

مطالعه همراهی بین پلی مورفیسم rs16260 از ژن CDH1 با سقط مکرر در زنان

مهسا یوسفیان^۱، سید عبدالحمید انگجی^۲، الهام سیاسی^۱، سید علی رحمانی^۳، شمسعی عباسعلی زاده خیابان^۴

^۱گروه ژنتیک، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران، ^۲گروه علوم سلولی و مولکولی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران، ^۳گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران، ^۴مرکز تحقیقات سلامت باروری زنان، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

تاریخ وصول: ۱۴۰۰/۱۱/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۴/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: سقط مکرر به عنوان از دست رفتن حداقل ۲ بارداری زیر ۲۰ هفته بارداری تعریف می‌گردد. باید توجه داشت در کنار عوامل شناخته شده دخیل در ایجاد آن، تقریباً در نیمی از موارد عامل ایجاد کننده آن به صورت ناشناخته باقی می‌ماند. در سال‌های اخیر برخی پژوهش‌ها حاکی از تأثیر احتمالی بعضی از پلی مورفیسم‌های ژن‌های کاندید در افزایش ریسک ابتلا به این بیماری می‌باشد. ژن CDH1 از جمله ژن‌های احتمالی دخیل در این عارضه است که در لانه‌گزینی رویان نقش بسزایی داشته و از این رو مورد توجه واقع شده است. لذا هدف از این مطالعه همراهی بین پلی مورفیسم rs16260 از ژن CDH1 با سقط مکرر در زنان بود.

روش بررسی: در این مطالعه مورد-شاهدی که مابین سال‌های ۱۳۹۹-۱۳۹۸ انجام شد، ۱۲۰ زن مبتلا به سقط مکرر بدون دلیل و ۱۲۰ زن بدون سابقه ناباروری و سقط و دارای حداقل یک فرزند سالم که به وسیله متخصص زنان و زایمان به یک آزمایشگاه ژنتیک پزشکی بخش خصوصی در تبریز ارجاع داده شده بودند، به عنوان گروه‌های بیمار و کنترل در مطالعه شرکت داده شدند. پلی مورفیسم مورد مطالعه با روش ARMS-PCR بررسی شد و نتایج حاصل با استفاده از آزمون مجذور کای تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: بر اساس مطالعه انجام یافته، فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AC و CC در گروه مورد به ترتیب: ۴ (۳/۳ درصد)، ۴ (۳۳/۳ درصد) و ۲۸ (۷۳/۴ درصد) و در گروه کنترل به ترتیب: ۸ (۶/۷ درصد)، ۳۰ (۳۰ درصد) و ۷۶ (۶۳/۳ درصد) نفر می‌باشند و از این رو $P = ۰/۲۰۱$ محاسبه می‌گردد.

نتیجه‌گیری: بر اساس آنالیزهای انجام یافته در مدل‌های additive و multiplicative، هیچ ارتباط معنی‌داری بین حضور این پلی مورفیسم و سقط مکرر وجود ندارد.

واژه‌های کلیدی: CDH1، پلی مورفیسم، سقط مکرر

*نویسنده مسئول: سید عبدالحمید انگجی، تهران، دانشگاه خوارزمی، گروه علوم سلولی و مولکولی

