

بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs58777844 در ژن KISS1R با ناباروری در جمعیتی از زنان استان گیلان

نویسندگان:

زکيه سياهپوش^۱، حميدرضا وزيری*^۱، حسين روجی^۲

۱- گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

۲- گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.15, No.1, Spring 2017

چکیده:

مقدمه: ژن KISS1R مسئول طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله ناباروری و سرطان است. یکی از علت‌های بالقوه مهم در ناباروری جهش در ژن مذکور است. این ژن در مسیر هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی نقش مهمی دارد و منجر به تنظیم تولیدمثل و بلوغ در مهره‌داران می‌شود. هدف مطالعه حاضر، بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs58777844 ژن KISS1R با ناباروری در زنان استان گیلان بود.

روش کار: در این پژوهش نمونه خون از ۴۰ زن نابارور (گروه بیمار) و ۴۰ زن سالم (گروه کنترل) گرفته شد. DNA ژنومی از خون این افراد استخراج گردید. برای تعیین قطعات پلی مورفیسمی مورد نظر تحت واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی ال (AS-PCR) انجام گرفت. در نهایت آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Medcalc (v 13.0) انجام گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان‌دهنده ارتباط معناداری در توزیع ژنوتیپی ($P=0/03$) و همچنین در توزیع آلی ($P=0/0113$) بین افراد بیمار و کنترل بود.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان‌دهنده ارتباط پلی مورفیسم rs58777844 در ژن KISS1R به‌عنوان یک عامل خطر ناباروری در زنان موردبررسی است.

واژگان کلیدی: ناباروری، ژن KISS1R، پلی مورفیسم، زنان

Pars J Med Sci 2017;15(1):16-22

مقدمه:

هستند و یا اینکه علت ناباروری در آنها شناخته نشده و قابل توضیح نمی‌باشد [۲].

ناباروری شریطی چندعاملی دارد که شامل عوامل زنانه و مردانه می‌باشد [۳]. عامل‌های زنانه مرتبط با ناباروری عبارتند از: اختلال‌های پزشکی، اختلال‌های ژنتیکی، عوامل ناشی از سموم محیطی، سرطان، عفونت، بیماری‌های خودایمنی و اختلال‌های گوارشی از جمله بیماری التهابی روده و بیماری سلیاک [۴]. علل هورمونی ناباروری زنان نه تنها شامل اختلال در اعضای دخیل در سیستم تولیدمثل می‌باشد، بلکه در نتیجه‌ی اختلال در غدد درون ریز، اختلال‌های غیرتولیدمثلی و اندام‌های غیراندوکروینی

ناباروری یک اختلال در سیستم تولیدمثل است که با عدم موفقیت در حاملگی بعد از داشتن حداقل ۱۲ ماه مقاربت جنسی منظم و مطلوب همراه باشد [۱، ۲]. ناباروری به دو نوع اولیه و ثانویه تقسیم می‌شود. اصطلاح ناباروری اولیه در مورد افرادی به‌کار می‌رود که هرگز باردار نشده باشند، اما اصطلاح ناباروری ثانویه در مورد افرادی به‌کار می‌رود که یک حاملگی داشته‌اند و تلاش‌های بعدی برای بارداری در آنها ناموفق بوده است. از میان تمام زوج‌های نابارور، ناباروری مردان حدود ۳۰ تا ۴۰٪ و ناباروری زنان ۴۰ تا ۵۰٪ از علل ناباروری‌ها است. در ۱۰ تا ۳۰٪ زوج‌های نابارور باقیمانده طبق این تعریف، هردو زوج (زن و مرد) عامل ناباروری

* نویسنده مسئول، نشانی: رشت- خیابان نامجو- دانشکده علوم پایه- گروه زیست‌شناسی

پست الکترونیک: vaziri@guilan.ac.ir

تلفن تماس: ۰۹۱۱۲۴۴۶۲۸۱

پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱۶

اصلاح: ۱۳۹۶/۲/۲۳

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۷

انتهای آمینی خود دارند. از روی mRNA یک Preprokisspeptin با طول ۱۴۵ اسیدآمینه ایجاد می شود که در اثر برش پروتئولیتیکی و فرآیندهای شیمیایی دیگر، Kp54 (KISSPEPTIN)، Kp14، Kp13 و Kp10 تولید می شود [۱۲] که البته پتانسیل آنها برای فعال سازی گیرنده ی مربوطه اندکی تفاوت دارد و این مساله به دلیل تفاوت در طول اسیدآمینه های مربوط به انتهای آمینی می باشد [۱۴،۱۳،۹].

