیم‌بندی می‌شوند که به ترتیب توسط سلول‌های T کمکی (TH)-۲ و -۱ سنتز می‌گردند (۱۲). از جمله سیتوکین‌های پیش‌التهابی می‌توان به $TNF-\alpha$ ، $TNF-\beta$ ، $IFN-\gamma$ ، IL-1 و IL-2 اشاره کرد. سیتوکین‌های ضدالتهابی (حاصل از سلول‌های TH-2) عمدتاً شامل IL-4، IL-5، IL-6، IL-10 و IL-12 می‌باشند که با تحریک سلول‌های B برای تولید آنتی‌بادی به عنوان میانجی‌های اصلی ایمنی همورال ایفای نقش می‌کنند (۱۳). سرنوشت یک حاملگی به تعادل بین سیتوکین‌های حاصل از سلول‌های TH-1 و TH-2 بستگی دارد، به طوری که تعادل به نفع سیتوکین‌های حاصل از سلول‌های TH-2 حامی خاتمه موفق بارداری می‌باشد (۱۴).

فاکتور محرک کلونی ۳ (CSF3=GCSF) گلیکوپروتئینی است که در شرایط برون تنی و درون تنی روی تولید سیتوکین توسط لنفوسیت‌های T اثر می‌گذارد و با کاهش بیان سیتوکین‌های پیش‌التهابی، پاسخ‌های التهابی را کاهش می‌دهد (۱۵). از نگاه دقیق‌تر، CSF3 تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی را در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی مهار و تولید اینترفرون گاما را کاهش می‌دهد و در مقابل سنتز سیتوکین ضدالتهابی IL-4 را افزایش می‌دهد. با این تغییرات، CSF3 بین سلول‌های TH-1 و TH-2 به نفع سلول‌های TH-2 تعادل برقرار می‌کند (۱۶).

ژن تولید کننده گلیکوپروتئین CSF3 روی بازوی بلند کروموزوم ۱۷ در موقعیت 12-17q11.2 قرار گرفته است و در نتیجه پردازش متناوب منجر به تولید دو محصول پلی‌پپتیدی با اختلاف در سه اسید آمینه می‌شود (۱۷). پلی‌مورفیسم‌های متعددی در این ژن شناسایی شده‌اند که تقریباً در سراسر طول ژن توزیع شده‌اند. بیش‌ترین گزارش‌ها به ارتباط پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی T با C در نوکلئوتید ۲۱۷۶ ژن CSF3 و منطقه ۳ غیرترجمه شونده آن با استعداد

ابتلا به بیماری‌های مختلف مربوط می‌شود (۱۸). با توجه به این که سقط جنین ناشی از عدم تعادل سیتوکین‌های Th-2/Th-1 می‌باشد، پلی مورفیسم‌های ژن کدکننده CSF3 می‌توانند نقش مهمی در درک پاتوژنز بیماری داشته باشند. با فرض این که جایگزینی بازی C/T که با شماره rs1042658 در بانک اطلاعاتی NCBI قابل پی‌گیری می‌باشد روی بیان و پایداری رونوشت mRNA حاصل از این ژن مؤثر است، ارتباط آن با استعداد بروز سقط مکرر در زنان استان فارس برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی دو گروه از زنان، شامل ۱۲۲ زن با سابقه حداقل دو سقط که به دو گروه سقط اولیه و ثانویه تقسیم شده بودند و ۱۴۰ زن بارور طبیعی با حداقل دو بارداری موفق منجر به تولد زنده که همه پائسه بودند و یا قصد بارداری دیگری نداشتند، در آزمایشگاه ژنتیک مولکولی دانشگاه ارسنجان در سال ۱۳۹۳ انجام گرفت. پس از مشارکت آگاهانه افراد در طرح و تکمیل فرم پرسش‌نامه، حدود ۵ سی‌سی نمونه خون وریدی گرفته شد و نمونه‌ها در لوله‌های خلاء حاوی ماده ضد انعقاد EDTA به آزمایشگاه منتقل و در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. استخراج DNA ژنومی به روش استاندارد نمک اشباع انجام گرفت و کیفیت DNA استخراج شده براساس لود روی ژل آگارز بررسی شد. از روش T-ARMS PCR جهت بررسی توزیع ژنوتیپی در جمعیت مورد بررسی استفاده شد. در این روش به دو جفت پرایمر نیاز است که با تلفیقی از دو نرم‌افزار Allele ID نسخه ۷/۵ و Primer 1 طراحی شدند. یک جفت از پرایمرها غیراختصاصی آلل هستند و یک محصول مشترک در تمام نمونه‌ها صرف‌نظر از نوع ژنوتیپ فرد به طول ۷۳۸ جفت باز ایجاد می‌کنند. یک جفت پرایمر دیگر اختصاصی آلل‌های C و T هستند که به ترتیب محصولات ۳۳۵ و ۴۵۶ جفت بازی تولید می‌کنند. واکنش T-ARMS-PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر

