

Analysis of the Relationship between CGB5 155G/C Polymorphism and in vitro Fertilization-embryo Transfer Outcome (IVF-ET) in the Iranian Population

Bahareh Babaei Houlari¹, Zivar Salehi^{2*}

1. MSc, Department of Genetics, Tonekabon Branch, Islamic Azad University, Tonekabon, Iran
2. Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

Received: 25 Sep 2017, Accepted: 29 Nov 2017

Abstract

Background: Successful pregnancy depends on the ability of the embryo to achieve appropriate extent of trophoblastic proliferation and invasion into maternal endometrium as well as, once implanted, to induce its own blood supply. Beta Human chorionic gonadotropin (β -hCG), enhances blastocyst implantation, uterine vascularization, and angiogenesis, as well as regulates maintenance of uterine quiescence and immunological adaptation during pregnancy. The β -subunit of hCG is encoded by CGB3, CGB6, CGB5, CGB7 and CGB8 genes. The aim of this study was to evaluate the association of CGB5-G/C polymorphism and the clinical outcomes in women who underwent IVF-ET procedures.

Materials and Methods: A total of 200 patients undergoing IVF-ET (100 patients with positive and 100 patients with negative IVF-ET outcome) were included in this study. Genotyping of CGB5 at -155G/C polymorphic site was performed by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Statistical analysis was performed using the MedCalc software.

Results: Our findings show that the CC genotype of the CGB5 -155G/C polymorphism is associated with decreased risk of IVF-ET failure (OR=0.29; 95%CI=0.1-0.85; p=0.02). However, the allelic distribution of the CGB5 -155G/C is not significantly different between two groups ($\chi^2=1.46$; p=0.22).

Conclusion: The results of this study suggested that CGB5 (-155G/C) CC genotype has a protective effect on IVF-ET outcome. More studies with larger sample sizes on different populations are necessary to elucidate the underlying mechanisms which can explain the associations found between the GGB5 gene polymorphisms and IVF-ET outcome.

Keywords: CGB5, IVF-ET, Polymorphism

*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran
Email: geneticzs@yahoo.co.uk

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم 155G/C ژن CGB5 با نتیجه ی لقاح مصنوعی- انتقال جنین در جمعیت ایران

بهاره بابائی هولاری^۱، زیور صالحی^{۲*}

۱. کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک، واحد تنکابن، دانشگاه آزاد اسلامی، تنکابن، ایران

۲. استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۷/۳، تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۸

چکیده

زمینه و هدف: حاملگی موفق به توانایی رویان در تکثیر سلول های تروفوبلاست و تهاجم به اندومتر مادر و هم چنین القای جریان خون خود پس از لانه گزینی بستگی دارد. گنادوتروپین جفتی انسان بتا (β -hCG)، لانه گزینی بلاستوسیت، رگ زایی رحم و آنژیژنز را افزایش می دهد، هم چنین نگهداری ثبات رحم و سازگاری ایمنی در دوران بارداری را تنظیم می کند. زیر واحد بتا hCG توسط ژن های CGB3، CGB5، CGB6، CGB7 و CGB8 رمزگذاری می شود. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم 155G/C و نتایج بالینی در زنان تحت درمان با IVF-ET، بود.

مواد و روش ها: این مطالعه بر روی ۲۰۰ بیمار که تحت درمان با IVF-ET (شامل ۱۰۰ نفر با نتیجه مثبت و ۱۰۰ نفر با نتیجه منفی IVF-ET) قرار گرفتند، صورت گرفت. ژنوتیپ CGB5 در جایگاه 155G/C- توسط واکنش زنجیره ای پلی مراز-پلی مورفیسم طول قطعه محدود کننده (PCR-RFLP) مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری به کمک نرم افزار مدکالک انجام شد.

یافته ها: نتایج نشان می دهد که ژنوتیپ CC پلی مورفیسم 155G/C با کاهش خطر شکست IVF-ET مرتبط است ($p=0/02$ ، $OR=0/29$ ، $95\%CI=0/1-0/85$). اگرچه، تفاوت معناداری بین توزیع آلی 155G/C بین دو گروه وجود نداشت ($\chi^2=1/46$ ، $p=0/22$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه حاکی از این است که ژنوتیپ CC (-155G/C) ژن CGB5 اثر حفاظتی در نتیجه ی IVF-ET دارد. مطالعات بیشتر با اندازه ی بزرگ تر نمونه ها در جمعیت های مختلف، جهت شناخت مکانیسم های دخیل در پیوستگی پلی مورفیسم های ژن CGB5 و نتیجه ی IVF-ET ضروری می باشد.