در سال ۲۰۰۱، KISSPEPTIN به عنوان لیگاند برای ژن ارفان GPR54 که تا سال ۲۰۰۱ هیچ لیگاندی برای آن شناسایی نشده بود، معرفی شد. همان طور که ذکر شد این گیرنده در موش صحرایی (رت) به GPR54 نام گذاری شد و همولوگ های انسانی آن AXOR12 یا hOT7T175 نام گرفت اما برای سهولت در استفاده این گیرنده را KISS1R (kisspeptin receptor) و یا به عبارتی گیرنده ی KISSPEPTIN می نامیم [۱۷،۱۶،۱۵].

ژن این گیرنده در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹، ناحیه ی ۱، نوار ۳ و زیرنوار ۳ (19p13.3) قرار دارد و حاوی پنج اگزون و چهار اینترون است که اگزون پنجم آن از همه طولانی تر است و بیشترین جهش ها هم در آن رخ می دهد (۱۱، ۱۸). پروتئین تولید شده از این ژن ۳۹۸ اسیدآمینه دارد و حاوی هفت بخش آب گریز گذرنده از غشا در ساختار خود می باشد و همچنین عضوی از خانواده ی بزرگ رودپسین ها هم به شمار می آید [۱۸،۱۱].

عوامل ژنتیکی نقش مهمی در بیماری های مختلف از جمله ناباروری دارند؛ یکی از این عوامل جهش در ژن KISS1R است. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر پلی مورفیسم rs58777844 روی ناباروری می باشد. این پلی مورفیسم واقع در جایگاه ۱۰۹۸ ژن و کدون ۳۱۳ پروتئین KISS1R می باشد. در این جایگاه جهش دگر معنا (Missense) رخ می دهد و موجب تغییر باز T به C و در نتیجه تبدیل کدون TAC به کدون CAC می شود. در راستای این تغییرات اسیدآمینه ی تایروزین (Y) به هیستیدین (H) تبدیل می شود. جایگاه این اسیدآمینه در اگزون ۵ و در ابتدای هفتمین بخش گذرنده از غشا می باشد و بسیار هم حفاظت شده است. با توجه به جایگاه حفاظت شده ی اسیدآمینه ی ۳۱۳ام و نقش مهم این پروتئین در مسیر تولیدمثلی، تاثیر این پلی مورفیسم در ناباروری زنان استان گیلان بررسی می شود.

روش کار:

در این تحقیق مورد-شاهدی از دو گروه بیمار و شاهد (افراد سالم از نظر باروری)، نمونه خون تهیه شد. گروه بیمار ۴۰ زن دارای مشکل ناباروری ایدیوپاتیک بودند که پس از تشخیص و معرفی پزشک متخصص زنان و زایمان انتخاب شدند. گروه شاهد نیز شامل ۴۰ زن سالم بودند. سن افراد حداقل ۲۰ سال و حداکثر ۳۵

مانند کبد و کلیه نیز می تواند باشد. این اندام های غیراندوکروینی در آزادسازی و سوخت و ساز هورمون های تولیدمثلی درگیر می شوند و در نهایت باعث اختلال در بلوغ تخمک و تخمک گذاری خواهند شد [۵]. هم چنین لازم به ذکر است از دلایل اصلی مشکلات آناتومیکی در ناباروری زنان می توان به آسیب لوله های رحمی توسط عفونت، اندومتریوز، غیرطبیعی بودن اکتسابی و مادرزادی رحم اشاره کرد [۶].