شامل ۱ میکرولیتر DNA، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای خارجی، ۳ میکرولیتر از پرایمرهای اختصاصی داخلی، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (سیناژن- ایران) و ۳/۵ میکرولیتر آب استریل انجام شد. شرایط دمایی ترموسایکلر پس از بهینه‌سازی شامل؛ دمای واسرشته شدن اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ سیکل شامل دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله طویل سازی انتهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه بود. مقدار ۷ میکرولیتر محصول PCR بر روی ژل آگارز با غلظت ۲ درصد حاوی رنگ اتیدیوم بروماید با ولتاژ ۱۲۰ و به مدت ۴۵ دقیقه الکتروفورز گردید.

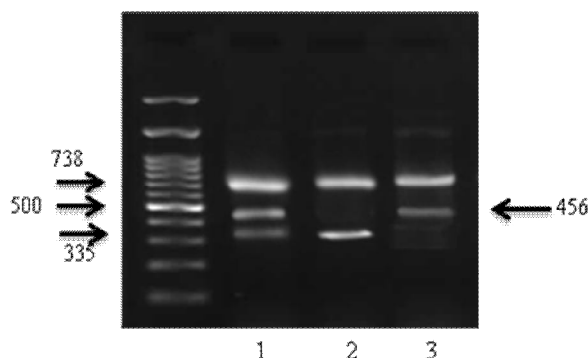
تحلیل آماری نتایج به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت. برای متغیرهای کمی از محاسبه میانگین \pm انحراف معیار و برای متغیرهای کیفی از فراوانی استفاده گردید. به منظور بررسی وجود یا عدم وجود اختلاف بین فراوانی‌های مشاهده شده در جمعیت کنترل و بیمار نسبت به مقادیر موردانتظار براساس تعادل هاردی-واینبرگ از آزمون مربع کای استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های جایگاه مارکر مورد بررسی نیز از مدل آماری رگرسیون لجستیک یک طرفه و محاسبه نسبت خطر با فاصله اطمینان ۹۵ درصد استفاده گردید. در تمام محاسبات سطح احتمال $p < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار فرض شده است.

یافته‌ها

در شکل ۱ تصویر حاصل از تکثیر جایگاه مورد بررسی با روش T-ARMS PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد نشان داده شده است. باند ۷۳۸ جفت بازی که به عنوان کنترل داخلی عمل می‌نماید، صرف‌نظر از نوع ژنوتیپ افراد در تمام چاهک‌ها حضور دارد. پرایمر اختصاصی آلل C، محصول PCR به طول ۳۳۵ جفت باز و پرایمر اختصاصی آلل T، محصول PCR به طول ۴۵۶ جفت

خانم بارور طبیعی با میانگین سن $57/8 \pm 6/8$ سال (دامنه سنی ۴۳ تا ۷۹ سال) شرکت داده شدند. جدول ۱ توزیع فراوانی ویژگی‌های جمعیت شناختی مرتبط با سقط مکرر را در جمعیت مورد مطالعه گروه بیمار در مقایسه با گروه شاهد نشان می‌دهد. نتایج ارزیابی چندین فاکتور خطر شامل سابقه مصرف قرص‌های خوراکی ضدبارداری و سابقه خانوادگی سقط در خویشاوندان درجه اول و دوم نتیجه معنی‌داری را بین دو گروه بررسی شده نشان می‌دهد ($p=0/05$) (جدول ۲).

باز را تولید کرده است، بنابراین به ترتیب ژنوتیپ‌های هتروزیگوت CT، هموزیگوت CC و هموزیگوت TT در چاهک‌های ۱ تا ۳ دیده می‌شود (شکل ۱).