واژگان کلیدی: لقاح مصنوعی، پلی مورفیسم، CGB5

*نویسنده مسئول: ایران، رشت، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

Email: geneticzs@yahoo.co.uk

مقدمه

ناباروری یا عدم توانایی در باردار شدن، در دهه ی دوم هزاره ی جدید یک بیماری جهانی بسیار شایع محسوب می شود (۱). ناباروری به عدم حاملگی یک زوج پس از یک یا دو سال مقاربت مکرر جنسی محافظت نشده اطلاق می شود (۲). این اختلال ۸ تا ۱۲ درصد از زوج ها را در سنین باروری، در سراسر جهان تحت تأثیر خود قرار داده است (۳). شیوع ناباروری اولیه در ایران ۱۷/۳ درصد است که این میزان بالاتر از روند جهانی ناباروری می باشد (۴). ناباروری یک نشانگان چند عاملی است که عوامل مختلفی می توانند بر آن تأثیر گذار باشند. ۳۱ تا ۴۱ درصد از علل ناباروری مربوط به فاکتورهای زنانه، ۲۵ تا ۳۹ درصد مربوط به فاکتورهای مردانه و ۹ تا ۳۹ درصد ناشی از عوامل مشترک هر دو جنس و یا به صورت ایدیوپاتیک (ناشناخته) می باشد (۵).

امروزه روش های گوناگونی برای درمان ناباروری وجود دارد. لقاح مصنوعی اغلب بهترین درمان برای زوجین مبتلا به ناباروری می باشد (۶). با وجود پیشرفت های زیاد IVF، هنوز هم این تکنیک با شکست مواجه می شود. فاکتورهای متعددی در میزان موفقیت IVF-ET و نتیجه ی آن می توانند موثر باشند. از علل عمده ی عدم موفقیت در لقاح مصنوعی می توان به ضخامت آندومتر، پاسخ ضعیف به تحریک تخمدان، عدم موفقیت در لقاح، محیط کشت نامناسب، تکنیک انتقال جنین، عدم موفقیت در لانه گزینی و عوامل ژنتیکی اشاره کرد (۷، ۸). به علاوه، عادات فردی مانند چاقی، مصرف سیگار، الکل، عوامل شغلی و استرس نیز می تواند بر نتیجه لقاح مصنوعی -انتقال جنین (IVF-ET) تأثیر گذارند. به نظر می رسد که شکست در لانه گزینی، یکی از شایع ترین مراحل اصلی محدود کننده ی بارداری بعد از لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین محسوب می شود (۹). از این رو، این افراد نیاز به توجه بیشتری جهت پیشگیری از شکست بعد از درمان خواهند داشت.

در سلول های انسانی، ژن های CGB مسئول تولید پروتئینی به نام HCG می باشند که نقش هورمونی را در بدن بر عهده دارد. ژن های CGB دارای ۵ ژن کدکننده ی CGB3، CGB6، CGB7، CGB8، CGB5 و دو ژن غیر کدکننده ی CGB1 و CGB2 می باشند.

گنادوتروپین جفتی انسان (hCG) متشکل از دو زیر واحد آلفا و بتا است. زیر واحد آلفای این هورمون با سایر گنادوتروپین ها از جمله LH، FSH، TSH مشترک است که تنها توسط CGA کد می شود، ولی زیر واحد بتا برای هر هورمون به صورت اختصاصی می باشد که توسط ژن های CGB در یک خوشه ی ژنی ۵۰ کیلوبازی بر روی کروموزوم 19q13.33 کد می شوند. ژن CGB5 به یک خوشه ی ژنی که شامل ۷ ژن CGB (CGB1, 2, 3, 5, 6, 7, 8) و LHB است تعلق دارد. این ژن مانند سایر ژن های خوشه ی ژنی خود دارای ۳ اگزون می باشد (۱۰) و پروتئینی به نام β -HCG را بیان می کند. این پروتئین نقش هورمونی در بدن ایفا می کند. هورمون β -HCG یکی از هورمون های کلیدی در تعیین موفقیت اولیه ی بارداری محسوب می شود. این هورمون توسط جنین در مرحله ی ۸ سلولی، قبل از لانه گزینی تولید می شود و غلظت آن در هفته ی ۹ الی ۱۱ توسط تروفوبلاست در جریان خون مادر به اوج خود می رسد (۱۱، ۱۲).