علل ناباروری اعم از مشکلات هورمونی و چاقی تا غیرطبیعی بودن سلول های جنسی (تخمک و اسپرم) همگی می تواند به نوعی تحت تاثیر عوامل ژنتیکی باشد. امروزه مطالعات بر روی ژن های خاص در انسان و مدل های آزمایشگاهی تا حدودی تاثیر عوامل ژنتیکی بر ناباروری را آشکار ساخته اند [۸،۷]. کشف KISSPEPTIN و گیرنده ی آن در سال ۱۹۹۶ در پیچه ی جدیدی را در مورد فیزیولوژی مسیر هیپوتالاموس-هیپوفیز-غدد جنسی به روی محققان گشود. سیستم KISSPEPTIN در میان مهره-داران به جز پرندگان، کاملاً حفظ شده است. تا به امروز مطالعات بسیاری روی نقش های KISSPEPTIN صورت گرفته است و اکثر قریب به اتفاق آنها KISSPEPTIN را در مسیر هیپوتالاموس-هیپوفیز-غددجنسی مسئول می دانند. فقدان ژن KISS1 و یا گیرنده اش باعث تاخیر افتادن بلوغ و همچنین هایپوگنادوتروفیک هایپوگنادیسم می شود و حضور پپتیدهای ژن KISS1 باعث القای رها شدن هورمون جسم زرد یا LH (Luteinizing Hormone) می شود و در باروری موثر است [۹].

پیام های KISSPEPTIN مستقیماً روی نورون های GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) تاثیر می گذارند و در نتیجه ی مسیر باعث ترشح LH و هورمون محرک فولیکول یا FSH (Follicle Stimulating Hormone) از گنادها می شوند. KISSPEPTIN یک محرک قوی برای آزاد سازی گنادوتروپین است و به عنوان رابط بین هورمون های استروئیدی و ترشح GnRH عمل می کند. KISSPEPTIN در انسان آزاد شدن گنادوتروپین را تحریک می کند و همچنین باعث تحریک ترشح GnRH در هیپوتالاموس می شود. البته KISSPEPTIN و گیرنده اش (KISS1R) نقش های فیزیولوژیک دیگری از جمله کنترل محور تولیدمثلی و باروری، کنترل بلوغ زودرس و دیررس، کنترل فعالیت تولیدمثلی فصلی، مهارکنندگی متاستاز و آزادسازی کلسیم را هم به عهده دارند [۱۱،۱۰].

ژن KISS1 روی بازوی بلند کروموزوم ۱ قرار دارد. این ژن دارای چهار اگزون است که تنها اگزون های ۳ و ۴ رونویسی می شود. مجموعه پپتیدهای حاصل از این ژن KISSPEPTIN نام دارند و متعلق به خانواده ی بزرگی از پپتیدها به نام RFamide هستند و همگی موتیف عمومی Arg_Phe_NH2 یا R-F-NH2 را در

از: سیکل اول برای واسرشت سازی اولیه ۱ بار به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، سیکل دوم شامل سه مرحله‌ی واسرشت سازی و اتصال آغازگر به رشته الگو و بسط پلیمرز ۳۵ بار هر کدام به مدت ۳۰ ثانیه در دماهای به ترتیب ۹۴، ۶۶/۵ و ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، سیکل سوم برای بسط نهایی ۱ بار به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و سیکل نهایی برای نگهداری محصولات ۱ بار در دمای ۴ درجه نگهداری شدند. مراحل مختلف برنامه‌ی تکثیر قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی مربوط به آلل بیمار در دستگاه ترموسایکلر در همه مراحل مشابه الل جهش یافته بود ولی دمای اتصال به رشته الگو ۶۷/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد بود.

افرادی که در ژل آگارز بررسی نتایج PCR دو قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی با توجه به پرایمرهای مربوط به آلل موتانت و وحشی را داشته باشند هتروزیگوت‌اند (T/C). افرادی که فقط قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی با توجه به پرایمر مربوط به آلل وحشی را داشته باشند، هموزیگوت سالم (T/T) و افرادی که فقط قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی با توجه به پرایمر مربوط به آلل موتانت را داشته باشند، هموزیگوت بیمارند (C/C).