شکل ۱. محصول حاصل از تکثیر ژنوم افراد با ژنوتیپ‌های مختلف به کمک روش T-ARMS. نوارهای ۷۳۸ جفت‌بازی که در تمام نمونه‌ها وجود دارد، محصول پرایمرهای غیراختصاصی خارجی است. در چاهک اول در مجاورت سایز مارکر، سه نوار ۷۳۸، ۴۵۶ و ۳۳۵ جفت‌بازی دیده می‌شود. در این فرد واکنش PCR اختصاصی هر دو آلل C و T تولید محصول کرده است، بنابراین، ژنوتیپ این فرد هتروزیگوت CT می‌باشد. فرد شماره ۲ برای این جایگاه ژنی، دارای ژنوتیپ CC (۷۳۸ و ۳۳۵ جفت‌بازی) می‌باشد. فرد شماره ۳ دارای ژنوتیپ TT (۷۳۸ و ۴۵۶ جفت‌بازی) می‌باشد. چاهک اول شامل سایز مارکر ۱۰۰ جفت‌بازی است.

جدول ۱. خصوصیات جمعیت شناختی در جمعیت مورد مطالعه مبتلا به سقط جنین مکرر در مقابل گروه کنترل

خصوصیات	بیمار (تعداد، فراوانی)	کنترل (تعداد، فراوانی)
تعداد	۱۲۲	۱۴۰
میانگین سن	$35/5 \pm 12/5$	$57/8 \pm 6/8$
دامنه سنی	۱۷-۸۵	۴۳-۷۹
میانگین سقط	۲-۱۰	.
تعداد سقط		
۲	۲۲ (۱۸)	.
$3 \leq$	۱۰۰ (۸۸)	.
نوع سقط		
اولیه	۶۲ (۵۰/۸۲)	.
ثانویه	۶۰ (۴۹/۳)	.

در این مطالعه، ۱۲۲ خانم مبتلا به RPL با میانگین سن $35/5 \pm 12/5$ سال (دامنه سنی ۱۷ تا ۸۵ سال) و ۱۴۰

جدول ۲. ارتباط بین فاکتورهای خطر سقط در جمعیت زنان مبتلا به سقط مکرر در مقایسه با زنان سالم

ریسک فاکتور	سالم	بیمار n (درصد)	OR* (95%CI)	p ^a
سابقه خانوادگی	۳۱ (۲۲)	۴۲ (۳۴/۴)	$2/34 (0/98-5/6)$	۰/۰۵
سقط	۱۰۹ (۷۸)	۸۰ (۵۶۹/۶)	-	
مصرف قرص‌های خوراکی	۴۲ (۳۰)	۵۳ (۴۳/۴)	$0/64 (0/28-1/4)$	۰/۲۷
	۹۸ (۷۰)	۶۹ (۵۶/۶)	-	

* آزمون رگرسیون لجستیک [$p < 0/05$]

^a آنالیز رگرسیون لجستیک برای سن تعدیل شده است.

نداشت. فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT در گروه بیمار به ترتیب ۵۷/۴ درصد، ۳۲/۸ درصد و ۹/۸ درصد در گروه کنترل به ترتیب ۵۰ درصد، ۴۲/۹ درصد و ۷/۱ درصد بود. ارتباط بین ژنوتیپ‌های سه‌گانه با بروز سقط در جدول ۳

اختلاف معنی‌داری بین فراوانی‌های ژنوتیپی مشاهده شده در دو گروه کنترل ($p > 0/05$)، $df=1$ ، $\chi^2=0/36$ و بیمار ($p > 0/05$)، $df=1$ ، $\chi^2=2/94$ نسبت به مقادیر موردانتظار براساس تعادل هاردی-واینبرگ وجود

آمده است و همان طور که مشخص است، آلل پلی مورف T تحت مدل غالب (TT+CT در مقابل CC) دارای اثر حفاظتی بر روی استعداد بروز سقط می باشد (p=0/047، OR=0/44، 95%CI=0/2-0/99). تمام آنالیزها برای متغیر سن تعدیل شده اند.