Email: Angaji@khu.ac.ir

مقدمه

سقط به عنوان از دست رفتن زود هنگام بارداری قبل از تکمیل هفته ۲۰ ام بارداری (۱۸ هفته پس از تخمک‌گذاری) تعریف می‌گردد، اما اگر سن بارداری ناشناخته باشد، سقط به عنوان از دست رفتن جنین/ رویان با وزن کمتر از ۴۰۰ گرم تعریف می‌شود. شایان ذکر است بارداری‌های خارج از رحمی، مولار و بیوشیمیایی جز این گروه نمی‌باشند (۱). گفته می‌شود ۱۵ درصد بارداری‌های شناخته شده در نهایت با سقط مواجه می‌گردند (۲). امروزه سقط مکرر به وسیله انجمن پزشکی باروری آمریکا و نیز انجمن اروپایی تولید مثل انسان و جنین‌شناسی به عنوان از دست رفتن حداقل ۲ بارداری تعریف می‌گردد (۳، ۴). که با این تعریف حدود ۱-۳ درصد زنان در سن باروری در جوامع مختلف با این مشکل مواجهند (۵). این بیماری هم‌چنین می‌تواند اختلالات روان‌شناختی و زوال زناشویی را متعاقب خویش به همراه آورده و از این نظر مشکلات متعددی را هم برای زوجین درگیر و هم کادر پزشکی به ایجاد کند. عوامل ایجاد کننده سقط مکرر عبارت‌اند از: آنوپلویدی در جنین، ناهنجاری‌های کروموزومی والدی، مشکلات اندوکروینی، عملکرد ناصحیح فاکتورهای ایمنولوژیکی، نقص‌های آناتومیکی اندام‌های تولید مثلی و الگوهای زندگی غیرسالم (۶). شایان ذکر است این عوامل دلایل ایجاد کننده نیمی از سقط‌های مکرر می‌باشند و در نیمی دیگر علت ایجاد کننده سقط مکرر نامعلوم است (۷). در دهه‌های گذشته

چندین مطالعه احتمال دخالت عوامل ژنتیکی در بروز چنین سقط‌هایی را عنوان کرده‌اند (۸-۱۰). بررسی‌های پیشین مربوط به غربالگری واریانت‌های ژنی و نیز پژوهش‌های مرتبط با ژن^(۱) راهکارهایی برای تعیین ژن‌های کاندید جهت آشکارسازی اتیلوژی ژنتیکی سقط مکرر و شناسایی مناطقی که به طور بالقوه احتمال این عارضه را افزایش می‌دهند، را مهیا نموده است (۸).^۱

CDH1 سازنده پروتئین کاده‌رین E بوده و از جمله ژن‌هایی است که به تازگی به وسیله تکنیک توالی‌یابی نسل جدید به عنوان یکی از ژن‌های احتمالی دخیل در سقط مکرر مطرح گشته است (۹). امروزه می‌دانیم کاده‌رین‌ها به طور کلی خانواده‌ای از گلیکوپروتئین‌های اتصال‌متکی به کلسیم^(۲) هستند که در اتصال سلول به سلول برای ابقا ساختار تمایز بافتی و نیز ریخت‌زایی نقش دارند. هم‌چنین این پروتئین‌ها در مسیرهای زیستی مختلف منجمله شکل‌گیری تومور، متاستاز و لانه‌گزینی رویان دخیلند (۱۰). کاده‌رین E یکی از اعضای این خانواده می‌باشد که در غشا و سیتوپلاسم سلول‌های تروفوبلاست فوق‌العاده^(۳) یافت می‌شود و در بارداری‌های منتهی به سقط، بیان آن در سلول‌های تروفوبلاست فوق‌العاده به شکل چشمگیری افزایش می‌یابد (۱۱). این پروتئین هم‌چنین نقشی حیاتی در پذیرش آندومتريال دارد، به طوری که برهمکنش

1-Gene-Association Studies
2-Calcium-Dependent Adhesion Glycoproteins
3-Extravillous Trophoblast Cells

خون وریدی گرفته و در لوله آزمایش حاوی ماده ضد انعقادی EDTA در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شد. تعداد نمونه مورد نیاز برای انجام آزمایشها از طریق فرمول $N = (Z1 - \alpha / 2)^2 p (1-p) / d^2$ به دست آمد (۱۵). طبق این فرمول ۹۶ نفر در هر گروه برای انجام مطالعه کافی بود. با این وجود جهت افزایش دقت مطالعه، ۱۲۰ نفر در هر گروه گنجانده شد. همچنین زوجین دارای سقط مکرر قبل از ورود به مطالعه از نظر کاریوتایپی بررسی شدند و زنانی که در خود آنها یا در همسر آنها هر گونه ناهنجاری کروموزومی رؤیت شده بود، از مطالعه خارج شدند.

DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج

(KBC blood DNA Extraction Kit, Cat, No. K1135, Tehran, Iran)

طبق دستورالعمل شرکت سازنده آن استخراج شد.

پس از طی مراحل استخراج، کیفیت و کمیت DNA

استخراج شده با دستگاه Nanodrop به روش

اسپکتوفوتومتری در طول موجهای 260/280 A سنجیده

شد تا از خلوص DNA استخراج شده اطمینان حاصل

شود. لازم به ذکر است در حالت مطلوب

اعداد به دست آمده در این طول موجها باید بین ۱/۸ تا

۲ باشد.

بررسی پلی مورفیسم های ژنتیکی rs16260 از

ژن CDH1 با روش ARMS-PCR (System Mutation Refractory

Amplification) انجام شد. پرایمرهای استفاده شده پس از

طراحی با سایت <https://bioinfo.biotech.or.th/WASP/>، در

قسمت primer blast سایت NCBI از نظر اختصاصیت

هموفیلیک بین سیتوتروفوبلاست و اندومتريوم را میانجیگری می کند (۱۲). همچنین در شکل گیری جفت نقش دارد، به طوری که بیان آن در بارداریهایی با سیر طبیعی و جفت استاندارد در سه ماهه اول تا سوم کاهش می یابد و این تغییرات در میزان بیان می تواند باعث تغییر سلول های سیتوتروفوبلاست به سین سیتوتروفوبلاست گردد (۱۳). rs16260 در نوکلئوتید ۱۶۰- و در بالادست ناحیه پروموتوری ژن CDH1 قرار گرفته است. به نظر می رسد حضور آلل A در این منطقه، قابلیت اتصال فاکتورهای رونویسی را تا ۶۸ درصد نسبت به آلل C کاهش می دهد و همین امر منجر به کاهش رونویسی از ژن و متعاقب آن کاهش بیان ژن مذکور می گردد (۱۴). لذا هدف از این مطالعه همراهی بین پلی مورفیسم rs16260 از ژن CDH1 با سقط مکرر در زنان بود.

روش بررسی

این یک مطالعه مورد-شاهدی می باشد که

پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی

واحد تبریز و گرفتن رضایت نامه آگاهانه از افراد

گروه های کنترل و بیماران مراجعه کننده به یک

آزمایشگاه ژنتیک پزشکی بخش خصوصی در شهر

تبریز در سال های ۱۳۹۹-۱۳۹۸ انجام شد. در این

پژوهش از ۱۲۰ زن بیمار آذری- ایرانی زیر ۴۵ سال

مبتلا به سقط مکرر بدون دلیل و ۱۲۰ زن

آذری- ایرانی زیر ۴۵ سال با حداقل ۱ فرزند سالم و

بدون سابقه ناباروری و سقط، به میزان ۵ سی سی

عنوان دمای اتصال، ۴۵ ثانیه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای تکثیر و در نهایت ۲ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به عنوان دمای تکثیر نهایی منظور شد. واکنش PCR برای هر فرد به طور جداگانه ۲ بار انجام گرفت؛ یک بار با پرایمرهای رفت مشترک و برگشت طبیعی به منظور تعیین حضور یا عدم حضور آلل طبیعی و بار دیگر با پرایمرهای رفت مشترک و برگشت جهش یافته به منظور تعیین حضور یا عدم حضور آلل جهش یافته. سپس محصولات PCR برای آنالیز به ژل آگارز ۲ درصد که با رنگ ژل بی ضرر رنگ آمیزی شده بود، انتقال یافت. از لدر 50bp نیز به عنوان معیار سنجش استفاده شد.

