Archive of SID

Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences
Vol. 21, No. 6, Jan-Feb 2014
Pages: 766-775

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد
دوره ۲۱، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۲
صفحه: ۷۷۵-۷۶۶

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های rs1049305 و rs10244884 ژن AQP-1 با منوراژی نوجوانان

صفورا معدنی[۱]، شیرین شهبازی*[۲]، رضا مهدیان[۳]، جواد علیزاده[۴]، زیور صالحی[۵]

۱- کارشناس ارشد زیست شناسی- ژنتیک، پردیس بین‌الملل، دانشگاه گیلان، رشت، ایران
۲- استادیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- استادیار گروه پزشکی مولکولی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۴- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
۵- دانشیار گروه زیست شناسی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۳/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۱۴

چکیده

مقدمه: آکواپورین‌ها کانال‌های آبی هستند که امکان عبور آب و دیگر مولکول‌ها را از غشا فراهم می‌کنند. بیان آکواپورین-۱ تحت تأثیر هورمون‌های جنسی بوده و باعث تغییر الگوی خونریزی‌های قاعدگی در زنان می‌شود. از آنجا که چند گونگی‌های ژنتیکی بر پروتئین‌های کدشونده تأثیرگذار هستند، مطالعه حاضر به بررسی ارتباط ۲ پلی‌مورفیسم ژن AQP-1 در بیماران مبتلا به منوراژی پرداخته است.

روش بررسی: در این تحقیق میزان و شدت خونریزی در ۳۷ نوجوان مبتلا به منوراژی در مقایسه با ۲۰ نوجوان سالم به عنوان گروه کنترل توسط پرسشنامه‌های استانداردسازی شده، ارزیابی گردید. پس از کسب رضایت و انجام خونگیری، DNA ژنومی استخراج و با روش‌های ARMS-PCR و PCR-RFLP ژنوتایپ گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون آنالیز یک طرفه و آنالیز کای مربع صورت گرفت.

نتایج: در rs1049305 آلل C minor فراوانی بیشتری در گروه بیماران نشان داد (۰/۳۷ vs ۰/۴۷). با در نظر گرفتن ژنوتیپ CC به عنوان ژنوتیپ مرجع، مشخص شد که افراد هموزیگوت GG از شانس خطر کمتری برای ابتلا به منوراژی برخوردارند (OR=۰/۴۸۲). فراوانی rs10244884 تقریباً الگوی توزیع فراوانی مشابه‌ای داشته و مشخص شد افراد هموزیگوت TT و همچنین افراد هتروزیگوت CT شانس خطر کمتری (به ترتیب ۰/۴۰۸ و ۰/۵۱۹) برای ابتلا به منوراژی دارند.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان می‌دهد هر دو پلی‌مورفیسم ژن AQP-1 در شانس ابتلا به منوراژی مؤثر می‌باشند که تأییدکننده نقش مهم این کانال انتقال آب در فیزیولوژی آندومتر و قاعدگی است.

واژه‌های کلیدی: آندومتر، آکواپورین-۱، ژن AQP-1، منوراژی، پلی‌مورفیسم

* (نویسنده مسئول)؛ تلفن: ۸۲۸۸۴۵۵۶ -۰۲۱، پست الکترونیکی: sh.shahbazi@modares.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیواره رحمی از سه لایه تشکیل شده که آندومتر (بافت مخاطی رحم) داخلی‌ترین قسمتی است که با حفره رحمی در ارتباط است و آن را می‌پوشاند. آندومتر تغییرات ساختاری را در طی سیکل قاعدگی متحمل می‌شود. این تغییرات توسط هورمون‌های استروژن و پروژسترون، به عنوان یک آماده‌سازی برای لانه گزینی تخمک لقاح یافته، القا می‌شود(۱). در صورت عدم لانه گزینی در انتهای هر سیکل قاعدگی، آندومتر تکثیر شده با قطع هورمون‌ها ریزش کرده و باعث بروز خونریزی می‌شود(۲،۳).

منوراژی به سیکل‌های قاعدگی سنگین برای چندین دوره پی در پی که طی آن مقدار خونریزی افزایش یافته یا بیش از ۸۰ سی سی در هر سیکل باشد، اطلاق می‌گردد. این عارضه یکی از شایع‌ترین (۷۴/۴٪) علل کم خونی فقر آهن در زنان است که باعث کاهش کیفیت و تهدیدی برای زندگی فردی و اجتماعی آنان محسوب می‌شود(۴).

عوامل مختلفی در پاتوژنز منوراژی مطرح می‌باشند که تغییرات هورمونی عمده این عوامل را تشکیل می‌دهد. تغییرات در روند آنژیوژنز که در رشد و ترمیم آندومتر نقش اساسی دارد نیز از دیگر عوامل مطرح شده می‌باشد. آکواپورین -۱، یک کانال آب است که در اندوتلیوم عروقی بیان شده و اهمیت آن در اختلالات آنژیوژنز تومورها مشخص شده است(۵). این پروتئین همچنین در مهاجرت سلولی که علاوه بر آنژیوژنز در پدیده‌های بیولوژیک دیگر مثل بهبود زخم و انتشار تومور نیز دیده می‌شوند، نقش ایفا می‌کند(۶) . از آنجا که یک مکانیسم احتمالی برای منوراژی ایدیوپاتیک می‌تواند یک آنژیوژنز ناقص و معیوب و فقدان تمامیت ساختاری مویرگ‌ها باشد، بررسی‌ها بر روی عملکرد آکواپورین-۱ در آنژیوژنز آندومتریال متمرکز شد. نتایج این تحقیقات نشان داد که بیان ژن AQP-1 در منوراژی ایدیوپاتیک کاهش می‌یابد(۷).

