مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs587777844 در ژن KISS1R با ناباروری در جمعیتی از زنان استان گیلان

نویسندگان:

زکیه سیاهپوش[1]، حمیدرضا وزیری*[1]، حسین روحی[2]

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 پلی‌مورفیسم rs587777844 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 پلی‌مورفیسمی مورد نظر تحت واکنش زنجیره‌ای پلیمراز اختصاصی الل (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=۰/۰۳) و همچنین در توزیع آللی (P=۰/۰۱۱۳) بین افراد بیمار و کنترل بود.

نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان‌دهنده ارتباط پلی‌مورفیسم rs587777844 در ژن KISS1R به‌عنوان یک عامل خطر ناباروری در زنان موردبررسی است.

واژگان کلیدی: ناباروری، ژن KISS1R، پلی‌مورفیسم، زنان

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

مقدمه:

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 [۲،۱]. 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، ناباوری 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 هستند و یا اینکه علت ناباروری در آنها شناخته نشده و قابل توضیح نمی‌باشد [۲].

ناباروری شرایطی 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 ازجمله 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 غیراندوکرینی

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

تلفن تماس: ۰۹۱۱۲۴۴۶۲۸۱ پست الکترونیک: vaziri@guilan.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۲۷ اصلاح: ۱۳۹۶/۲/۲۳ پذیرش: ۱۳۹۶/۳/۱۶

مانند کبد و کلیه نیز می‌تواند باشد. این اندام‌های غیراندوکرینی در آزادسازی و سوخت و ساز هورمون‌های تولیدمثلی درگیر می‌شوند و در نهایت باعث اختلال در بلوغ تخمک و تخمک‌گذاری خواهند شد [۵]. هم‌چنین لازم به ذکر است از دلایل اصلی مشکلات آناتومیکی در ناباروری زنان می‌توان به آسیب لوله‌های 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 می‌تواند به نوعی تحت‌تاثیر عوامل ژنتیکی باشد. امروزه مطالعات بر روی ژن‌های خاص در انسان و مدل‌های آزمایشگاهی تا حدودی تاثیر عوامل ژنتیکی بر ناباروری را آشکار ساخته اند [۸،۷]. کشف KISSPEPTIN و گیرنده‌ی آن در سال ۱۹۹۶ دریچه‌ی جدیدی را در مورد فیزیولوژی مسیر هیپوتالاموس- هیپوفیز- غدد جنسی به روی محققان گشود. سیستم KISSPEPTIN در میان مهره‌داران به جز پرندگان، کاملا حفظ شده است. تا به امروز مطالعات بسیاری روی نقش‌های KISSPEPTIN صورت گرفته است و اکثر قریب به اتفاق آنها KISSPEPTIN را در مسیر هیپوتالاموس- هیپوفیز- غددجنسی مسئول می‌دانند. فقدان ژن KISS1 و یا گیرنده‌اش باعث به تاخیر افتادن بلوغ و همچنین هایپوگنادوتروفیک هایپوگنادیسم می‌شود و حضور پپتیدهای ژن KISS1 باعث القای رها شدن هورمون جسم زرد یا LH (Luteinizing Hormone) می‌شود و در باروری موثر است [۹].

پیام‌های KISSPEPTIN مستقیماً روی نورون‌های GnRH (Gonadotropin Releasing Hormone) تاثیر می‌گذارند و در نتیجه‌ی مسیر باعث ترشح LH و هورمون محرک فولیکول یا FSH (Follicle Stimulating Hormone) از گنادها می‌شوند. KISSPEPTIN یک محرک قوی برای آزاد سازی گنادوتروپین است و به عنوان رابط بین هورمون‌های استروئیدی و ترشح GnRH عمل می‌کند. KISSPEPTIN در انسان آزادشدن گنادوتروپین را تحریک می‌کند و همچنین باعث تحریک ترشح GnRH در هیپوتالاموس می‌شود. البته KISSPEPTIN و گیرنده‌اش(KISS1R) نقش‌های 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 اگزون‌های ۳ و ۴ رونویسی می‌شود. مجموعه پپتیدهای حاصل از این ژن KISSPEPTIN نام دارند و متعلق به خانواده‌ی بزرگی از پپتیدها به نام RFamide هستند و همگی موتیف عمومی Arg_Phe_NH2 یا R-F-NH2 را در انتهای آمینی خود دارند. از روی mRNA یک Preprokisspeptin با طول ۱۴۵ اسیدآمینه ایجاد می‌شود که در اثر برش پروتئولیتیکی و فرآیندهای شیمیایی دیگر، Kp54 (KISSPEPTIN)، Kp14، Kp13 و Kp10 تولید می‌شود [۱۲] که البته پتانسیل آنها برای فعال‌سازی گیرنده‌ی مربوطه اندکی تفاوت دارد و این مساله به دلیل تفاوت در طول اسیدآمینه‌های مربوط به انتهای آمینی می‌باشد [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. همان‌طور که ذکر شد این گیرنده در موش صحرایی (رت) به GPR54 نام‌گذاری شد و همولوگ‌های انسانی آن AXOR12 یا hOT7T175 نام گرفت اما برای سهولت در استفاده این گیرنده را KISS1R (kisspeptin receptor) و یا به عبارتی گیرنده‌ی KISSPEPTIN می‌نامیم [۱۷،۱۶،۱۵].