هم چنین این هورمون در بخش هایی مانند غده ی تیموس، بافت ریه، کلیه ی جنین، بیضه و عضله ی اسکلتی به میزان کمتری نسبت به جفت بیان می شود. عمل کلاسیک این هورمون حفظ تولید هورمون های استروئیدی در جسم زرد (از جمله پروژسترون) می باشد. پروژسترون به همراه استروژن باعث می شود تا مخاط رحم وارد مرحله ی ترشحی شده و برای لانه گزینی آماده شود (۱۰). از آنجایی که توده سلولی داخلی به جنین و توده سلولی خارجی به تروفوبلاست و سپس به جفت تمایز می یابد، بنابراین عمل لانه گزینی جنین طی واکنش های متقابلی که بین تروفوبلاست و آندومتر رحم

مواد و روش ها

این مطالعه مورد-شاهدی، طی ۱۵ ماه و از تیر ۱۳۹۴ تا مهر ۱۳۹۵ انجام شد. افراد مورد بررسی، شامل ۲۰۰ فرد نابارور تحت درمان با لقاح مصنوعی بودند. افرادی که با استفاده از IVF-ET موفق به بارداری شدند، به عنوان گروه کنترل (IVF+) در نظر گرفته شدند. گروه بیمار (IVF-) شامل افرادی بود که بعد از درمان IVF-ET موفق به بارداری نشدند. تمامی افراد قبل از انجام IVF-ET، از نظر وضعیت هورمون های LH، FSH و استروژن مورد ارزیابی قرار گرفتند. معیارهای خروج از مطالعه شامل سابقه شیمی درمانی، جراحی تخمدان، کاریوتیپ غیر طبیعی و بیماری ژنتیکی شناخته شده، اندومتریوز و تخمدان پلی کیستیک بودند. این پژوهش با کد ۱۵۹۳۰۵۰۳۹۴۲۰۱۷۰۰۹۳۳۰۳۴۱۳۰۲ در معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد واحد تنکابن تصویب شد. با توجه به استفاده از نمونه های انسانی، این پژوهش مطابق با بیانیه هلسینکی انجام شد. کلیه افراد قبل از ورود به مطالعه، فرم رضایت نامه تدوین شده را امضا نمودند.

میانگین سنی در دو گروه زنان IVF+ و IVF- بین ۳۰ تا ۴۵ سال بود. از افراد مورد مطالعه، ۱ میلی لیتر خون محیطی جهت بررسی ژنتیک و استخراج DNA تهیه گردید. نمونه ها در لوله های استریل حاوی EDTA قرار گرفتند. استخراج DNA با کیت Gpp Solution (شرکت ژن پژوهان، ایران) و براساس پروتکل مربوطه صورت گرفت. کیفیت باندهای حاصل از DNA استخراج شده توسط الکتروفورز آگارز بررسی شد. تعیین ژنوتیپ ها به کمک تکنیک واکنش زنجیره ای پلی-مراز-پلی مورفیسم طول قطعه محدود (PCR-RFLP) صورت گرفت. جهت تکثیر ژن از یک جفت پرایمر اختصاصی استفاده گردید (شرکت Generay، چین). خصوصیات پرایمرها به همراه ویژگی آنزیم مورد نیاز در جدول ۱ آورده شده است.

وجود دارد اتفاق می افتد که بیان ژن CGB5 در آن نقش مهمی دارد. هورمون β -HCG در افزایش لانه گزینی بلاستوسیت، تهاجم تروفوبلاست، رگ زایی عروق رحم، تحریک تولید تستوسترون از بیضه و هم چنین در تنظیم و ایمنی رحم در دوران بارداری نقش دارد (۱۳).

در پژوهشی که در سال ۲۰۰۱ صورت گرفت اظهار شد که میزان β -hCG در روزهای ۱۲ تا ۱۶ بعد از انتقال رویان می تواند پیش بینی کننده ی مناسبی جهت سیر حاملگی باشد (۱۴). β -hCG سبب افزایش جریان خون شریانی رحم می شود و هم چنین با تکثیر سلول های اندوتلیال عروقی و افزایش بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، سبب تحریک رگ زایی در تخمدان می شود. مطالعه ای که در سال ۲۰۱۶ صورت گرفت نشان داد که این هورمون می تواند باعث افزایش رگ زایی و رشد تومور در تخمدان شود (۱۵). در مطالعه ای بر روی سلول های سرطانی پستان موش دیده شد که β -HCG حاصل از بیان CGB5 می تواند در القای آپاپتوزیس در این سلول ها مؤثر واقع شود (۱۶).

پلی مورفیسم C5-155G/C، در بالادست ژن CGB5، ۳۵۰ جفت باز بالاتر نسبت به جایگاه شروع رونویسی mRNA قرار دارد. در میان SNP های واقع در ناحیه ی پروموتور ژن CGB5، SNP C-155G یکی از مهم ترین جایگاه های پلی مورفیک می باشد، زیرا SNP های موجود در ناحیه ی پروموتور این ژن می توانند رونویسی را در آن تحت تأثیر قرار دهند (۱۷).