به طور کلی آکواپورین‌ها وظیفه نگهداری از محیط داخل سلولی به وسیله تنظیم تعادل آب و یون ها به عهده دارند(۸) تاکنون ۱۳ آکواپورین در پستانداران شناخته شده است که در تمام انواع اندام‌ها و بافت‌ها در سرتاسر بدن انسان بیان می‌گردند. سوء عملکرد این پروتئین‌ها می‌تواند باعث ایجاد اختلال در بافت و نشانه‌های بالینی شود(۹).

آکواپورین -۱ توسط ژن AQP-1 که بر روی 7p14.3 قرار دارد، رمز می‌گردد(۱۰). این پروتئین به صورت یک هموتترامر بوده که شامل ۶ دومین Bilayer-spanning و ۲ ناحیه Exofacial potential N-glycosylation می‌باشد(۱۱). بر روی ژن AQP-1 پلی‌مورفیسم‌های متعددی قرار دارد که در بیماری‌های معدودی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در بیماران آنمی سیکل سل که به عوارض عروقی دستگاه تناسلی مبتلا هستند، ارتباط معنی‌داری بین بروز اختلال و پلی‌مورفیسم rs10244884 مشاهده گردید(۱۲). این پلی‌مورفیسم به صورت تغییر C/T بوده که در اغلب جوامع، نسبت دو آلل تقریباً برابر می‌باشد. این تغییر تک نوکلئوتیدی در پایین دست ژن AQP-1 قرار گرفته است. پلی‌مورفیسم rs1049305 نیز تغییر تک نوکلئوتیدی C/G می‌باشد که توزیع فراوانی وابسته به جمعیت داشته و میزان Minor Allele Frequency آن از ۰/۲۰ تا ۰/۵۰ متغیر بوده است. این پلی‌مورفیسم که در ناحیه 3`-UTR ژن قرار گرفته است، اخیراً در تحقیقات سیروز کبدی مطالعه گردیده است. مشاهده شد که افراد با ژنوتیپ CC به طور معنی‌داری سطح پلاسمایی سدیم پایین‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر دارند(۱۳). همچنین مطالعات Sport Medicine نشان داد که ورزشکاران واجد ژنوتیپ CC از ورزشکاران ژنوتیپ‌های دیگر بیشتر در هنگام تعریق آب از دست می‌دهند(۱۴).

همانگونه که اشاره شد، برای اولین بار Mints و همکاران نشان دادند که در آندومتریوم انسان، AQP1 در آنژیوژنز و تغییر رگ‌های خونی شرکت کرده و در پاتوژنز خونریزی‌های شدید ایدیوپاتیک نیز دخالت دارد(۷). از آنجا که تحقیقات بر نقش بیان ژن AQP-1 در فیزیولوژی آندومتر تأکید داشته‌اند و با توجه به مطالعات ذکر شده که برای پلی‌مورفیسم‌های این ژن عملکرد تأثیرگذار گزارش کرده‌اند، ضرورت انجام تحقیقی در

www.SID.ir

Archive of SID

خصوص توزیع پلی‌مورفیسم‌های این ژن در بیماران منوراژی احساس گردید. به این ترتیب در مطالعه حاضر پلی‌مورفیسم‌های ژن AQP-1 در بیماران منوراژی بررسی شد که در نوع خود برای اولین بار انجام گرفته است.

روش بررسی

در این مطالعه که به صورت مورد ـ شاهدی طراحی گردیده بود، ۳۷ نوجوان با شکایت منوراژی و ۴۰ نوجوان سالم به عنوان گروه کنترل وارد مطالعه شدند و تعدادی از آنها واجد شرایط شرکت در مطالعه شناخته نشده و از مطالعه کنار گذاشته شدند. دلایل خروج از مطالعه شامل: گزارش مشکلات دیگر قاعدگی مانند ابتلا به بیماری‌های دیگر، تأخیر قاعدگی در چند ماه اخیر، سندرم پیش از قاعدگی و قاعدگی دردناک بود.

بیماران با همکاری مربیان بهداشت دبیرستان محل تحصیل‌شان در تهران شناسایی و جهت بررسی‌های بیشتر با همکاری والدین به مراکز درمانی ارجاع داده شدند. محدوه سنی در بیماران و گروه شاهد دختران ۱۸-۱۵ سال بود. برای همسان‌سازی نمونه‌ها، گروه کنترل از میان همکلاسی‌های گروه بیماران انتخاب شدند. حجم نمونه با در نظر گرفتن سطح اطمینان ۸۰٪ و با کمک نرم افزار EPI Info تعیین گردید.

با کمک پرسشنامه‌ای که به تأیید متخصص زنان و هماتولوژی رسیده بود، اطلاعات اولیه از هر دو گروه جمع‌آوری گردید. پرسشنامه با محوریت طول دوره، میزان و فواصل خونریزی طراحی شده بود.

موضوع تحقیق به تأییدیه کمیته اخلاق دانشگاه گیلان رسید و فرم رضایت نامه کتبی از بیماران تهیه و تنظیم شد.