ژن این گیرنده در بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹، ناحیه‌ی ۱، نوار ۳ و زیرنوار ۳ (19p13.3) قرار دارد و حاوی پنج اگزون و چهار اینترون است که اگزون پنجم آن از همه طولانی‌تر است و بیشترین جهش‌ها هم در آن رخ می‌دهد (۱۱, ۱۸). پروتئین تولید شده از این ژن ۳۹۸ اسیدآمینه دارد و حاوی هفت بخش آب‌گریز گذرنده از غشا در ساختار خود می‌باشد و همچنین عضوی از خانواده‌ی بزرگ رودوپسین‌ها هم به شمار می‌آید [۱۸،۱۱].

عوامل ژنتیکی نقش مهمی در بیماری‌های مختلف از جمله ناباروری دارند؛ یکی از این عوامل جهش در ژن KISS1R است. هدف از این پژوهش بررسی تاثیر پلی‌مورفیسم rs587777844 روی ناباروری می‌باشد. این پلی‌مورفیسم واقع در جایگاه ۱۰۹۸ ژن و کدون ۳۱۳ پروتئین KISS1R می‌باشد. در این جایگاه جهش دگرمعنا (Missense) رخ می‌دهد و موجب تغییر باز T به C و در نتیجه تبدیل کدون TAC به کدون CAC می‌شود. در راستای این تغییرات اسیدآمینه‌ی تایروزین (Y) به هیستیدین (H) تبدیل می‌شود. جایگاه این اسیدآمینه در اگزون ۵ و در ابتدای هفتمین بخش گذرنده از غشا می‌باشد و بسیار هم حفاظت شده است. با توجه به جایگاه حفاظت شده‌ی اسیدآمینه‌ی ۳۱۳ام و نقش مهم این پروتئین در مسیر تولیدمثلی، تاثیر این پلی‌مورفیسم در ناباروری زنان استان گیلان بررسی می‌شود.

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

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 ۲۰C°- 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 عکس‌برداری از ژل، توسط دستگاه Gel Doc و با استفاده از نور UV صورت گرفت. پس از ارزیابی کیفیت، DNA به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): در این واکنش از دستگاه ترموسایکلر ۴۸چاهکی شرکت بیورد (BioRad) استفاده شد. مواد مصرف شده در واکنش PCR، غلظت و مقدار هر ماده عبارتند از: ۶ ماکرولیتر Master (1X)، 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 PCRاز میکروتیوپ‌های 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 GGGTTCAGCGCGGAGTTGCTGGA بود. هم‌چنین برای تکثیر قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی مربوط به آلل جهش یافته توالی آغازگر Forward مربوطه CAGGAGGGGCGGTGCGAGGGG و آغازگر Reverse آن GGGTTCAGCGCGGAGTTGCTGGG 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 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 پلیمراز ۳۵ بار هرکدام 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 به‌دست آمده از نرم افزار MedClac نسخه‌ی 13.0 استفاده شد. فراوانی آللی و ژنوتیپی در هر دو گروه بیمار و سالم محاسبه شد. در ادامه با استفاده از آزمون آماری Chi-Square ($\chi 2$) تفاوت توزیع ژنوتیپی را بین جمعیت‌های بیمار و کنترل تعیین گردید. معنی‌داری آزمون به شرط P-value ≤ ۰/۰۵ برقرار است.