بررسی آماری:

به منظور تفسیر نتیجه‌های به دست آمده از نرم افزار MedClac نسخه‌ی 13.0 استفاده شد. فراوانی آلی و ژنوتیپی در هر دو گروه بیمار و سالم محاسبه شد. در ادامه با استفاده از آزمون آماری Chi-Square (χ^2) تفاوت توزیع ژنوتیپی را بین جمعیت‌های بیمار و کنترل تعیین گردید. معنی‌داری آزمون به شرط $P\text{-value} \leq 0.05$ برقرار است.

یافته‌ها:

نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR): کیفیت محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اختصاصی الل (AS-PCR = Allele Specific PCR) با کمک ژل آگارز و با استفاده از عکس-برداری از ژل‌ها بررسی گردید (شکل ۱). محصولات حاصل از PCR را به همراه مارکر با وزن مولکولی ۱۰۰ جفت باز بر روی ژل آگارز ۲٪ قرار داده شد.

بررسی ژنوتیپی و آلی پلی مورفیسم ژن KISS1R و نتایج آنالیز آماری آن:

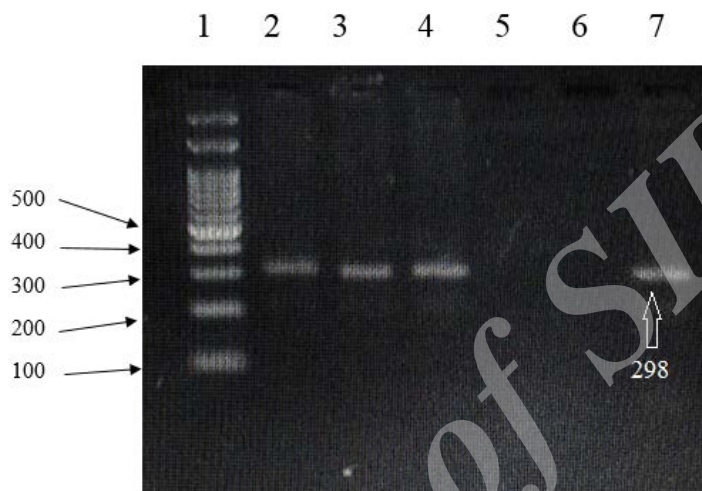
در این پژوهش ۸۰ زن مورد بررسی شامل ۴۰ زن مبتلا به ناباروری به عنوان گروه بیمار و ۴۰ نفر زن سالم از نظر باروری در بازه‌ی سنی ۲۰ تا ۳۵ به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. در زنان گروه بیمار ۱۳ نفر (۳۲/۵٪) ژنوتیپ هموزیگوت T/T،

سال سن داشتند. نمونه گیری از مهر ۹۳ الی فروردین ۹۴ از مراجعه کنندگان به مرکز درمانی الزهرای رشت و آزمایشگاه تشخیص طبی مهر انجام شد. افراد کنترل سالم دست کم یک دوره بارداری طبیعی بدون مصرف دارو و بدون بهره گیری از روش های کمک باروری گذرانده بودند. لازم به ذکر است که در این مطالعه از تمام شرکت کنندگان رضایت نامه کتبی بر اساس توافقنامه اخلاقی هلسینکی فنلاند دریافت گردید. در مرحله‌ی بعد، از تمام افراد مورد مطالعه به مقدار ۲ میلی لیتر خون گرفته شد و به منظور جلوگیری از لخته شدن، درون لوله های آغشته به EDTA ذخیره شد و سپس این لوله ها را به فریزر 20°C - انتقال داده تا در مرحله‌ی بعد برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گیرد.