پس از کسب رضایت، ۲-۳ میلی‌لیتر خون افراد در لوله‌های استریل حاوی EDTA جهت استخراج DNA جمع‌آوری شد. استخراج DNA توسط روش Salting-out و بر اساس پروتکل مربوطه صورت گرفت.

سپس غلظت و کیفیت DNA استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ و الکتروفورز آگارز مورد بررسی قرار گرفت. تعیین ژنوتیپ rs1049305 با استفاده از واکنش Tetra Primer ARMS- PCR انجام گردید. برنامه PCR مولتی پلکس با پرایمرهای اختصاصی خارجی جهت تکثیر قطعه کنترل به طول ۶۷۵ جفت باز و پرایمرهای اختصاصی داخلی آلل C به طول۲۳۲ جفت باز و آلل G به طول۴۷۶ جفت باز انجام گردید(۱۴). واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با 2X PCR Master Mix (GenetBio) که حاوی غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار MgCl2، ۰/۲ میلی‌مولار dNTPs و ۱ واحد آنزیم Taq Polymerase می‌باشد، صورت پذیرفت. همچنین ۴ پرایمر هر کدام در حجم نهایی ۰/۴ میلی مولار و ۴۰ نانوگرم DNA الگو، به واکنش اضافه گردید. سپس محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ مورد بررسی و آشکارسازی باندها توسط دستگاه Gel Documentation (شرکت VILBER) انجام شد.

ژنوتایپینگ rs10244884 نیز با روش جهت بررسی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی C/T انجام گردید. ابتدا ناحیه مورد نظر از نظر وجود آنزیم برش دهنده در سایت Webcutter 2.0 مورد بررسی قرار گرفت و آنزیم TaqI برای برش انتخاب گردید. سپس پرایمرها با استفاده از نرم افزار Oligo express طراحی گردیده و اختصاصی بودن آنها در وب سایت Blast مورد تأیید قرار گرفت.

پرایمرهای مستقیم و معکوس تکثیر پلی‌مورفیسم rs10244884 به شرح ذیل می‌باشد.

Taq-F: ATA GGT GCC ACC CAT GCT CC

Taq-R: GCC TCT GCT CTG CTG ACT CG

واکنش PCR با مقادیر زیر در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر صورت پذیرفت: 2X PCR master mix (GenetBio) حاوی MgCl2 با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، dNTPs با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار و ۱ واحد آنزیم Taq polymerase، پرایمرهای Forward و Reverse هرکدام با غلظت نهایی ۰/۴ میلی‌مولار و۴۰ نانوگرم DNA الگو. برنامه PCR با واسرشته‌سازی اولیه ۵ دقیقه‌ای در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد سیکل با برنامه ۹۵ درجه سانتی‌گراد در ۱ دقیقه، ۶۵ درجه سانتی‌گراد در ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد در ۳۰ ثانیه و در نهایت به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد در دستگاه PCR محصول شرکت ABI تنظیم گردید. سپس محصولات حاصل از

www.SID.ir

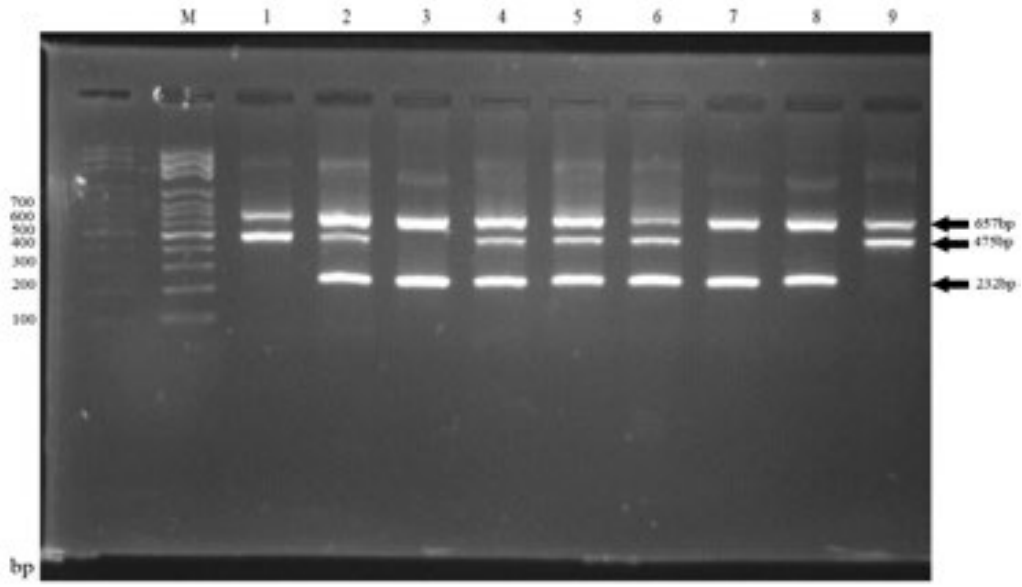
Archive of SID

PCR روی ژل آگارز ۱/۵٪ الکتروفورز گردید جهت انجام RFLP با آنزیم TaqI (Metabion)، محصولات PCR طبق دستور راهنما به صورت Overnight با آنزیم انکوبه شده سپس بر روی ژل آگارز ۳٪ مشاهده گردیدند. به منظور تأیید تشخیص، تعدادی از نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب و تعیین توالی گردیدند.

توزیع ژنوتیپی به طور متوسط ۵۰٪ برای هر الل در نظر گرفته شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۱۶ تجزیه و تحلیل شدند. جهت مقایسه گروه‌ها در مورد داده‌های کمی از آنالیز واریانس یکطرفه و در مورد داده‌های کیفی از آنالیز کای مربع استفاده شد.