جدول ۳. فراوانی های آلی و ژنوتیپی پلی مورفیسم rs1042658 در ژن G-CSF

ژن	ژنوتیپ	کنترل (n=140) (درصد)	HWP	بیمار (n=122) (درصد)	HWP	Adjusted P	Odd Ratio (OR)	CI 95%
G-CSF rs1042658	CC	70 (50)	0/65	70 (57/4)	0/16	-	-	-
	CT	60 (42/9)		40 (32/8)		0/047*	0/423	0/18-0/98
	TT	10 (7/14)		12 (9/8)		0/45	0/562	0/12-2/5
	آل		f		f			
	C	200 (71/4)	0/714	180 (73/77)	0/737	-	-	-
	T	80 (28/6)	0/286	64 (26/23)	0/263	0/55	0/189	0/6-1/31
	فنوتیپ							
	CC+CT(C+)	130 (92/9)		110 (91/7)		0/75	0/79	0/18-3/23
	TT+CT(T+)	70 (4/64)		52 (43/3)		0/047*	0/44	0/2-0/99

*p<0/05

HWP: احتمال تعادل هاردی-واینبرگ
CI: فاصله اطمینان

بحث

سلول های TH2 سیتوکین های ضد التهابی را تولید و ترشح می کنند (۲۲، ۲۳). شواهد زیادی دال بر تأیید افزایش غلظت سیتوکین های ضد التهابی در پیشبرد یک حاملگی موفق وجود دارد (۲۴). علاوه بر سلول های TH به عنوان منبع اصلی تولید، سیتوکین ها توسط انواع مختلفی از سلول ها نظیر اندومتریوم، دسیدوا و جفت نیز بیان می شوند که حاکی از نقش آن ها در مراحل مختلف بارداری، از رشد و تکوین رویان تا لانه گزینی و پیشرفت طبیعی بارداری می باشد (۱۰، ۲۵). مطالعات برون تنی و درون تنی، سطوح بالای سیتوکین های ضد التهابی مانند IL-10، IL-6 و IL-4 را در چنین سلول هایی در ضمن بارداری تأیید کرده اند (۲۵). در بررسی مدل های موشی و انسانی مشخص شده است که میزان بیان IL-4 در زنان باردار در مقایسه با زنان غیر باردار از افزایش بسیار زیادی برخوردار است (۲۶). این سیتوکین عملکرد سلول های TH1 و ماکروفاژ را مهار می کند و دفع جنین آلوگرافت را سرکوب می نماید (۲۷). CSF3 ترکیبی با ماهیت سیتوکینی و هورمونی است که از طریق سلول های TH0 تولید می گردد و منجر به افزایش بیان IL-4 و کاهش بیان INF- γ می شود (۲۸). پلی مورفیسم های زیادی در ژن

سقط خود به خودی شایع ترین عارضه حاملگی است و در ۷۵ درصد خانم هایی که اقدام به بارداری می کنند اتفاق می افتد که عمدتاً قبل از شناسایی، قبل و یا در حین قاعدگی بعدی دفع می شوند (۱۹). براساس توافق متخصصان زنان و زایمان سقط مکرر به وقوع ۲ یا ۳ سقط جنین با وزن کم تر از ۲۵۰۰ گرم گفته می شود که ممکن است پی در پی و یا با فاصله در سه ماه اول و یا دوم حاملگی رخ دهد (۲۰). با توجه به ماهیت چند فاکتوری بیماری، علل مختلفی برای سقط مطرح می باشد که اشکالات کروموزومی و اختلالات ایمنونولوژیک دلایل اصلی را تشکیل می دهند (۲۱). در گذشته تصور بر این بوده است که حاملگی در واقع بازه زمانی سرکوب ایمنی مادر می باشد، ولی امروز به عنوان یک فرآیند بسیار پیچیده تر و در واقع تغییر نسبت و عملکرد سلول های ایمنی مادر و محصولات سلولی در نظر گرفته می شود (۱۳). نسبت سلول های TH (TH1/TH2) تعیین کننده نوع پاسخ ایمنی می باشد که این پاسخ به واسطه ی پروفایل سیتوکینی غالب حاصل از چنین سلول هایی مشخص می گردد. سلول های TH1 سیتوکین های پیش التهابی و

براساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر می‌توان گفت مارکر مولکولی rs1042658 می‌تواند یک فاکتور محافظت کننده برای بروز سندرم سقط مکرر در زنان گروه پرخطر باشد و هم‌چنین به عنوان مارکر مولکولی برای غربال خویشاوندان درجه اول و دوم افراد بیمار استفاده گردد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر برگرفته از پایان نامه خانم کبری جهانگیری زاده با عنوان " بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1042658 در ژن سیتوکین Colony Stimulating Factor 3 سیستم ایمنی با وقوع سقط‌های مکرر با منشأ ناشناخته " است. بدین وسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، برای تأمین تجهیزات آزمایشگاهی و هم‌چنین از خانم‌ها نجمه نوروزی و نسیمه جعفری صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نمایند.