استخراج DNA ژنومی از خون: جهت استخراج DNA از نمونه-های خون تهیه شده، از کیت استخراج Gpp Solution محصول شرکت ژن پژوهان استفاده و براساس دستورالعمل این کیت عمل شد. با استفاده از روش الکتروفورز افقی کیفیت DNA استخراج شده، بررسی شد. نمونه های DNA استخراج شده درون چاهک های ژل آگارز ۱٪ قرار گرفت و سپس عکس برداری از ژل، توسط دستگاه Gel Doc و با استفاده از نور UV صورت گرفت. پس از ارزیابی کیفیت، DNA به فریزر 70°C - درجه سانتی‌گراد منتقل شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR): در این واکنش از دستگاه ترموسایکلر ۴۸ چاهکی شرکت بیورد (BioRad) استفاده شد. مواد مصرف شده در واکنش PCR، غلظت و مقدار هر ماده عبارتند از: ۶ ماکرولیتر (1X) Master، ۲ مایکرولیتر Template DNA، ۰/۵ مایکرولیتر آغازگر Forward (10Pmol)، ۰/۵ مایکرولیتر آغازگر Reverse (10Pmol) و ۳/۵ مایکرولیتر آب مقطر استریل که مجموعه‌ی آنها ۱۲/۵ مایکرولیتر می‌شود. برای تهیه محلول PCR مایکروتیوپ‌های ۰/۲ میلی‌لیتری استفاده گردید و مواد ذکر شده به درون میکروتیوپ ریخته شد، سپس به کمک پیپتینگ به‌خوبی مواد مخلوط شد. برای تکثیر قطعه‌ی ژنی مورد نظر از آغازگرها استفاده گردید. برای تکثیر قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی مربوط به آلل سالم توالی آغازگر Forward مربوطه CAGGAGGGGCGGTGCGAGGGG و آغازگر Reverse آن GGGTTCAGCGGGAGTTGCTGGA بود. همچنین برای تکثیر قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی مربوط به آلل جهش یافته توالی آغازگر Forward مربوطه CAGGAGGGGCGGTGCGAGGGG و آغازگر Reverse آن GGGTTCAGCGGGAGTTGCTGGG بود. آغازگرهای مورد استفاده در این پژوهش محصول شرکت Tag Copenhagen هستند. برای تکثیر قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی مربوط به آلل سالم در دستگاه ترموسایکلر از مراحل مختلفی استفاده شد که عبارتند

می‌دهد که ۴۶ عدد (۵۷/۵٪) آلل T و ۳۴ عدد (۴۲/۵٪) آلل C در جمعیت بیمار و ۶۲ عدد (۷۷/۵٪) آلل T و ۱۸ عدد (۲۲/۵٪) آلل C در جمعیت کنترل وجود دارد. طی تحلیل آماری صورت گرفته در فراوانی آللی پلی مورفیسم مربوطه با کمک آزمون Chi-Square مقدار $P = ۰/۰۱۱۳$ و $\chi^2 = ۶/۴۱$ ، $Odds-Ratio = ۳/۷۸$ و $95\%-CI$ به دست آمد، در نتیجه تفاوت فراوانی آللی هم مانند تفاوت فراوانی ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل معنی دار گزارش شد (جدول ۲).

۲۰ نفر (۵۰٪) ژنوتیپ هتروزایگوت T/C و ۷ نفر (۱۷/۵٪) ژنوتیپ هموزایگوت C/C داشتند. در حالیکه در گروه زنان سالم ۲۲ نفر (۵۵٪) ژنوتیپ هموزایگوت T/T، ۱۸ نفر (۴۵٪) ژنوتیپ هتروزایگوت T/C و ۰ نفر (۰٪) ژنوتیپ هموزایگوت C/C داشتند. با کمک آزمون Chi-Square تفاوت فراوانی ژنوتیپی بین این دو گروه معنادار بود ($P=۰/۰۳$). بنابراین ارتباط بین پلی مورفیسم rs58777844 ژن KISS1R و ناباروری در جمعیتی از زنان استان گیلان معنی دار است (جدول ۱). بررسی فراوانی آللی افراد نشان



شکل ۱: تصویر ژل آگارز ۲٪ از قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی. در چاهک ۱ مارکر وزنی، در چاهک‌های ۲ و ۳ نمونه‌ی استفاده شده هتروزایگوت (T/C) بوده و با هر دو پرایمر باند ایجاد شده است. در چاهک‌های ۴ و ۵ نمونه‌ی استفاده شده هموزایگوت غالب (T/T) بوده و فقط با پرایمر وحشی باند داده است. در چاهک‌های ۶ و ۷ نمونه‌ی استفاده شده هموزایگوت مغلوب (C/C) بوده و فقط با پرایمر جهش یافته باند داده است.