نتایج

ناحیه حاوی پلی‌مورفیسم rs1049305 تک نوکلئوتیدی C/G با کمک روش Tetra Primer ARMS تکثیر گردید(۱۴). همانگونه که در شکل ۱ مشخص شده است. همه افراد دارای باند کنترل ۶۷۵ جفت بازی بودند و افراد هموزیگوت GG باند ۴۷۶ و افراد هموزیگوت CC باند ۲۳۲ و افراد هتروزیگوت دو باند ۴۷۶ و ۲۳۲ را نشان دادند. به طور تصادفی تعدادی از نمونه‌ها جهت انجام تعیین تولی انتخاب گردیدند. قطعات با طول ۲۳۲ bp مربوط به ناحیه تکثیر شده با پرایمرهای FIPC و ROP و قطعات bp۴۷۵ مربوط به ناحیه تکثیر شده با پرایمرهای RIPG و FOPاست و قطعات تکثیر شده با طول 657bp مربوط به ناحیه تکثیر شده با پرایمر های FOP و ROP است که در Master mix مولتی پلکسی از هر ۴ پرایمر استفاده شده است. نمودار الکتروفروگرام ژنوتیپ‌های مختلف در شکل ۲ قابل مشاهده است.



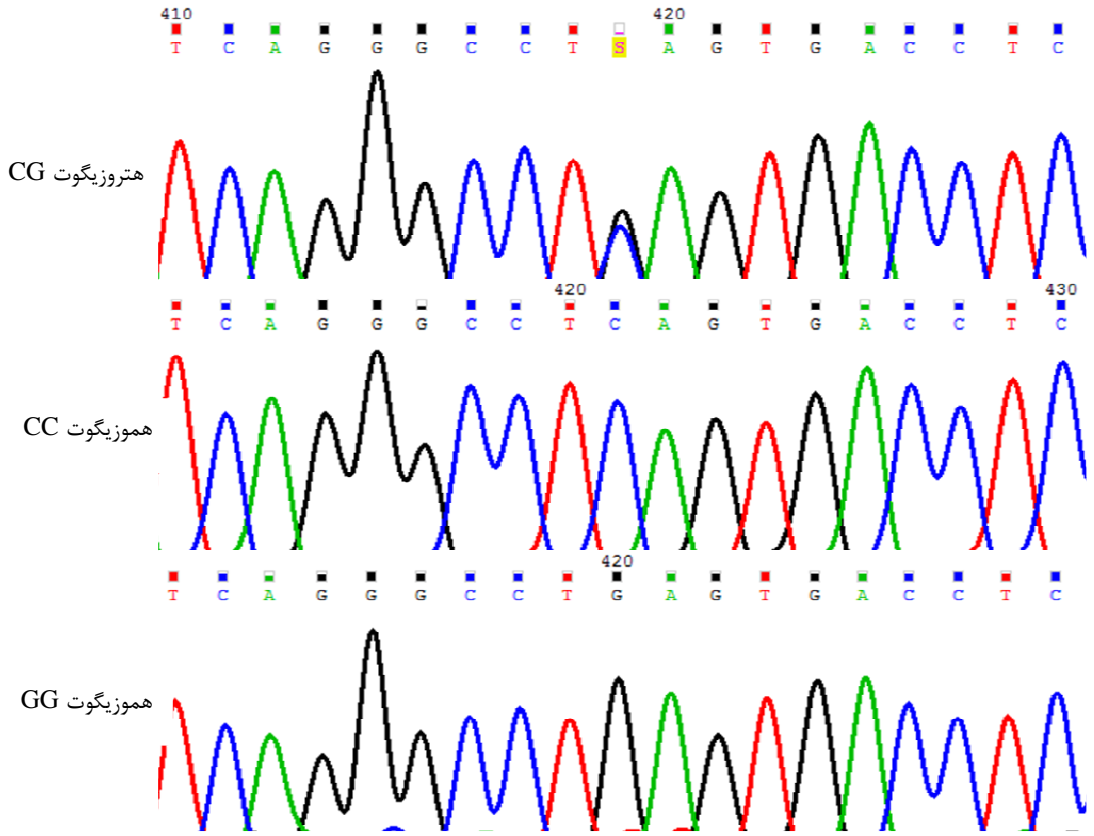
شکل ۱) ژل اگارز ۱/۵٪ مربوط به الکتروفورز محصولات واکنش ARMS-PCR

ستون M نشان دهنده مارکر 100bp. ستون‌های ۱ و ۹ مربوط به نمونه هموزیگوت با ژنوتیپ GG و ستون‌های ۲ و ۴ و ۵ و ۶ مربوط به نمونه هتروزیگوت با ژنوتیپ GC و ستون‌های ۳ و ۷ و ۸ مربوط به نمونه هموزیگوت با ژنوتیپ CC است.