پس از مشخص کردن ژنوتیپ هر فرد از طریق ARMS-PCR، برای مقایسه فراوانی آللی و ژنوتیپی از آزمون کاسکوئر و فیشر با سطح معنی‌داری $p < 0.05$ استفاده شد. به منظور بررسی همراهی بین پلی‌مورفیسم‌ها و سندروم سقط مکرر نیز از Odds ratio با فاصله اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد. تمام تحلیل‌های آماری با بهره‌گیری از نرم‌افزار SPSS انجام شد تا وجود یا نبود رابطه بین این پلی‌مورفیسم و سقط مکرر مشخص شود.

بررسی شدند و پس از حصول اطمینان از اختصاصیت پرایمرها، سفارش انجام گرفت. توالی پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آورده شده است. به منظور افزایش اختصاصیت پرایمر یک mismatch اضافی در نوکلئوتید دوم سر ۳ پرایمرهای طبیعی و جهش یافته طراحی شد.

واکنش تکثیر در دستگاه ترمو سائیکل (Peqlab, Peq Star 96, Erlangen, Germany) با استفاده از دو تیوپ برای هر نمونه (یک تیوپ برای آلل وحشی و تیوپ دیگر برای آلل جهش یافته) با بهره‌گیری از روش ARMS-PCR انجام گرفت. هر تیوپ شامل یک جفت پرایمر (پرایمر وحشی/جهش یافته و پرایمر مشترک) از هریک به میزان ۱ میکرو لیتر، ۸ میکرو لیتر از 2XPCR BIO Taq Mix Red Master Mix (Cat#PB10.13-02, London, England) و ۲۵۰-۵۰ نانوگرم از DNA ژنومی و مابقی تا حجم ۲۰ میکرو لیتر آب دیونیزه بود. سپس به منظور انجام فرآیند تکثیر، برنامه PCR به صورت زیر طراحی شد:

۵ دقیقه دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای مرحله واسرشت اولیه و ۳۰ سیکل سه مرحله‌ای شامل ۴۵ ثانیه واسرشتی در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه دمای ۶۲ درجه سانتی‌گراد به

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده

نام ژن	پلی مورفیسم	توالی پرایمرها	طول قطعه
CDH1	rs16260	ACCTAGACCCTAGCAACTCC: رفت مشترک	۵۲
		GGCCTCGCATAGACGCAG: برگشت طبیعی	
		GGCCTCGCATAGACGCAT: برگشت جهش یافته	

یافته‌ها

Multiplicative برای بررسی انتخاب شد. هم‌چنین با توجه به این که مدل Additive از وابستگی به تعادل هاردی واینبرگ فارغ است، این مدل نیز مورد بررسی قرار گرفت که به نتایج هر دو مدل پرداخته شده است. ابتدا ارتباط بین پلی‌مورفیسم مذکور با بیماری تحت مدل Multiplicative مورد بررسی قرار گرفت که نتایج به دست آمده از این بررسی در جدول ۴ آمده است. بر این اساس هیچ ارتباط معنی‌داری اعم از محافظتی و یا مستعد کننده بین rs16260 و سقط مکرر مشاهده نشد (OR=۰/۶۸۳ و CL=۰/۳۹۹-۱/۰۲۰).

سپس احتمال داشتن ارتباط معنی‌دار بین این دو پلی‌مورفیسم و سقط مکرر تحت مدل Additive بررسی شد که نتایج آن نیز در جدول ۴ آمده است. ژنوتیپ CC در این پلی‌مورفیسم، ژنوتیپ طبیعی می‌باشد؛ پس به عنوان ژنوتیپ‌های الگو در نظر گرفته می‌شود. بر اساس مدل Additive نیز بین این پلی‌مورفیسم و سقط مکرر هیچ ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