تاکنون هیچ مطالعه ای در خصوص اهمیت تغییرات تک نوکلئوتیدی CGB5 در موفقیت بارداری پس از IVF-ET صورت نگرفته است. با توجه به اهمیت CGB5 در لانه گزینی رویان، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم CGB5/155G (72553898) ژن CGB5 با نتیجه ی لقاح مصنوعی و انتقال جنین صورت گرفته است.

جدول ۱. توالی جفت پرایمر مورد استفاده جهت تکثیر ژن CGB5

NCBI SNP Cluster ID	پرایمر توالی (3'→5')
155G/C (rs72553898)	F:TTTAGTAGAGACAGGGATTACCA R: AGACCACGGTGAAGTGATCTCAG

مثبت (گروه کنترل)، ۵۳ نفر دارای ژنوتیپ هموزیگوت GG، ۳۰ نفر دارای ژنوتیپ هتروزیگوت GC و ۱۷ نفر دارای ژنوتیپ هموزیگوت CC بودند. از ۱۰۰ نمونه IVF منفی، ۵۳ نفر دارای ژنوتیپ GG، ۴۲ نفر دارای ژنوتیپ GC و ۵ نفر دارای ژنوتیپ CC بودند. جهت بررسی معنی دار بودن نتایج، با استفاده از آزمون کای مربع، مقدار p مورد ارزیابی قرار گرفت. مقدار $\chi^2 = ۸/۵۴۵$ ، $p = ۰/۰۱۳$ محاسبه شد. با توجه به مقدار p، اختلاف معنی داری در توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم C5-155G/C در ژن CGB5، بین دو گروه کنترل و بیمار وجود داشت. افراد حامل ژنوتیپ CC (موتانت) در مقایسه با افراد دارای ژنوتیپ GG شانس موفقیت در IVF-ET در آن‌ها بیشتر است (جدول ۲) و افراد دارای ژنوتیپ CC به میزان کمتری در معرض خطر شکست در لانه‌گزینی و IVF-ET قرار خواهند داشت ($p=۰/۰۰۲$ ، $OR=۰/۰۲۹$ ، $95\%CI=۰/۰۱-۰/۰۸۵$).

در نتیجه نقش احتمالی پلی مورفیسم C5-155G/C (rs72553898) در ژن CGB5، با نتیجه ی IVF-ET، می‌تواند به‌عنوان یک عامل محافظت کننده ی ژنتیکی معرفی شود. در بررسی فراوانی آللی C5-155G/C در ژن CGB5 طبق بررسی‌های انجام شده از ۲۰۰ الل موجود، در افراد کنترل و افراد IVF منفی، تعداد آلل C به ترتیب ۶۴ و ۵۲ و فراوانی آلل G به ترتیب ۱۳۶ و ۱۴۸ بود. در بررسی معنادار بودن فراوانی آللی مقدار $\chi^2 = ۱/۴۶$ ، $p = ۰/۲۲$ به دست آمد. در نتیجه با توجه به مقدار p ارتباط معناداری بین توزیع آلل‌ها و نتیجه ی IVF وجود نداشت.

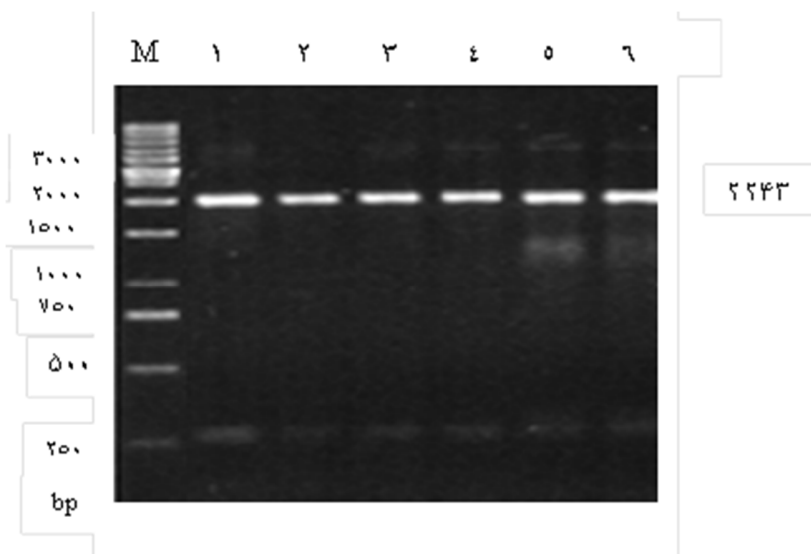
طی فرآیند PCR قطعه‌ای به طول ۲۲۴۳ جفت باز حاوی ناحیه ی پلی مورفیک ژن CGB5 تکثیر شد. در مرحله ی بعد محصول PCR تحت تاثیر هضم آنزیمی با آنزیم محدود کننده ECO130I (شرکت فرمنتاز، آمریکا) قرار گرفت. جهت شناسایی محصولات حاصل از RFLP، از ژل آگارز ۱ درصد استفاده گردید. در صورت وجود نوکلئوتید CG در این قطعه، آنزیم محدود کننده مذکور دارای جایگاه برش بر روی آن‌ها می‌باشد. بنابراین در سه ژنوتیپ CC، CG و GG برش آنزیمی صورت گرفته است.