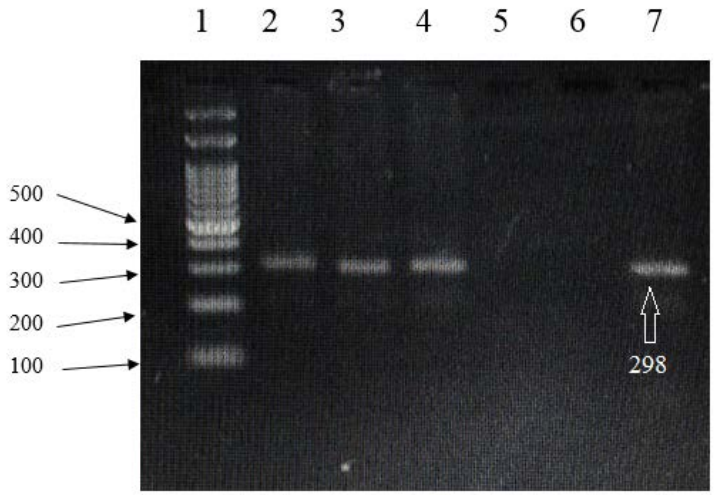
یافته‌ها:

نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR): کیفیت محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز 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 آللی پلی‌مورفیسم 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،

۲۰ نفر (۵۰ ٪) ژنوتیپ هتروزیگوت T/C و ۷ نفر (۱۷/۵ ٪) ژنوتیپ هموزیگوت C/C داشتند. در حالیکه در گروه زنان سالم ۲۲ نفر (۵۵ ٪) ژنوتیپ هموزیگوت T/T، ۱۸ نفر (۴۵ ٪) ژنوتیپ هتروزیگوت T/C و ۰ نفر (۰ ٪) ژنوتیپ هموزیگوت 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 rs587777844 ژن KISS1R و ناباروری در جمعیتی از زنان استان گیلان معنی‌دار است (جدول ۱). بررسی فراوانی آللی افراد نشان 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 پلی‌مورفیسم مربوطه با کمک آزمون Chi-Square، مقدار P = ۰/۰۱۱۳ ، χ^2 = ۶/۴۱ و Odds-Ratio = ۳/۷۸ (%95-CI) به‌دست آمد، در نتیجه تفاوت فراوانی آللی هم مانند تفاوت فراوانی ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل معنی دار گزارش شد (جدول ۲).



شکل۱: تصویر ژل آگارز ۲ ٪ از قطعه‌ی ۲۹۸ جفت بازی. در چاهک ۱ مارکر وزنی، در چاهک‌های ۲ و ۳ نمونه‌ی استفاده شده هتروزیگوت (T/C) بوده و با هر دو پرایمر باند ایجاد شده است. در چاهک‌های ۴ و ۵ نمونه‌ی استفاده شده هموزیگوت غالب (T/T) بوده و فقط با پرایمر وحشی باند داده است. در چاهک‌های ۶ و ۷ نمونه‌ی استفاده شده هموزیگوت مغلوب (C/C) بوده و فقط با پرایمر جهش‌یافته باند داده است.

جدول ۱: تعداد و درصد ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم 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	χ^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

پلی‌مورفیسم	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 χ^2=۶/۴۱	(Ref) ۱,۰۰
	C	(۳۴) ۴۲/۵	(۱۸) ۲۲/۵		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. میانکش سایر ژن-ها در مسیر بلوغ و تولیدمثل ممکن است اثر این پلی‌مورفیسم KISS1R را تغییر دهد. هم‌چنین شناخت مکانیسم دقیق تاثیر تنوع ژنتیکی در ژن KISS1R بر پیشرفت ناباروری می‌تواند به نتیجه-گیری دقیق کمک کند. در مجموع ناباروری یک سندرم چند عاملی است که عوامل ژنتیکی و غیرژنتیکی مختلف از جمله عوامل اپی‌ژنتیکی 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 به‌دست آمده، تفاوت معنی‌داری 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 می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر در ابتلای زنان استان گیلان به ناباروری همراهی کند.

با توجه به بررسی‌های صورت گرفته پیشنهاد ما این است که با رخ‌دادن جهش ذکر شده و تاخوردن نامناسب پروتئین KISS1R، فعالیت این گیرنده به درستی انجام نمی‌گیرد و روی مسیر باروری زنان تاثیر منفی می‌گذارد. تاکنون به صورت گسترده مطالعه‌ای در رابطه با تاثیر پلی‌مورفیسم rs587777844 ژن KISS1R با ناباروری زنان صورت نگرفته بود؛ تنها یک مطالعه در سال ۲۰۱۳ که توسط Brioude و همکارانش روی یک خانواده‌ی مبتلا به هیپوگنادیسم هایپوگونادوتروپیک مادرزادی نورموسمیک انجام گرفت، منجر به کشف این SNP شد [۲۱].

امروزه ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی و استعداد ابتلا به برخی بیماری‌ها 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 هم‌چنین هایپوگنادوتروپیک هیپو گنادیسم به عدم وجود پروتئین KISS1R و یا حضور پروتئین غیرفعال مرتبط است [۲۲].

جهش‌های مختلفی در مطالعاتی که روی ژن KISS1R انجام شد، دیده شده است که از این جهش‌ها می‌توان 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 هایپوگونادوتروپیک مادرزادی می‌شود. هم-چنین پلی‌مورفیسم‌های P196H [۲۵]، R386P [۱۸] و P110T [۲۶] باعث بروز پیش‌افتادگی سن بلوغ می‌شود.