در این مطالعه، ۱۲۰ زن مبتلا به سقط مکرر به عنوان گروه بیمار و ۱۲۰ زن سالم به عنوان گروه کنترل شرکت کردند. میانگین سنی شرکت‌کنندگان در گروه کنترل ۳۱/۹ و در گروه بیمار ۲۸/۹ سال بود. نتیجه بررسی خلوص DNAهای استخراج شده با دستگاه نانودراپ و در طول موج A260/280 بازه‌ای بین ۱/۸-۲ بود. برای بررسی نتایج به دست آمده، پس از تعیین ژنوتیپ هر فرد در گروه بیمار و کنترل و محاسبه فراوانی ژنوتیپی در هر گروه و دستیابی به ارزش P بین دو گروه که در جدول ۲ به آنها پرداخته شده است، در پلی‌مورفیسم مورد مطالعه تعادل هاردی - واینبرگ نیز از طریق آزمون مربع کای بررسی شد تا بدین ترتیب از متعادل بودن یا نبودن جمعیت‌های مورد-شاهد اطمینان خاطر به عمل آید (جدول ۳).

نظر به این که هر دو جمعیت‌های بیمار و کنترل در تعادل هاردی واینبرگ بودند، از میان مدل‌های Multiplicative، Dominant و Recessive، مدل

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپی در دو گروه بیمار و کنترل

سطح معنی‌داری	گروه کنترل تعداد (درصد)	گروه بیمار تعداد (درصد)	ژنوتیپ	پلی مورفیسم
۰/۲۰۱	(۶/۷)۸	(۳/۳)۴	AA	rs16260
	(۳۰)۳۶	(۲۳/۳)۲۸	AC	
	(۶۳/۳)۷۶	(۷۳/۴)۷۸	CC	

جدول ۳: بررسی تعادل هاردی واینبرگ در جمعیت‌های بیمار و کنترل

پلی مورفیسم	گروه بیمار			گروه کنترل		
	مشاهده شده	مورد انتظار	اطلاعات آماری	مشاهده شده	مورد انتظار	اطلاعات آماری
(هموزیگوت جهش AA یافته)	۴	۲/۷	فرکانس آلل A=۰/۱۵	۸	۵/۶۳	فرکانس آلل A=۰/۲۱
AC (هتروزیگوت)	۲۸	۳۰/۶	فرکانس آلل C=۰/۸۵	۳۶	۴۰/۷۳	فرکانس آلل C=۰/۸۸
CC (هموزیگوت طبیعی)	۸۸	۸۶/۷	p=۰/۸۶۲	۷۶	۷۳/۶۴	P=۰/۷۲۹

جدول ۴: فرکانس ژنوتیپی و مدل‌های ژنتیکی Additive و Multiplicative

پلی مورفیسم	اطلاعات آماری	مدل Additive			مدل Multiplicative		
		CC در مقابل AA+AC	AC در مقابل CC	AA در مقابل CC	CC در مقابل AA	AC در مقابل CC	AA در مقابل CC
rs16260	OR	۰/۶۲۸	۰/۶۷۲	۰/۴۹۴	۰/۶۲۸	۰/۳۷۶-۱/۲۰۱	۰/۱۳۹-۱/۷۵۱
	CI	۰/۳۶۳-۱/۰۸۸	۰/۳۷۶-۱/۲۰۱	۰/۱۳۹-۱/۷۵۱	۰/۳۹۹-۱/۰۲۰	۰/۳۶۳-۱/۰۸۸	۰/۱۳۹-۱/۷۵۱
	ارزش P	۰/۰۹۶	۱/۱۷۹	۰/۲۶۶	۰/۰۵۹	۰/۰۹۶	۰/۲۶۶