آنالیزهای آماری نشان داد فرکانس آلل G در گروه بیمار ۰/۵۳ و در گروه کنترل ۰/۶۳ بوده است. همچنین فرکانس آلل C در گروه بیمار و شاهد به ترتیب ۰/۴۷ و ۰/۳۷ بودند. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های سه گانه این پلی‌مورفیسم در جدول ۱ آورده شده است. با آنالیز آماری مربع کای مشخص شد که در ژنوتیپ rs1049305 با در نظر گرفتن ژنوتیپ CC به عنوان ژنوتیپ مرجع، افراد هموزیگوت GG از شانس خطر کمتری برای ابتلا به منوراژی برخوردارند (CI=۰/۰۹۲، Odds =۰/۴۸۲ Ratio) و افراد هتروزیگوت GC شانس خطر مشابه‌ای برای ابتلا به منوراژی دارند (CI=۰/۲۱۰، Odds Ratio=۱).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۲: نتایج تعیین توالی پلی‌مورفیسم rs1049305

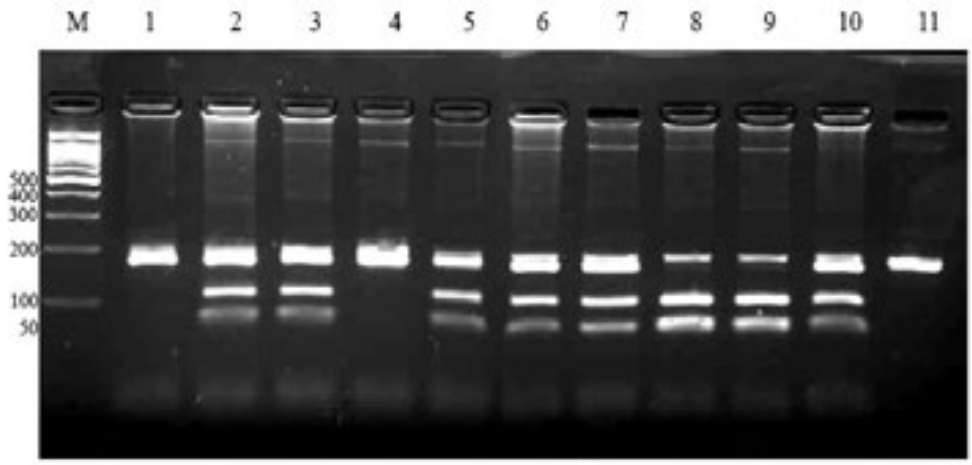
جدول ۱: فراوانی انواع ژنوتیپ در بررسی پلی‌مورفیسم rs1049305

	rs1049305				کل	
	GG		GC	CC		
	تعداد (درصد)		تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد	(درصد)
انواع ژنوتیپ برای نمونه‌های بیمار	۹	(۲۴/۳)	۲۱ (۵۶/۸)	۷ (۱۸/۹)	۳۷	(۱۰۰)
انواع ژنوتیپ برای نمونه‌های کنترل	۸	(۴۰)	۹ (۴۵)	۳ (۱۵)	۲۰	(۱۰۰)
تعداد کل	۱۷		۳۰	۱۰	۵۷	

ناحیه حاوی پلی‌مورفیسم rs10244884 تک نوکلئوتیدی C/T با کمک روش PCR- RFLP تکثیر گردید. بعد از بررسی محصولات PCR بر روی ژل آگارز و اطمینان از وجود باند تکی ۱۹۲ جفت بازی محصولات تحت اثر آنزیم قرار گرفتند. محصولات برش خورده بر روی ژل آگارز ۳٪ مورد بررسی قرار گرفتند. همانگونه که در شکل ۳ مشخص است نمونه‌های هموزیگوت TT یک باند برش نخورده ۱۷۲ جفت بازی، هموزیگوت‌های CC دو باند برش خورده حدوداً ۱۰۶ و ۶۶ جفت بازی و هتروزیگوت‌ها هر سه باند را نشان دادند. لازم به ذکر است بعد از هضم آنزیمی یک قطعه ۲۰ جفت بازی هم ایجاد می‌شود که بر روی ژل قابل شناسایی نیست و حذف می‌گردد. به طور تصادفی تعدادی از نمونه‌ها جهت انجام تعیین تولی انتخاب گردیدند. نمودار الکتروفروگرام ژنوتیپ‌های مختلف این پلی‌مورفیسم در شکل ۴ مشاهده می‌شود.

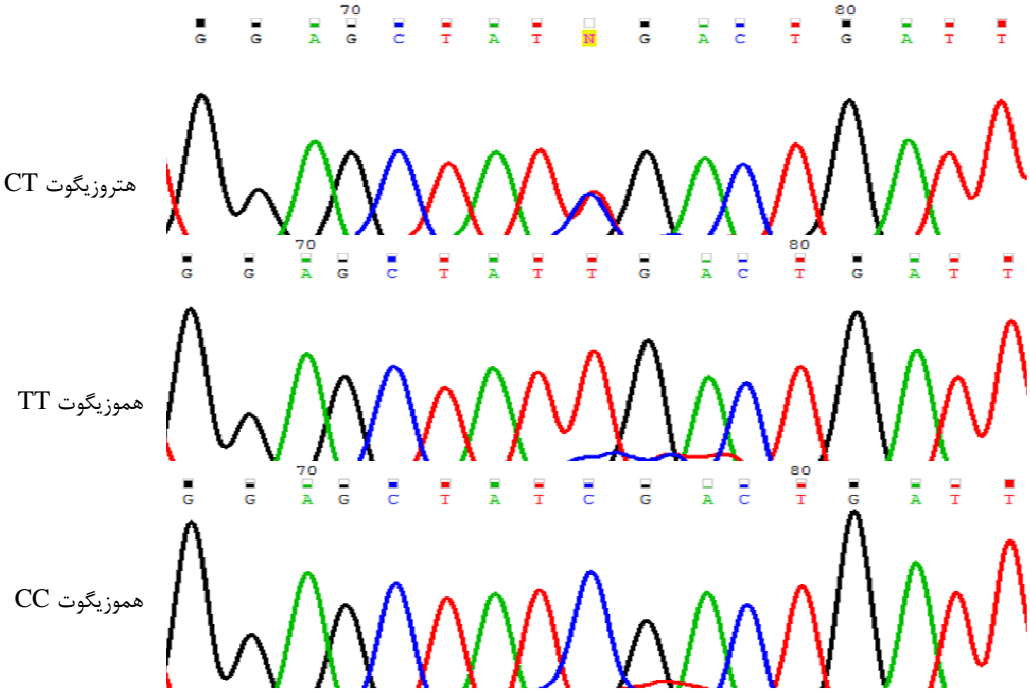
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳: نتایج PCR-RFLP بر روی ژل آگارز ۳٪