بنابراین، به ترتیب در مورد ژنوتیپ GG یک قطعه ۱۷۵۹ جفت‌بازی و در مورد ژنوتیپ CC دو قطعه ۳۱۰ و ۱۴۴۹ جفت‌بازی ایجاد می‌شود و در ژنوتیپ CG سه قطعه ی ۳۱۰، ۱۴۴۹ و ۱۷۵۹ جفت بازی بر روی ژل آگارز قابل مشاهده خواهد بود.

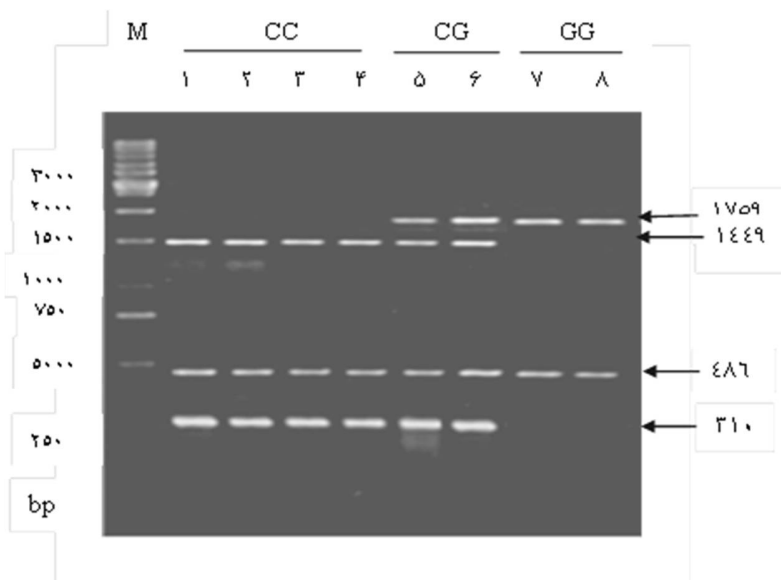
هم‌چنین در همه ی ژنوتیپ‌ها قطعه ۴۸۶ جفت بازی به‌طور ثابت حضور دارد. در این تحقیق، جهت محاسبه قدرت آماری از نرم‌افزار OpenEpi (www.OpenEpi.com) استفاده شد؛ قدرت مطالعه ۸۵ درصد برآورد شد. آزمون‌های آماری کای مربع (χ^2) و نسبت شانس (OR)، پارامترهایی مانند p و بازه اطمینان با استفاده از نرم‌افزار مد کالک (نسخه ۱۲.۱.۴.۰) انجام گرفت. مقدار p کمتر از ۰/۰۵، معیار معنی دار بودن در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

شکل‌های ۱ و ۲ به ترتیب تصاویر حاصل از PCR و واکنش RFLP را نشان می‌دهند. در بررسی فراوانی ژنوتیپی C5-155G/C در ژن CGB5 از ۱۰۰ فرد IVF



شکل ۱. بررسی محصولات PCR پلی مورفیسم C→155G در ژن CGB5 روی ژل ۱ درصد. نمونه های ۱-۶ محصول PCR ژن CGB5. فلش محل قطعه تکثیر شده را نشان می دهد.



شکل ۲. بررسی اثر هضم آنزیمی توسط آنزیم ECO130I بر روی محصولات PCR قطعه مورد نظر ژن CGB5 روی ژل آگارز ۱ درصد. ستون اول (M)، مارکر با وزن مولکولی 1 Kb را نشان می دهد. با توجه به باند های مشاهده شده در تصویر می توان ژنوتیپ هر یک از نمونه ها را تعیین کرد. به طوری که نمونه ۱ تا ۴ دارای ژنوتیپ CC، نمونه ۵ و ۶ دارای ژنوتیپ CG و نمونه ۷ و ۸ دارای ژنوتیپ GG می باشد.