بحث

پروموتوری ژن CDH1 قرار گرفته است و حضور آلل A در این منطقه، قابلیت اتصال فاکتورهای رونویسی را تا ۶۸ درصد نسبت به آلل C کاهش می‌دهد (۱۴). بنا بر اطلاعات به دست آمده، این پلی مورفیسم برای اولین بار در رابطه با سقط مکرر مورد بررسی قرار گرفته، اما پژوهش‌های انجام یافته به وسیله ممینی و همکاران و شبناز و همکاران در بنگلادش و تونس ارتباط این پلی مورفیسم را با سرطان پستان نشان داده‌اند (۱۷، ۱۸) پیشتر نیز مشابه همین مطالعه به وسیله بیگلی-فادیل و همکاران در شانگهای انجام یافته و نتایج مشابهی کسب شده بود (۱۹). اخیراً نیز مطالعه‌ای در شمال ایران به وسیله شکرریز و همکاران پیرامون ارتباط این پلی مورفیسم با سرطان معده انجام یافت، اما ارتباطی معنی‌دار بین این دو پیدا نشد (۲۰). شایان ذکر است در مطالعه حاضر نیز هیچ ارتباط معنی‌داری بین حضور این پلی مورفیسم و سقط مکرر به دست نیامد.

فاکتورهای ژنتیکی می‌توانند نقش مهمی در بروز سقط مکرر داشته باشند. به طوری که امروزه تصور می‌شود پلی مورفیسم‌های برخی ژن‌ها می‌توانند در ابتلا به این بیماری دخیل باشند (۱۶). یکی از ژن‌هایی که به تازگی به وسیله روش‌های جدید توالی‌یابی به عنوان ژن کاندید دخیل در بیماری مذکور مطرح شده است، CDH1 است (۹). لذا هدف از این مطالعه بررسی همراهی بین پلی مورفیسم rs16260 از ژن CDH1 با سقط مکرر در زنان بود.

CDH1 سازنده کاده‌رین E که یک مولکول چسبندگی سلول-سلول وابسته به کلسیم تراغشایی می‌باشد، است و نقشی محوری در رفتار سلول‌های اپیتلیال، شکل‌گیری بافت و سرکوب سرطان دارد. که به دلیل شباهت بین مکانیسم حمله سلول‌های تروفوبلاستی و حمله سلول‌های بدخیم مورد توجه قرار گرفته است (۱۹ و ۱۵). rs16260 در بالادست ناحیه

تهران شمال با کد اخلاق
IR.IAU.TABRIZ.REC.1398.022 می‌باشد. از تمامی
شرکت کنندگان در گروه‌های کنترل و بیمار به خاطر
همکاری در فراهم‌سازی نمونه‌های خون و نیز
کارکنان آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر رحمانی به
خاطر یاری رسانی در انجام مطالعه تشکر و قدردانی
می‌کنیم.

همانند تمامی پژوهش‌های دیگر، مطالعه
حاضر نیز دارای برخی محدودیت‌ها می‌باشد. از جمله
این محدودیت‌ها این است که قبل از انجام مطالعه هیچ
پیشینه‌ای پیرامون سابقه سقط مکرر خصوصاً در
خویشاوندان درجه ۱ افراد شرکت کننده در مطالعه
گرفته نشد. محدودیت دیگر این که حجم نمونه‌های
مورد و شاهد شرکت کننده در مطالعه کوچک
می‌باشد. همچنین این مطالعه محدود به یک قوم خاص
در منطقه جغرافیای محدود می‌باشد. با در نظر گرفتن
این محدودیت‌ها پیشنهاد می‌گردد پژوهش‌هایی
مشابه با ابعاد وسیع‌تر در مناطق جغرافیایی و
قومیت‌های مختلف با در نظر گرفتن پیشینه سقط
مکرر در خویشاوندان انجام گیرد.

نتیجه گیری

طبق نتایج به دست آمده، به نظر می‌رسد
نمی‌توان از rs16260 به عنوان یک بیومارکر در
تشخیص دلیل ایجاد کننده سقط مکرر استفاده نمود،
البته به منظور تأیید این نتیجه و حتی تعمیم آن به
دیگر جمعیت‌های ایرانی، پژوهش‌هایی با حضور
جمعیت‌های اقوام دیگر و حتی خود قوم آذری در
مقیاسی بزرگ‌تر مورد نیاز است.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از پایان نامه دوره دکتری
تخصصی ژنتیک مصوب دانشگاه آزاد اسلامی واحد