ستون M مارکر ۱۰۰bp- ستون‌های ۱ و ۴ و ۱۱ هموزیگوت TT با باند برش نخورده ۱۷۲جفت باز– ستون‌های ۸ و ۹ هموزیگوت CC با باندهای ۱۰۶ و ۶۶ جفت باز - ستون‌های ۲ و ۳ و ۵ و ۶ و ۷ و ۱۰ هتروزیگوت CT با هر سه باند



شکل ۴: نتایج تعیین توالی پلی‌مورفیسم rs10244884

آنالیزهای آماری نشان داد فرکانس آلل G در گروه بیمار ۰/۵۴ و در گروه کنترل ۰/۶۳ بوده است. همچنین فرکانس آلل C در گروه بیمار و شاهد به ترتیب ۰/۴۶ و ۰/۳۷ بودند. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های سه گانه این پلی‌مورفیسم در جدول ۲ آورده شده است. با استفاده از آزمون آماری مربع کای مشخص شد که در ژنوتیپ rs10244884 با در نظر گرفتن ژنوتیپ CC به عنوان ژنوتیپ مرجع، افراد هموزیگوت TT (Odds Ratio=۰/۴۰۸ ،CI=۰/۰۶۵) و هتروزیگوت CT از شانس خطر کمتری برای ابتلا به منوراژی برخوردارند (CI=۰/۰۹۲، Odds Ratio=۰/۵۱۹).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: فراوانی انواع ژنوتیپ در بررسی پلی‌مورفیسم rs10244884

	rs1024484			کل
	TT	CT	CC	
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
انواع ژنوتیپ برای نمونه های بیمار	۱۰ (۲۷)	۲۰ (۵۴/۱)	۷ (۱۸/۹)	۳۷ (۱۰۰)
انواع ژنوتیپ برای نمونه های کنترل	۷ (۳۵)	۱۱ (۵۵)	۲ (۱۰)	۲۰ (۱۰۰)
تعداد کل	۱۷	۳۱	۹	۵۷

بحث و نتیجه گیری

آکواپورین-۱ در رگ‌ها و شرایط بحرانی برای آنژیوژنز بیان می‌شود و به همین دلیل نقص و سوء عملکرد آن در آنژیوژنز، یک دلیل محتمل برای بروز منوراژی ایدیوپاتیک می‌باشد(۷). آنژیوژنز بیشترین اهمیت را برای بازسازی آندومتر دارد، اگرچه هنوز اطلاعات کمی راجع به اینکه Timing و مکانیسم تشکیل رگ‌های جدید چیست، وجود دارد(۱۵). برای مطالعه آنژیوژنز در محیط In Vivo، غشاء کوریوآلانتوئیک جنین جوجه بررسی شد با این نتیجه که پتانسیل آنژیوژنیک در سرتاسر سیکل قاعدگی وجود دارد(۱۶). رگ‌های خونی قطع شده در طی فاز قاعدگی و بعد از آن در طی فاز تولید مثلی ترمیم می‌شوند و رشد آندومتریوم توسط تشکیل رگ‌های جدید حمایت می‌شود. فاز ترشحی به وسیله تمایز مشخص می‌شود، که شامل تشکیل شریان‌های مارپیچی و شبکه موئین زیر اپی‌تلیال است. مهاجرت سلول‌های اندوتلیال طی فاز اولیه و میانه/انتهایی به اوج می‌رسد.(۱۷). باید توجه داشت تراکم رگی هم در گروه خانم‌ها با خونریزی نرمال و هم در بیمارانی که با خونریزی قاعدگی شدیدی مواجه‌اند در سرتاسر سیکل پایدار است(۱۸).

خونریزی شدید رحمی با آنژیوژنز نابجا ارتباط دارد که به عنوان مثال با افزایشی در تکثیر سلول‌های اندوتلیال خود را نشان می‌دهد. یکی از مطالعات قبلی مشخص کرد که ارتباطی بین ناهنجاری عروقی آندومتریوم و منوراژی وجود دارد(۱۹). مطالعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد آکواپورین-۱ نقشی در فرآیند آنژیوژنز ایفا می‌کند، به عنوان مثال در موش‌های knock-out برای AQP-1، مشخص شده که این پروتئین در آنژیوژنز و مهاجرت سلولی اندوتلیال دخالت دارد(۲۰).