نتیجه گیری:

با توجه به نتایج به دست آمده می توان پلی‌مورفیسم rs587777844 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 می‌باشد. در این جایگاه جهش دگرمعنا رخ می‌دهد و موجب تغییر باز T به C و در نتیجه تبدیل کدون TAC به کدون CAC می‌شود. در راستای این تغییرات اسیدآمینه‌ی با زنجیره جانبی قطبی تایروزین (Y) به اسید آمینه با بار مثبت هیستیدین (H) تبدیل می‌شود. جایگاه این اسیدآمینه در اگزون ۵ و در ابتدای هفتمین بخش گذرنده از غشا می‌باشد و بسیار هم حفاظت شده است. با توجه به جایگاه حفاظت شده‌ی اسیدآمینه‌ی ۳۱۳ام و نقش مهم این پروتئین در مسیر تولیدمثلی، تاثیر این پلی‌مورفیسم بیماری‌زا در جمعیتی از زنان نابارور استان گیلان تائید گردید. با توجه به اینکه ناباروری یک بیماری چندعاملی است، شاید بتوان نقش ترکیب ژنی را در ارتباط با پلی‌مورفیسم و استعداد ابتلای افراد با ناباروری موثر دانست؛ اما ممکن است نتیجه‌ی به‌دست آمده با تغییر خزانه‌ی ژنتیکی یا تغییر معنی دار اندازه‌ی جمعیت تغییر کند. اثر فنوتیپی پلی مورفیسمهای ژنی همیشه تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی میباشد و میانکنش سایر ژنها در مسیر بلوغ و تولیدمثل ممکن است اثر پلی مورفیسمهای ژن KISS1R را تغییر دهد.

تعارض منافع:

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی 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:

1. Warren BD, Kinsey WK, McGinnis LK, et al. Ovarian autoimmune disease: clinical concepts and animal models. Cell Mol Immunol 2014;11(6):510-21.
2. 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.
3. 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.
4. Tinneberg H-R, Gasbarrini A. Infertility today: the management of female medical causes. Int J Gynecol Obstet 2013;123(2):25-30.
5. Luciano AA, Lanzone A, Goverde AJ. Management of female infertility from hormonal causes. Int J Gynecol Obstet 2013;123(2):9-17.
6. Abrao MS, Muzii L, Marana R. Anatomical causes of female infertility and their management. Int J Gynecol Obstet 2013;123(2):18-24.
7. Weiss RV, Clapauch R. Female infertility of endocrine origin. Arq Bras Endocrinol Metabol 2014;58(2):144-52.
8. Crujeiras AB, Casanueva FF. Obesity and the reproductive system disorders: epigenetics as a potential bridge. Hum Reprod Update 2015;21(2):249-61.
9. Hameed S, Jayasena CN, Dhillo WS. Kisspeptin and fertility. J Endocrinol 2011;208(2):97-105.
10. Seminara S, Crowley Jr W. Kisspeptin and GPR54: discovery of a novel pathway in reproduction. J neuroendocrinl 2008;20(6):727-31.
11. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. Hum Reprod Update 2014;20(4):485-500.
12. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, et al. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. Physiol Rev 2012;92(3):1235-1316.
13. Kotani M, Detheux M, Vandenbogaerde 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.
14. Cvetković D, Babwah AV, Bhattacharya M. Kisspeptin/KISS1R system in breast cancer. J Cancer 2013;4(8):653.
15. Lee J-H, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. J J Natl Cancer Inst 1996;88(23):1731-7.
16. 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.
17. Reynolds RM, Logie JJ, Roseweir AK, et al. A role for kisspeptins in pregnancy: facts and speculations. Reproduction 2009;138(1):1-7.
18.Roseweir A, Millar R. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. HumReprod Update 2009;15(2):203-12.
19. Simpson JL. Genetic and Nongenetic Causes of Pregnancy Loss. Women. 2013;3(30):4.19
20. Greil AL, Slauson-Blevins K, McQuillan J. The experience of infertility: a review of recent literature. Sociol Health Illn. 2010;32(1):140-62.
21. 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.
22. 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.
23. 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.
24. Pankov YA. Kisspeptin and leptin in the regulation of fertility. Mol Biol 2015;49(5):631-7.
25. 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.
26. 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.

Original Article

The relationship between rs587777844 KISS1R gene polymorphism and infertility in women from Guilan province

Zakieh Siahpoosh[1], Hamidreza Vaziri*[1], Hossein Roohi[2]

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 rs587777844 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