REFERENCES

- 1.El Hachem H, Crepoux V, May-Panloup P, Descamps P, Legendre G, Bouet PE. Recurrent pregnancy loss: current perspectives. *International Journal of Women's Health* 2017; 9: 331-45.
- 2.Mohlin FC, Mercier E, Fremeaux-Bacchi V, Liszewski MK, Atkinson JP, Gris JC, et al. Analysis of genes coding for CD46, CD55, and C4b-binding protein in patients with idiopathic, recurrent, spontaneous pregnancy loss. *European Journal of Immunology* 2013; 43(6): 1617-29.
- 3.Evaluation and treatment of recurrent pregnancy loss: a committee opinion. *Fertility and Sterility* 2012; 98(5): 1103-11.
- 4.Bender Atik R, Christiansen OB, Elson J, Kolte AM, Lewis S, Middeldorp S, et al. ESHRE guideline: recurrent pregnancy loss. *Human Reproduction Open* 2018; 2018(2): hoy004.
- 5.van Dijk MM, Kolte AM, Limpens J, Kirk E, Quenby S, van Wely M, et al. Recurrent pregnancy loss: diagnostic workup after two or three pregnancy losses? A systematic review of the literature and meta-analysis. *Human Reproduction Update* 2020; 26(3): 356-67.
- 6.Shi X, Xie X, Jia Y, Li S. Maternal genetic polymorphisms and unexplained recurrent miscarriage: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Genetics* 2017; 91(2): 265-84.
- 7.Quintero-Ronderos P, Laissue P. Genetic variants contributing to early recurrent pregnancy loss etiology identified by sequencing approaches. *Reproductive sciences (Thousand Oaks, Calif)*. 2020; 27(8): 1541-52.
- 8.Xiang H, Wang C, Pan H, Hu Q, Wang R, Xu Z, et al. Exome-sequencing identifies novel genes associated with recurrent pregnancy loss in a chinese cohort. *Frontiers in Genetics* 2021; 12: 746082.
- 9.Quintero-Ronderos P, Mercier E, Fukuda M, González R, Suárez CF, Patarroyo MA, et al. Novel genes and mutations in patients affected by recurrent pregnancy loss. *PloS One* 2017; 12(10): e0186149.
- 10.Erol O, Süren D, Tutuş B, Toptaş T, Gökay AA, Derbent AU, et al. Immunohistochemical analysis of E-Cadherin, p53 and Inhibin- α expression in hydatidiform mole and hydropic abortion. *Pathology Oncology Research: POR* 2016; 22(3): 515-21.
- 11.Li P, Shi Y, Shuai H, Cai Y, Lu W, Wang G, et al. Altered SLIT2/ROBO1 signalling is linked to impaired placentation of missed and threatened miscarriage in early pregnancy. *Histopathology* 2017; 71(4): 543-52.
- 12.Yang Y, Chen X, Saravelos SH, Liu Y, Huang J, Zhang J, et al. HOXA-10 and E-cadherin expression in the endometrium of women with recurrent implantation failure and recurrent miscarriage. *Fertility and Sterility* 2017; 107(1): 136-43.
- 13.Moussa RA, Eesa AN, Abdallah ZF, Abdelmegeed A, Mahran A, Bahaa H. Diagnostic utility of twist1, ki-67, and e-cadherin in diagnosing molar gestations and hydropic abortions. *American Journal of Clinical Pathology* 2018; 149(5): 442-55.
- 14.Bahadir A, Eral G, Budak M, Shimamoto F, Korpınar MA, Erdamar S, et al. Association of clinicopathological features with E-cadherin (CDH1) gene-160 C>A promoter polymorphism in Turkish colorectal cancer patients. *Journal of Cancer Research and Therapeutics* 2019; 31(1): 1531.
- 15.Beikzadeh B, Angaji SA, Abolhasani M. Association study between common variations in some candidate genes and prostate adenocarcinoma predisposition through multi-stage approach in Iranian population. *BMC Medical Genetics* 2020; 21(1): 81.
- 16.Bellati F, Costanzi F, De Marco MP, Cippitelli C, Stoppacciaro A, De Angelis C, et al. Low endometrial beta-catenin and cadherins expression patterns are predictive for primary infertility and recurrent pregnancy loss. *Gynecological Endocrinology: The Official Journal of the International Society of Gynecological Endocrinology* 2019; 35(8): 727-31.