با استناد به این مطالب و فرضیات در نظر گرفته شده، بررسی انتشار آکواپورین-۱ در آندومتریوم منوراژیک در مقایسه با آندومتریوم نرمال صورت پذیرفته است. در مطالعات اخیر مشخص شد که بیان AQP-1 در فاز تولید مثلی و ترشحی آندومتریوم مشابه است(۲۱). اگرچه مطالعات بر روی تنظیم هورمونی آکواپورین-۱ با هم مغایر است؛ بعضی وابستگی به استروژن را نشان می‌دهند در حالی که سایر آنها اینطور نیستند(۲۲). مطالعه‌ای نیز وجود دارد که نشان می‌دهد بیان AQP-1 نزدیک به انتهای سیکل و وابسته به تنظیم پروژسترون افزایش پیدا می‌کند. در این مطالعه Richards و همکاران متوجه شدند که بیان AQP-1 در لایه سلولی داخلی میومتریوم در رحم موش بعد از اثر استروژن، افزایش پیدا کرده است(۲۳).

بیان AQP-1 هم در رحم انسان و هم در رحم موش گزارش شده که این بیان تنها در سلول‌های اندوتلیال اتفاق می‌افتد. در آخرین مطالعات انجام شده، نمونه‌های بیوپسی‌ای که در طی سطوح مختلف فاز ترشحی به دست آمده بودند، نشان‌دهنده هیچ تفاوت معنی‌دار آماری در رنگ‌آمیزی آکواپورین-۱ نبودند. جالب است که سطوح mRNAی AQP-1 در طی فاز ترشحی افزایش یافته بود(۷).

به علاوه فرض می‌شود که سطوح کاهش یافته آکواپورین-۱ در مطالعات دلیلی بر انتقال ترنس اندوتلیال تغییر یافته بر اساس تغییرات در نفوذپذیری است(۲۴). حضور آکواپورین-۱ در رگ‌های خونی اندوتلیال، درگیری در تنظیم آنژیوژنز در آندومتریوم انسانی را پیشنهاد می‌کند. بنابراین، آنژیوژنز نابجا و ناقص در بیماران با خونریزی شدید رحمی می‌تواند مربوط به

www.SID.ir

Archive of SID

آکواپورین-۱ باشد.

پلی‌مورفیسم‌های ژنی بر میزان بیان و عملکرد آنها تأثیرگذار هستند. در خصوص ژن AQP-1 مطالعات بسیار ناقص و کم صورت گرفته است. با توجه به روشن شدن نقش این کانال آب در روند آنژیوژنز و منوراژی، برای اولین بار در مطالعه حاضر دو پلی‌مورفیسم این ژن مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج مطالعه حاضر ارتباطی بین منوراژی و این چندگانگی‌ها مشاهده کرد. اگرچه این نتایج از لحاظ آماری کاملاً معنی‌دار نبودند، اما شانس خطر بالاتر ابتلا به منوراژی را در بعضی ژنوتیپ‌ها نشان دادند. برای تأیید دقیق این نتایج پیشنهاد می‌شود مطالعه با حجم نمونه بالاتر و به همراه مطالعات عملکردی صورت پذیرد تا نقش اساسی این پلی‌مورفیسم‌ها بهتر روشن گردد.

سپاسگزاری

از تمام عزیزانی که در انجام این پروژه ما را یاری کردند قدردانی می‌شود.

References:

1- Mihm M, Gangooly S, Muttukrishna S. ***The normal menstrual cycle in women.*** Anim Reprod Sci 2011; 124(3-4):229-36.

2- O'Connor KA, Holman DJ, Wood JW. ***Menstrual cycle variability and the perimenopause.*** Am J Hum Biol 2001; 13(4): 465-78.

3- Shirtcliff EA, Reavis R, Overman WH, Granger DA. ***Measurement of gonadal hormones in dried blood spots versus serum: verification of menstrual cycle phase.*** Horm Behav 2001; 39(4): 258-66.

4- Gallagher JR. ***Dysmenorrhea and menorrhagia in adolescence.*** Conn State Med J 1955; 19(6): 469-71.

5- Agre P, Kozono D. ***Aquaporin water channels: molecular mechanisms for human diseases.*** FEBS Lett 2003; 555(1): 72-8.

6- Kozono D, Yasui M, King LS, Agre P. ***Aquaporin water channels: atomic structure molecular dynamics meet clinical medicine.*** J Clin Invest 2002; 109(11): 1395-99.

7- Mints M, Hildenbrand A, Lalitkumar LP, Andersson S, Nielsen S, Gemzell-Danielsson K, et al. ***Expression of aquaporin-1 in endometrial blood vessels in menorrhagia.*** Int J Mol Med 2007; 19(3): 407-11.

8- Knepper MA. ***The aquaporin family of molecular water channels.*** Proc Natl Acad Sci USA 1994; 91(14): 6255-58.

9- Knoers NV, Deen PM. ***Aquaporin molecular biology and clinical abnormalities of the water transport channels.*** Curr Opin Pediatr 1998; 10(4): 428-34.

10- Deen PM, Weghuis DO, Geurs van Kessel A, Wieringa B, van Os CH. ***The human gene for water channel aquaporin 1 (AQP1) is localized on chromosome 7p15-->p14.*** Cytogenet Cell Genet 1994; 65(4): 243-46.

11- Campbell EM, Birdsell DN, Yool AJ. ***The activity of human aquaporin 1 as a cGMP-gated cation channel is regulated by tyrosine phosphorylation in the carboxyl-terminal domain.*** Mol Pharmacol 2012; 81(1): 97-105.

www.SID.ir

Archive of SID

12- Elliott L, Ashley-Koch AE, De Castro L, Jonassaint J, Price J, Ataga KI, et al. ***Genetic polymorphisms associated with priapism in sickle cell disease.*** Br J Haematol 2007; 137(3): 262-67.