منابع

- Hogge WA, Byrnes AL, Lanasa MC, Surti U. The clinical use of karyotyping spontaneous abortions. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003; 189(2):397-400.
- Regan L, Rai R. Epidemiology and the medical causes of miscarriage. *Best practice & research Clinical obstetrics & gynaecology*. 2000; 14(5):839-54.
- Glueck CJ, Gogenini S, Munjal J, Tracy T, Pranikoff J, Wang P. Factor V Leiden mutation: a treatable etiology for sporadic and recurrent pregnancy loss. *Fertility and sterility*. 2008; 89(2): 410-6.
- Quenby S, Vince G, Farquharson R, Aplin J. Recurrent miscarriage: a defect in nature's quality control? *Human reproduction*. 2002; 17(8):1959-63.
- Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. *Rev Obstet Gynecol*. 2009; 2(2):76-83.
- Miskovic S, Culic V, Konjevoda P, Pavelic J. Positive reproductive family history for spontaneous abortion: predictor for recurrent miscarriage in young couples. *European Journal*

کدکننده سیتوکین CSF3 شناسایی شده‌اند که بیان آن را تحت تأثیر قرار می‌دهند؛ اما براساس مرور پژوهش‌های پیشین هیچ‌گونه تحقیقی در زمینه بررسی ارتباط نقش این پلی‌مورفیسم‌ها و تأثیر آن در تغییرات آبشاری بیان سایر سیتوکین‌ها و در نهایت وقوع سقط مکرر انجام نشده است. در پژوهش حاضر به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs1042658 ژن CSF3 در ناحیه ۳ غیرترجمه شونده پرداخته شد و نشان داد که ژنوتیپ‌های حامل آلل پلی‌مورف T دارای اثر حفاظتی روی بروز سقط مکرر در زنان می‌باشند. از طرف دیگر، فراوانی وقوع سقط جنین در خویشاوندان درجه اول و دوم بیماران در مقایسه با خویشاوندان افراد سالم اختلاف معنی‌داری را نشان داد ($p=0/05$). براساس نتیجه مطالعه میسکوویک در سال ۲۰۱۲ نیز مشخص شده است که احتمال وقوع سقط در خویشاوندان درجه اول، دوم و سوم زوج‌های دارای سابقه سقط مکرر، ۲ تا ۳ برابر جمعیت عمومی می‌باشد (۶). علاوه بر عواملی چون نقش بیماری‌های اندوکراین مانند تیروئید، دیابت، لوپوس و هم‌چنین عوامل ژنتیکی متعدد مخصوصاً در سیستم ایمنی که نقش قطعی آن‌ها در بروز سقط مشخص شده است، عواملی نیز وجود دارند که نقش آن‌ها در بروز سقط محتمل است، اما جهت تأیید نهایی نیاز به انجام مطالعات پیش‌تر است. از جمله این عوامل، مصرف قرص‌های ضدبارداری می‌باشد (۷). در این مطالعه مشخص گردید که مصرف قرص‌های ضدبارداری تأثیری بر بروز و یا محافظت در برابر سقط جنین ندارد ($p>0/05$) که این نتیجه تأییدی بر نتیجه اکثر مطالعات در تعیین ارتباط مصرف قرص ضدبارداری با بروز سقط می‌باشد (۲۹). اما در مقابل مطالعاتی هم وجود دارند که نشان داده‌اند مصرف طولانی مدت قرص ضدبارداری دارای اثر محافظتی در برابر بروز سقط مکرر می‌باشد. اکثر مطالعات نشان دهنده عدم تأثیر این ترکیبات روی بروز یا عدم بروز سقط هستند (۳۰).