جدول ۲. فراوانی ژنوتیپی پلی مورفیسم C/155G ژن CGB5 در افراد IVF+ و IVF-

ژنوتیپ	بیماران (IVF ⁻) تعداد (درصد)	کنترل ها (IVF ⁺) تعداد (درصد)	فاکتور خطر (۹۵٪ فاصله اطمینان) OR (95%CI)	میزان خطا p
GG	۵۳ (۵۳)	۵۳ (۵۳)	۱	-
GC	۴۲ (۴۲)	۳۰ (۳۰)	۱/۴ (۰/۷۶-۲/۵۶)	۰/۲۷
CC	۵ (۵)	۱۷ (۱۷)	۰/۲۹ (۰/۱-۰/۸۵)	۰/۰۲

بحث

به دلیل اهمیت ناباروری و شیوع گسترده ی آن و با در نظر گرفتن نقش ژن CGB5 در نتیجه ی IVF-ET، در این تحقیق به بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن CGB5 در زنان تحت درمان IVF-ET پرداخته شد. بررسی نتایج نشان داد که پلی مورفیسم مورد نظر با نتیجه IVF-ET در جمعیت مورد بررسی مرتبط می باشد. در بررسی ژنوتیپ ها، ژنوتیپ CC (موتانت) در مقایسه با ژنوتیپ GG با افزایش شانس موفقیت در بارداری بعد از IVF-ET همراه بود. یعنی افراد حامل ژنوتیپ CC کمتر در معرض خطر شکست در لانه گزینی و سقط جنین بعد از درمان با IVF-ET قرار خواهند داشت. در نتیجه می توان ژنوتیپ CC را به عنوان یک فاکتور احتمالی محافظت کننده برای موفقیت در لقاح مصنوعی و انتقال جنین در نظر گرفت ($p=0/02$, $OR=0/29$, $95\%CI=0/1-0/85$).

نگهداری جنین در اوایل بارداری امری بسیار مهم است که نیاز به تولید هورمون β -hCG دارد. این هورمون توسط جنین هشت سلولی، قبل از لانه گزینی تولید و باعث حفظ جسم زرد، تهاجم تروفوبلاست و در نتیجه افزایش لانه گزینی جنین می شود. هم چنین این هورمون به صورت مستقیم یا غیرمستقیم با اثر بر فاکتورهای رگزای دیگر، باعث تحریک آنژیوژنز در جفت شده و بدین ترتیب می تواند نقش مهمی در رشد جفت ایفا کند (۱۳، ۱۸). هورمون β -hCG با توجه به نقشی که در تولیدمثل انسان دارد، به عنوان هورمون حاملگی شناخته شده است (۱۹). β -hCG مترشحه از تروفوبلاست در حاملگی های طبیعی در روزهای ۶ الی ۷ روز بعد از لقاح، در گردش خون مادر ظاهر شده و مقدار آن هر ۴۸ ساعت دوبرابر می شود (۲۰). هم چنین این هورمون اولین پیام هورمونی از جفت به مادر است که دو روز بعد از لانه گزینی در خون مادر قابل تشخیص است (۱۰). کمبود β -hCG در سه ماه اول بارداری موجب سقط جنین شده، از این رو سطح این هورمون معمولاً در روزهای ۱۲ الی ۱۶ پس از انتقال جنین، در سرم

مادر می تواند نشان دهنده ی نتیجه ی حاملگی باشد (۲۰، ۲۱). ژن CGB5 یکی از ژن های پلی مورفیک خانواده ی گنادوتروپین های جفتی انسان محسوب می شود که به شدت حفاظت شده است (۲۲). چون پلی مورفیسم های ژنتیکی در برخی از موارد باعث تغییر فعالیت هورمون ها می شوند، بنابراین امکان ارتباط پلی مورفیسم این ژن و مستعد شدن افراد به برخی از ناهنجاری ها مانند ناباروری و انواع سرطان ها وجود دارد. هم چنین این ژن یکی از ژن های مهم در موفقیت حاملگی محسوب می شود. بنابراین می توان با بررسی آن میزان موفقیت در بارداری به روش آزمایشگاهی را پیش بینی کرد. یکی از مباحث مهمی که در مورد این ژن مطرح است، پلی مورفیسم در ناحیه ی پروموتور این ژن می باشد که با فراوانی نسبتاً بالایی در جمعیت انسانی وجود دارد. پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در جایگاه ۱۵۵ ناحیه ی پروموتور این ژن در اثر جابه جایی $G \rightarrow C$ نشان می دهد که فراوانی آلل های C (موتانت) در زنان بارور بیشتر از بیماران مبتلا به سقط مکرر می باشد. یعنی خطر سقط مکرر در افراد حامل آلل های مینور (موتانت) کاهش پیدا کرده است (۲۳). حدس زده می شود که تغییرات در این پلی مورفیسم در ناحیه ی پروموتور از نوع اپی ژنتیک می باشد.