جدول ۱: تعداد و درصد ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم در زنان نابارور و سالم

ژن	ژنوتیپ	درصد (تعداد) گروه بیمار (n=۴۰)	درصد (تعداد) گروه شاهد (n=۴۰)	P-Value	Odds-Ratio (%95-CI)
KISS1R Tyr313His	T/T	(۱۳) ۳۲/۵	(۲۲) ۵۵	$\chi^2 = ۹/۴۲$	(Ref) ۱,۰۰
	T/C	(۲۰) ۵۰	(۱۸) ۴۵	۰/۱	۴/۰۶ (۰/۷۳-۴/۷۹)
	C/C	(۷) ۱۷/۵	(۰) ۰/۰	۰/۰۳	۴۷۲/۱۴ (۱/۳۲-۴۷۳/۴۶)

جدول ۲: فراوانی آللی افراد سالم و بیمار و نتایج آنالیز

پلی مورفیسم	آلل	درصد (تعداد) گروه بیمار	درصد (تعداد) گروه شاهد	P-Value	Odds-Ratio (%95-CI)
Tyr313His KISS1R	T	(۴۶) ۵۷/۵	(۶۲) ۷۷/۵	۰/۰۱۱۳	(Ref) ۱,۰۰
	C	(۳۴) ۴۲/۵	(۱۸) ۲۲/۵	$\chi^2 = ۶/۴۱$	۳/۷۸ (۱/۲۸-۵/۰۶)

بحث:

با توجه به اینکه ناباروری یک بیماری چند عاملی است تعیین نقش سایر عوامل ژنتیکی و محیطی و تاثیر آنها بر یکدیگر نیازمند مطالعه در جمعیت ها و نژادهای مختلف است. میانکشی سایر ژن-ها در مسیر بلوغ و تولیدمثل ممکن است اثر این پلی مورفیسم KISS1R را تغییر دهد. هم چنین شناخت مکانیسم دقیق تاثیر تنوع ژنتیکی در ژن KISS1R بر پیشرفت ناباروری می تواند به نتیجه-گیری دقیق کمک کند. در مجموع ناباروری یک سندرم چند عاملی است که عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی مختلف از جمله عوامل اپی ژنتیکی در پیدایش آن نقش دارند [۱۹]. ناباروری، با طیف وسیعی از مشکلات اجتماعی، روانی، جسمی و اقتصادی مرتبط است [۲۰].

در این پژوهش بر اساس نتایج به دست آمده، تفاوت معنی داری ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده شد. توزیع آلل مربوطه بین افراد سالم و بیمار متفاوت بود و حضور آلل C با توجه به میزان نسبت شانس (OR) برابر ۳/۷۸ می تواند به عنوان یک فاکتور خطر در ابتلای زنان استان گیلان به ناباروری همراهی کند.

با توجه به بررسی های صورت گرفته پیشنهاد ما این است که با رخ دادن جهش ذکر شده و تاخوردن نامناسب پروتئین KISS1R، فعالیت این گیرنده به درستی انجام نمی گیرد و روی مسیر باروری زنان تاثیر منفی می گذارد. تاکنون به صورت گسترده مطالعه ای در رابطه با تاثیر پلی مورفیسم rs58777844 ژن KISS1R با ناباروری زنان صورت نگرفته بود؛ تنها یک مطالعه در سال ۲۰۱۳ که توسط Brioude و همکارانش روی یک خانواده مبتلا به هیپوگنادیسم هایپوگنادوتروپیک مادرزادی نورموسمیک انجام گرفت، منجر به کشف این SNP شد [۲۱].

امروزه ارتباط بین پلی مورفیسم های ژنتیکی و استعداد ابتلا به برخی بیماری ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. KISS1R و لیگاندش KISS1 در تنظیم مستقیم محور HPG و تولید مثل نقش دارند. در انسان، موارد تأخیر در بلوغ و هم چنین هایپوگنادوتروپیک هیپوگنادیسم به عدم وجود پروتئین KISS1R و یا حضور پروتئین غیرفعال مرتبط است [۲۲].