نتیجه‌گیری

7. Srisuphan W, Bracken MB. Caffeine consumption during pregnancy and association with late spontaneous abortion. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1986; 154(1):14-20.
8. Thellin O, Heinen E. Pregnancy and the immune system: between tolerance and rejection. *Toxicology*. 2003; 185(3):179-84.
9. Babbage SJ, Arkwright PD, Vince GS, Perrey C, Pravica V, Quenby S, et al. Cytokine promoter gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. *Journal of reproductive immunology*. 2001; 51(1):21-7.
10. Walia GK, Mukhopadhyay R, Saraswathy K, Puri M, Chahal S. Immuno-molecular etiology of recurrent pregnancy loss and the anthropological perspective. *International Journal of Human Genetics*. 2008; 8(1/2):227-8.
11. Lim KJH, Odukoya O, Li T, Cooke I. Cytokines and immuno-endocrine factors in recurrent miscarriage. *Human reproduction update*. 1996; 2(6):469-81.
12. Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A, Kim C. T helper 1 and 2 immune responses in relationship to pregnancy, nonpregnancy, recurrent spontaneous abortions and infertility of repeated implantation failures. 2005; 88:64-79.
13. Sykes L, MacIntyre DA, Yap XJ, Teoh TG, Bennett PR. The Th1: th2 dichotomy of pregnancy and preterm labour. *Mediators of inflammation*. 2012; 2012.
14. Beaman KD, Ntrivalas E, Mallers TM, Jaiswal MK, Kwak-Kim J, Gilman-Sachs A. Immune etiology of recurrent pregnancy loss and its diagnosis. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2012; 67(4):319-25.
15. Martins A, Han J, Kim SO. The multifaceted effects of granulocyte colony-stimulating factor in immunomodulation and potential roles in intestinal immune homeostasis. *IUBMB life*. 2010; 62(8):611-7.
16. Mannon P, Leon F, Fuss I, Walter B, Begnami M, Quezado M, et al. Successful granulocyte-colony stimulating factor treatment of Crohn's disease is associated with the appearance of circulating interleukin-10-producing T cells and increased lamina propria plasmacytoid dendritic cells. *Clinical & Experimental Immunology*. 2009; 155(3):447-56.
17. He J-Q, Shumansky K, Connett JE, Anthonisen NR, Paré PD, Sandford AJ. Association of genetic variations in the CSF2 and CSF3 genes with lung function in smoking-induced COPD. *European Respiratory Journal*. 2008; 32(1):25-34.
18. Kim DHD, Xu W, Ma C, Liu X, Siminovitch K, Messner HA, et al. Genetic variants in the candidate genes of the apoptosis pathway and susceptibility to chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2009; 113(11):2517-25.
19. Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. *The Lancet*. 2006; 368(9535):601-11.
20. Branch DW, Gibson M, Silver RM. Recurrent miscarriage. *New England Journal of Medicine*. 2010; 363(18):1740-7.
21. Laird S, Tuckerman E, Cork B, Linjawi S, Blakemore A, Li T. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Human reproduction update*. 2003; 9(2):163-74.
22. Halonen M, Lohman IC, Stern DA, Spangenberg A, Anderson D, Mobley S, et al. Th1/Th2 patterns and balance in cytokine production in the parents and infants of a large birth cohort. *The Journal of immunology*. 2009; 182(5):3285-93.
23. Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Alternative Medicine Review*. 2003; 8(3): 223-46.
24. Saito S, Nakashima A, Shima T, Ito M. REVIEW ARTICLE: Th1/Th2/Th17 and Regulatory T-Cell Paradigm in Pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2010; 63(6):601-10.
25. Rajaei S, Zarnani AH, Jeddi-Tehrani M, Tavakoli M, Mohammadzadeh A, Dabbagh A, et al. Cytokine profile in the endometrium of normal fertile and women with repeated implantation failure. *Iranian Journal of Immunology*. 2011; 8(4):201-2.
26. Reinhard G, Noll A, Schlebusch H, Mallmann P, Ruecker AV. Shifts in the TH1/TH2 balance during human pregnancy correlate with apoptotic changes. *Biochemical*

- and biophysical research communications. 1998; 245(3):933-8.
27. Piccinni MP. T cells in pregnancy. *Chem Immunol Allergy*. 2005; 89:3-9.
28. Morris ES, MacDonald KP, Rowe V, Johnson DH, Banovic T, Clouston AD, et al. Donor treatment with pegylated G-CSF augments the generation of IL-10-producing regulatory T cells and promotes transplantation tolerance. *Blood*. 2004; 103(9):3573-81.
29. De La Rochebrochard E, Thonneau P. Paternal age and maternal age are risk factors for miscarriage; results of a multicentre European study. *Human reproduction*. 2002; 17(6):1649-56.
30. Zammiti W, Mtiraoui N, Khairi H, Gris J, Almawi W, Mahjoub T. Associations between tumor necrosis factor- α and lymphotoxin- α polymorphisms and idiopathic recurrent miscarriage. *Reproduction*. 2008; 135(3):397-403.