تاکنون مطالعات اندکی بر روی ژن CGB5 انجام شده است. نتایج بررسی های انجام شده در جمعیتی از زنان چینی نشان می دهد که بین پلی مورفیسم rs6260002 این ژن و کاهش خطر ابتلا به سقط مکرر خودبه خودی ارتباط وجود دارد و هم چنین این پلی مورفیسم امکان ابتلا به سرطان پستان را پس از بارداری افزایش می دهد (۲۴). در بررسی دیگری در ارتباط با پلی مورفیسم های (C5-144T/C, C5-142T/C) با CGB5 $C5-147G/del$ در ناحیه ی پروموتور ژن CGB5 با بارداری، پیشنهاد شد که این پلی مورفیسم ها می توانند در تعدیل سقط مکرر مؤثر واقع شوند (۲۳). الگوی متیلاسیون نابجا پروموتور این ژن در جفت در دو جایگاه (rs710899, rs12610392) در اوایل بارداری ممکن است موجب

جهت درک بهتر و دقیق تر، به مطالعه ی وسیع تر و کنترل شده نیاز می باشد.

تشکر و قدردانی

مقاله حاضر بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد بهاره بابائی هولاری، دانشجوی رشته ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن می باشد. بدین وسیله نویسندگان از دانشگاه آزاد واحد تنکابن، آزمایشگاه ژنتیک و تکوین دانشگاه گیلان و موسسه ناباروری مهر و همچنین از کلیه افرادی که با اهداء خون به انجام این تحقیق کمک نموده اند تقدیر و تشکر می نمایند.

منابع

1. Ombelet W, Cooke I, Dyer S, Serour G, Devroey P. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Hum Reprod Update*. 2008;14(6):605–21.
2. Lindsay TJ, Vitrikas KR. Evaluation and treatment of infertility. *Am Fam Physician*. 2015 Mar;91(5):308–14.
3. Boivin J, Bunting L, Collins JA, Nygren KG. International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care. *Hum Reprod*. 2007 Jun;22(6):1506–12.
4. Kazemijalish H, Ramezani Tehrani F, Behboudi-Gandevani S, Hosseinpanah F, Khalili D, Azizi F. The Prevalence and Causes of Primary Infertility in Iran: A Population-Based Study. *Glob J Health Sci*. 2015 Apr;7(6):226–32.
5. Deroux A, Dumestre-Perard C, Dunand-Faure C, Bouillet L, Hoffmann P. Female Infertility and Serum Auto-antibodies: a Systematic Review. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016 Sep;
6. Tjon-Kon-Fat RI, Tajik P, Zafarmand MH, Bendsorp AJ, Bossuyt PMM, Oosterhuis GJE, et al. IVF or IUI as first-line treatment in unexplained subfertility: the conundrum of treatment selection markers. *Hum Reprod*. 2017 Feb;1–5.

نقص در کاشت و سقط جنین شود، اما هنوز مکانیسم آن به طور دقیق مشخص نیست (۲۵). در سال ۲۰۱۲، بررسی دو گروه از زنان مبتلا به سقط مکرر و کنترل (بارور) نشان داد که پلی مورفیسم ناحیه ی Leu1۵۶Val در ژن CGB5 می تواند باعث تغییرات ساختاری β -HCG شده و این امر در میزان ترشح آن می تواند تأثیر گذار باشد (۲۶). در سال ۲۰۱۳، پلی مورفیسم اینترونی جایگاه (rs480254) در دو گروه افراد مبتلا به سقط مکرر و بارور (کنترل) مورد ارزیابی قرار گرفت. نتیجه این تحقیق نشان داد که ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم مورد نظر در دو گروه مورد بررسی وجود نداشت (۲۳).

جهت درک بهتر عوامل ژنتیکی مادر در لقاح مصنوعی مطالعات وسیع تر و بسیار کنترل شده نیاز می باشد. علاوه بر این، با توجه به این که عوامل ژنتیکی و محیطی مختلفی می توانند در عدم موفقیت در لقاح مصنوعی و انتقال جنین نقش داشته باشند، باید در مطالعات مربوط به این موضوع، تأثیر متقابل این عوامل با یکدیگر نیز مورد بررسی قرار گیرد. از طرفی نتیجه ی به دست آمده ممکن است با تغییر خزانه ی ژنتیکی جمعیت و یا تغییر معنادار اندازه ی جمعیت تغییر نماید.