17. Memni H, Macherki Y, Klayech Z, Ben-Haj-Ayed A, Farhat K, Remadi Y, et al. E-cadherin genetic variants predict survival outcome in breast cancer patients. *Journal of Translational Medicine* 2016; 14(1): 320.
18. Shabnaz S, Ahmed MU, Islam MS, Islam MR, Al-Mamun MM, Islam MS, et al. Breast cancer risk in relation to TP53 codon 72 and CDH1 gene polymorphisms in the Bangladeshi women. *Tumour Biology: The Journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine* 2016; 37(6): 7229-37.
19. Beeghly-Fadiel A, Lu W, Gao YT, Long J, Deming SL, Cai Q, et al. E-cadherin polymorphisms and breast cancer susceptibility: a report from the shanghai breast cancer study. *Breast Cancer Research and Treatment* 2010; 121(2): 445-52.
20. Shekarriz R, Alikhani R, Ghasemi M, Navaei RA, Hashemi-Soteh MB. Correlation of -160C > A and -347GA > G polymorphisms in E-cadherin gene and gastric cancer in north of Iran. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences* 2021; 26: 3.

Association of Rs16260 Polymorphism of CDH1 Gene with Recurrent Pregnancy Loss in Iranian-Azeri Women

Yousefian M¹, Angaji SA^{2*}, Siasi E¹, Rahmani SA³, Abbasalizadeh Khiaban SH⁴

¹Department of Genetics, North Tehran Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran ²Department of Cell and Molecular Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran, ³Department of Medical Genetics, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran, ⁴Women's Reproductive Health Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

Received: 06 Jan 2022 Accepted: 06 Jul 2022

Abstract

Background & aim: Recurrent pregnancy loss is defined as losing at least 2 pregnancies before 20th weeks of gestation. Besides all the known causative factors, in about half of the cases, the causing factor, remains unknown. In recent years, some studies have shown the role of candidate genes polymorphisms in RPL. CDH1 is one of these candidate genes that plays critical role in embryo implantation. The aim of the present study was to evaluate the relation between rs16260 of this gene with RPL.

Methods: In the present case-control study that was conducted between 2018-2019, 120 women suffering from recurrent unexplained miscarriage and 120 women with no history of infertility and miscarriage and having at least one healthy child who were referred by a gynecologist to a private medical genetics laboratory in were referred to Tabriz, were included in the study as patient and control groups. The studied polymorphism was checked by ARMS-PCR method and the results were analyzed using the chi-square test using SPSS version 26 software. ($P < 0.05$)

Results: The frequencies of AA, AC and CC genotypes in the case group were 4(3.3%), 36(23.3%) and 76(73.4%) and in the control group were 8(6.7%), 28(30%) and 88(63.3%) respectively. P -Value=0.201

Conclusion: Based on the analyzes performed in the multiplicative and additive models, there was no significant relationship between the presence of polymorphism and recurrent miscarriage.

Keywords: CDH, Polymorphism, Recurrent miscarriage

*Corresponding author: Angaji SA, Department of Cell and Molecular Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran.
Email: Angaji@khu.ac.ir

Please cite this article as follows: Yousefian M, Angaji SA, Siasi E, Rahmani SA, Abbasalizadeh Khiaban SH. Association of Rs16260 Polymorphism of CDH1 Gene with Recurrent Pregnancy Loss in Iranian-Azeri Women. Armaghane-danesh 2022; 27(4): 507-516.