13- Fabrega E, Berja A, Garcia-Unzueta MT, Guerra-Ruiz A, Cobo M, Lopez M, et al. ***Influence of aquaporin-1 gene polymorphism on water retention in liver cirrhosis.*** Scand J Gastroenterol 2011; 46(10): 1267-74.

14- Rivera MA, Martinez JL, Carrion A, Fahey TD: ***AQP-1 association with body fluid loss in 10-km runners.*** Int J Sports Med 2011; 32(3): 229-33.

15- Gargett CE, Rogers PA. ***Human endometrial angiogenesis.*** Reproduction 2001; 121(2): 181-86.

16- Maas JW, Groothuis PG, Dunselman GA, de Goeij AF, Struyker Boudier HA, Evers JL. ***Endometrial angiogenesis throughout the human menstrual cycle.*** Hum Reprod 2001; 16(8): 1557-61.

17- Rogers PA, Abberton KM, Susil B. ***Endothelial cell migratory signal produced by human endometrium during the menstrual cycle.*** Hum Reprod 1992; 7(8): 1061-66.

18- Rees MC, Dunnill MS, Anderson AB, Turnbull AC. ***Quantitative uterine histology during the menstrual cycle in relation to measured menstrual blood loss.*** Br J Obstet Gynaecol 1984; 91(7): 662-66.

19- Hildenbrand A, Stavreus-Evers A, Lalitkumar PG, Nielsen S, Mints M, Gemzell-Danielsson K. ***Aquaporin 1 is expressed in the human endometrium during normal cycle and increases after mifepristone treatment.*** Int J Mol Med 2008; 22(1): 49-53.

20- Saadoun S, Papadopoulos MC, Hara-Chikuma M, Verkman AS. ***Impairment of angiogenesis and cell migration by targeted aquaporin-1 gene disruption.*** Nature 2005; 434(7034): 786-92.

21- Sun CC, Feng C, Zhou CY, Huang HF. ***Expression profile of aquaporin 1 in patients with menorrhagia.*** Zhejiang Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2007; 36(5): 433-38.

22- Lindsay LA, Murphy CR. ***Redistribution of aquaporins 1 and 5 in the rat uterus is dependent on progesterone: a study with light and electron microscopy.*** Reproduction 2006; 131(2): 369-78.

23- Richard C, Gao J, Brown N, Reese J. ***Aquaporin water channel genes are differentially expressed and regulated by ovarian steroids during the periimplantation period in the mouse.*** Endocrinol 2003; 144(4): 1533-41.

24- Feng C, Sun CC, Wang TT, He RH, Sheng JZ, Huang HF. ***Decreased expression of endometrial vessel AQP1 and endometrial epithelium AQP2 related to anovulatory uterine bleeding in premenopausal women.*** Menopause 2008; 15(4 Pt 1): 648-54.

www.SID.ir

Archive of SID

Investigating the Correlation between rs1049305 and rs10244884 Polymorphisms of AQP-1 Gene and Menorrhagia in Adolescents

Madani S(MSc)[1], Shahbazi Sh(PhD)[*2], Mahdian R(MSc)[3], Alizadeh J(MSc)[4], Salehi Z(PhD)[5]

[1-5]Department of Biology, University of Guilan, Rasht, Iran
[2]Department of Medical Genetics, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3]Department of Molecular Medicine, Pasteur Institute, Tehran, Iran
[4]Department of Biotechnology, Pasteur Institute, Tehran, Iran

Received: 15 Jun 2013 ***Accepted:*** 5 Dec 2013

Abstract

Introduction: Aquaporins (AQPs) are water channels present in the cell wall, allowing water – and occasionally other molecules – to pass the cell membrane. Their function is to maintain the internal milieu cells by regulating water and ion equilibrium. The endometrium undergoes structural changes during the menstrual cycle. If implantation does not occur at the end of each menstrual cycle, amplified endometrium is shed in absence of hormones and leads to bleeding. Excessive uterine bleeding over 80 cc in each menstrual cycle called menorrhagia, is a common gynecological disorder which causes large menstrual bleedings and reduced quality of life for those affected.

Methods: The study included 37 patients with menorrhagia and 20 healthy individuals. Genomic DNA was extracted from peripheral blood and Genotypes were determined by ARMS-PCR and PCR-RFLP .Statistical analysis was performed using the SPSS program.

Results: Regarding rs1049305, the C minor allele showed more frequency in patients' group (0.47 vs. 0.37). The results revealed that GG genotype presents less probable risk for menorrhagia. rs10244884 also shows the same frequency.

Conclusion: It can be concluded that both variants are important in pathogenesis of menorrhagia and the results confirm the important role of Aquqporin–1 channel in menstruation as well as endometrium physiology.

Keywords: AQP-1 gene; Endometrium; Menorrhagia; Polymorphism

This paper should be cited as:
Madani S, Shahbazi Sh, Mahdian R, Alizadeh J, Salehi Z.***Investigating the correlation between rs1049305 and rs10244884 polymorphisms of AQP-1 gene and menorrhagia in adolescents***. J Shahid Sadoughi Univ Med Sci 2014; 21(6): 766-75.

****Corresponding author: Tel: +98 21 82884556, Email: sh.shahbazi@modares.ac.ir***

www.SID.ir