نتیجه گیری

در این تحقیق، به بررسی ارتباط پلی مورفیسم 155G/C ژن CGB5 با نتیجه IVF-ET در ۱۰۰ فرد با سابقه موفقیت و ۱۰۰ فرد با سابقه شکست در-IVF ET با استفاده از روش PCR-RFLP پرداخته شد. نتایج حاصل از این مطالعه ارتباط معناداری را بین ژنوتیپ CC (موتانت) ژن CGB5 و میزان لانه گزینی جنین در لقاح مصنوعی نشان داد. در واقع، این مطالعه همراهی ژنوتیپ CC (موتانت) را با میزان موفقیت در لانه گزینی جنین در لقاح مصنوعی پیشنهاد می کند (نقش محافظت کننده). با این وجود

7. Sigalos GA, Triantafyllidou O, Vlahos NF. Novel embryo selection techniques to increase embryo implantation in IVF attempts. *Arch Gynecol Obstet*. 2016 Nov;294(6):1117–24.
8. Chronopoulou E, Harper JC. IVF culture media: past, present and future. *Hum Reprod Update*. 2015;21(1):39–55.
9. Fiedler K, Wurfel W. Effectivity of heparin in assisted reproduction. *Eur J Med Res*. 2004 Apr;9(4):207–14.
10. Fournier T. Human chorionic gonadotropin: Different glycoforms and biological activity depending on its source of production. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2016 Jun;77(2):75–81.
11. Hay DL. Placental histology and the production of human choriogonadotrophin and its subunits in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol*. 1988 Dec;95(12):1268–75.
12. Lopata A, Hay DL. The potential of early human embryos to form blastocysts, hatch from their zona and secrete HCG in culture. *Hum Reprod*. 1989 Nov;4(8 Suppl):87–94.
13. Cole LA. Hyperglycosylated hCG, a review. *Placenta*. 2010 Aug;31(8):653–64.
14. Papageorgiou TC, Leondires MP, Miller BT, Chang AS, Armstrong AB, Scott LA, et al. Human chorionic gonadotropin levels after blastocyst transfer are highly predictive of pregnancy outcome. *Fertil Steril*. 2001 Nov;76(5):981–7.
15. Gao S, Fan C, Huang H, Zhu C, Su M, Zhang Y. Effects of HCG on human epithelial ovarian cancer vasculogenic mimicry formation in vivo. *Oncol Lett*. 2016 Jul;12(1):459–66.
16. Srivastava P, Russo J, Russo IH. Chorionic gonadotropin inhibits rat mammary carcinogenesis through activation of programmed cell death. *Carcinogenesis*. 1997 Sep;18(9):1799–808.
17. Sun Y, Ji X. Association of rs7260002 of chorionic gonadotrophin beta5 with idiopathic recurrent spontaneous abortion in Chinese population. *J Assist Reprod Genet*. 2014 Nov;31(11):1497–500.
18. Zhao Y, Brezina P, Hsu C-C, Garcia J, Brinsden PR, Wallach E. In vitro fertilization: four decades of reflections and promises. *Biochim Biophys Acta*. 2011 Sep;1810(9):843–52.
19. Licht P, Fluhr H, Neuwinger J, Wallwiener D, Wildt L. Is human chorionic gonadotropin directly involved in the regulation of human implantation? *Mol Cell Endocrinol*. 2007 Apr;269(1–2):85–92.
20. Dor J, Rudak E, Rotmensch S, Levrant D, Blankstein J, Lusky A, et al. The role of early post-implantation beta-HCG levels in the outcome of pregnancies following in-vitro fertilization. *Hum Reprod*. 1988 Jul;3(5):663–7.
21. Yamashita T, Okamoto S, Thomas A, MacLachlan V, Healy DL. Predicting pregnancy outcome after in vitro fertilization and embryo transfer using estradiol, progesterone, and human chorionic gonadotropin beta-subunit. *Fertil Steril*. 1989 Feb;51(2):304–9.
22. Miller-Lindholm AK, LaBenz CJ, Ramey J, Bedows E, Ruddon RW. Human Chorionic Gonadotropin-beta Gene Expression in First Trimester Placenta. *Endocrinology*. 1997 Dec;138(12):5459–65.
23. Rull K, Christiansen OB, Nagirnaja L, Steffensen R, Margus T, Laan M. A modest but significant effect of CGB5 gene promoter polymorphisms in modulating the risk of recurrent miscarriage. *Fertil Steril*. 2013;99(7).
24. Chen Y, Kibriya MG, Jasmine F, Santella RM, Senie RT, Ahsan H. Do placental genes affect maternal breast cancer? Association between offspring's CGB5 and CSH1 gene variants and maternal breast cancer risk. *Cancer Res*. 2008 Dec;68(23):9729–34.
25. Uuskula L, Rull K, Nagirnaja L, Laan M. Methylation allelic polymorphism (MAP) in chorionic gonadotropin beta5 (CGB5) and its association with pregnancy success. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011 Jan;96(1):E199–207.
26. Nagirnaja L, Venclovas C, Rull K, Jonas KC, Peltoketo H, Christiansen OB, et al. Structural and functional analysis of rare missense mutations in human chorionic gonadotrophin beta-subunit. *Mol Hum Reprod*. 2012 Aug;18(8):379–90.