جهش های مختلفی در مطالعاتی که روی ژن KISS1R انجام شد، دیده شده است که از این جهش ها می توان به L148S [۱۸]، C223R [۲۳]، R297L [۱۸]، L102P [۱۸]، E232Q [۲۴]، R331X به همراه X339R [۱۸] و حذف GCA در جایگاه ۲- تا

۴- همراه درج ACCGGCT [۲۴] اشاره کرد که موجب ایجاد فنوتیپ هیپوگنادیسم هایپوگنادوتروپیک مادرزادی می شود. هم-چنین پلی مورفیسم های P196H [۲۵]، R386P [۱۸] و P110T [۲۶] باعث بروز پیش افتادگی سن بلوغ می شود.

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج به دست آمده می توان پلی مورفیسم rs58777844 ژن KISS1R را به عنوان فاکتور خطری در رابطه با ناباروری زنان در جمعیت مورد مطالعه در نظر گرفت. این پلی-مورفیسم واقع در جایگاه ۱۰۹۸ ژن و کدون ۳۱۳ پروتئین KISS1R می باشد. در این جایگاه جهش دگر معنا رخ می دهد و موجب تغییر باز T به C و در نتیجه تبدیل کدون TAC به کدون CAC می شود. در راستای این تغییرات اسید آمینه ی با زنجیره جانبی قطبی تایروزین (Y) به اسید آمینه با بار مثبت هیستیدین (H) تبدیل می شود. جایگاه این اسید آمینه در اگزون ۵ و در ابتدای هفتمین بخش گذرنده از غشا می باشد و بسیار هم حفاظت شده است. با توجه به جایگاه حفاظت شده ی اسید آمینه ی ۳۱۳ام و نقش مهم این پروتئین در مسیر تولید مثل، تاثیر این پلی مورفیسم بیماری زا در جمعیتی از زنان نابارور استان گیلان تأیید گردید. با توجه به اینکه ناباروری یک بیماری چند عاملی است، شاید بتوان نقش ترکیب ژنی را در ارتباط با پلی مورفیسم و استعداد ابتلای افراد با ناباروری موثر دانست؛ اما ممکن است نتیجه ی به دست آمده با تغییر خزانه ی ژنتیکی یا تغییر معنی دار اندازه ی جمعیت تغییر کند. اثر فنوتیپی پلی مورفیسم های ژنی همیشه تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی میباشد و میانکشی سایر ژنها در مسیر بلوغ و تولیدمثل ممکن است اثر پلی مورفیسم های ژن KISS1R را تغییر دهد.

تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می دارند که هیچ گونه تعارض منافی ندارند.

تشکر و قدردانی:

نویسندگان از شرکت کنندگان در این تحقیق نهایت تشکر و سپاسگزاری را داشته و از همکاری بخش ناباروری بیمارستان الزهرا و آزمایشگاه تشخیص طبی مهر رشت قدردانی می کند. معاونت پژوهشی دانشگاه گیلان حامی مالی این تحقیق بوده است.

References:

- Warren BD, Kinsey WK, McGinnis LK, et al. Ovarian autoimmune disease: clinical concepts and animal models. *Cell Mol Immunol* 2014;11(6):510-21.
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, de Mouzon J, et al. The international committee for monitoring assisted reproductive technology (ICMART) and the world health organization (WHO) revised glossary on ART terminology, 2009. *Hum Reprod* 2009 ;24(11): 2683-2687.
- Hull M, Glazener C ,3. Kelly N, Conway D, Foster P, et al. Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1985;291(6510):1693-7.
- Tinneberg H-R, Gasbarrini A. Infertility today: the management of female medical causes. *Int J Gynecol Obstet* 2013;123(2):25-30.
- Luciano AA, Lanzone A, Goverde AJ. Management of female infertility from hormonal causes. *Int J Gynecol Obstet* 2013;123(2):9-17.
- Abrao MS, Muzii L, Marana R. Anatomical causes of female infertility and their management. *Int J Gynecol Obstet* 2013;123(2):18-24.
- Weiss RV, Clapauch R. Female infertility of endocrine origin. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2014;58(2):144-52.
- Crujeiras AB, Casanueva FF. Obesity and the reproductive system disorders: epigenetics as a potential bridge. *Hum Reprod Update* 2015;21(2):249-61.
- Hameed S, Jayasena CN, Dhillon WS. Kisspeptin and fertility. *J Endocrinol* 2011;208(2):97-105.
- Seminara S, Crowley Jr W. Kisspeptin and GPR54: discovery of a novel pathway in reproduction. *J neuroendocrinol* 2008;20(6):727-31.
- Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update* 2014;20(4):485-500.
- Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, et al. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 2012;92(3):1235-1316.
- Kotani M, Dethoux M, Vandenberg A, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem* 2001;276(37):34631-6.
- Cvetković D, Babwah AV, Bhattacharya M. Kisspeptin/KISS1R system in breast cancer. *J Cancer* 2013;4(8):653.
- Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996;88(23):1731-7.
- Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, et al. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *J Biol Chem* 2001;276(31):28969-75.
- Reynolds RM, Logie JJ, Roseweir AK, et al. A role for kisspeptins in pregnancy: facts and speculations. *Reproduction* 2009;138(1):1-7.
- Roseweir A, Millar R. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum Reprod Update* 2009;15(2):203-12.
- Simpson JL. Genetic and Nongenetic Causes of Pregnancy Loss. *Women*. 2013;3(30):4.19
- Greil AL, Slauson-Blevins K, McQuillan J. The experience of infertility: a review of recent literature. *Social Health Illn*. 2010;32(1):140-62.
- Brioude F, Bouligand J, Francou B, et al. Two families with normosmic congenital hypogonadotropic hypogonadism and biallelic mutations in KISS1R (KISS1 receptor): clinical evaluation and molecular characterization of a novel mutation. *PLoS One* 2013;8(1): 53896.
- Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003;349(17):1614-27.
- Semple R, Achermann J, Ellery J, et al. Two novel missense mutations in g protein-coupled receptor 54 in a patient with hypogonadotropic hypogonadism. *J ClinEndocrinol Metab* 2005;90(3):1849-55.
- Pankov YA. Kisspeptin and leptin in the regulation of fertility. *Mol Biol* 2015;49(5):631-7.
- Teles MG, Trarbach EB, Noel SD, et al. A novel homozygous splice acceptor site mutation of KISS1R in two siblings with normosmic isolated hypogonadotropic hypogonadism. *Eur J Endocrinol* 2010;163(1):29-34.
- Luan X, Zhou Y, Wang W, et al. Association study of the polymorphisms in the KISS1 gene with central precocious puberty in Chinese girls. *Eur J Endocrinol* 2007;157(1):113-8.

The relationship between rs58777844 KISS1R gene polymorphism and infertility in women from Guilan province

Zakieh Siahpoosh¹, Hamidreza Vaziri*¹, Hossein Roohi²

Received: 2017/22/04 Revised: 2017/2/07 Accepted: 2017/4/07

1. Dept of Biology, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran
2. Dept of Chemistry, Faculty of Science, University of Guilan, Rasht, Iran

Pars Journal of Medical Sciences, Vol.15, No.1, Spring 2017

Pars J Med Sci 2017;15(1):16-22

Abstract:

Introduction:

KISS1R gene is responsible for wide ranges of diseases including cancer and infertility. Mutations in the KISS1R gene are one of the most important potential causes of infertility. KISS1R has an important role in regulating the hypothalamic-pituitary-gonadal axis that regulates reproduction and maturation in vertebrates. This study aimed to evaluate the relationship between rs58777844 KISS1R gene polymorphism and female infertility in Guilan Province.

Materials & Methods:

Blood samples were obtained from 40 infertile women as cases and 40 healthy women as controls. Genomic DNA was extracted from peripheral blood leukocytes and allele specific PCR (AS-PCR) method was used for determining codon variations. Data were analyzed in Medcalc software (v 13.0).

Results:

Results showed a significant relationship in distribution of genotypes ($P=0.03$) and allele frequencies between the two groups ($p=0.0113$).

Conclusion:

Results showed a significant relationship in distribution of genotypes ($P=0.03$) and allele frequencies between the two groups ($p=0.0113$).

Keywords: Infertility, KISS1R Gene, Polymorphism, Women

* Corresponding author Email: vaziri@guilan.ac.ir