

بررسی ارتباط پلی مورفیسم *rs267601473* ژن *HOXA10* و سقط مکرر

منوچهر مزداپور، محمود دهقانی اشکذری*، سیدمرتضی سیفتی

مقاله پژوهشی

مقدمه: از نظر بالینی وقوع بیش از دو سقط مکرر پیش از هفته بیستم نسبت به آخرین قاعدگی، سقط مکرر تعریف می‌گردد. عوامل گوناگونی هم‌چون مشکلات هورمونی، ژنتیکی و عوامل محیطی در این نوع ناباروری دخیل می‌باشند. هدف از این مطالعه تشخیص ارتباط بین سقط مکرر در زنان و پلی مورفیسم در ژن *HOXA10(rs267601473)* است.

روش بررسی: در مطالعه مورد-شاهدی حاضر، پلی مورفیسم *rs267601473* در ۷۰ زن نابارور و ۱۰۰ فرد سالم توسط روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. سپس داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار آماری SPSS Inc., Chicago, IL; version 18 تجزیه و تحلیل گردید و آزمون آماری کای دو و رگرسیون لجستیک انجام پذیرفت. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج: نتایج این بررسی نشان‌دهنده وجود ارتباط معنی‌داری ما بین پلی مورفیسم *rs267601473* و سقط مکرر مشاهده شد ($P=0/001$, $OR: 0/143$). ارتباط معناداری بین آلل T و ابتلا به سقط مکرر وجود داشت ($P=0/001$, $OR: 0/2$).

نتیجه‌گیری: نتایج این بررسی نشان‌دهنده وجود ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم *rs267601473*، ژن *HOXA10* و سقط مکرر در جمعیت مورد بررسی بود.

واژه‌های کلیدی: سقط مکرر، ناباروری، پلی مورفیسم، *HOXA10*

ارجاع: مزداپور منوچهر، دهقانی اشکذری محمود، سیفتی سیدمرتضی. بررسی ارتباط پلی مورفیسم *rs267601473* ژن *HOXA10* و سقط مکرر. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۲): ۶۱-۱۲۵۴.

کننده بیان ژن می‌باشد و به‌طور ویژه‌ای بر قدرت باروری، حیات جنینی و تنظیم رده هماتوپیتیک نقش دارد (۹). بعد از شکل‌گیری قسمت‌های مختلف جنین، پروتئین‌های *HOX* ساختارهای بخش‌های مختلف را تعیین می‌کنند. پروتئین‌های محصول ژن‌های *HOX*، فاکتورهای رونویسی محسوب می‌گردند و به توالی‌های نوکلئوتیدی خاصی بر روی DNA، تحت عنوان تقویت کننده (Enhancer) متصل می‌گردند و سبب فعال یا غیرفعال شدن سایر ژن‌ها می‌شوند و دارای اثر دوگانه می‌باشند یعنی یک نوع خاص از پروتئین *HOX* می‌تواند به‌عنوان فعال‌کننده برای یک گروه یا غیرفعال‌کننده برای گروهی دیگر از ژن‌ها عمل کند. بیان ژن‌های *HOX* در طول مراحل رشد و نمو جنین رخ می‌دهد و هرگونه تغییری در این توالی‌ها برای جنین کشنده می‌باشد (۱۰). بنابراین، با توجه به اهمیت و نقش ژن *HOXA10* در حیات جنینی و ارتباط نزدیک این ژن با سقط جنین، مطالعه حاضر به‌عنوان اولین تحقیق، به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم *rs267601473* واقع در ژن *HOX* با استعداد ابتلا به سقط مکرر پرداخته است.

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت مورد - شاهدی (Case-Control) بر روی ۷۰ نفر از افراد با سابقه سقط مکرر با علت ناشناخته مراجعه‌کننده به مرکز زنان بیمارستان زنان تهران که حداقل سابقه بیش از دو مورد سقط مکرر را داشتند و فاقد اختلالات هورمونی، آناتومیک و ژنتیکی بودند، به‌عنوان گروه مورد و ۱۰۰ نفر از افراد باروری که حداقل یک فرزند داشته و فاقد سابقه سقط بودند، از میان مراجعه‌کنندگان به بیمارستان زنان تهران که جهت بررسی دوره‌ای و بیوشیمیایی خون به این مرکز مراجعه کرده بودند، به‌عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد. پس از تایید کمیته اخلاق و اخذ رضایت‌نامه آگاهانه از افراد سالم و بیمار، ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و درون تیوب‌های حاوی EDTA نگهداری شد. برای بررسی مولکولی نمونه‌ها، DNA با استفاده از کیت آزمایشگاهی (GenID, Germany) استخراج شد. کمیت و کیفیت نمونه‌های

وقوع بیش از دو سقط بارز از نظر بالینی پیش از هفته بیستم نسبت به آخرین قاعدگی، سقط مکرر تعریف می‌گردد. در هر ۳۰۰ بارداری تقریباً یک مورد سقط مکرر مشاهده می‌شود (۱). سقط مکرر بر دو نوع اولیه و ثانویه تقسیم می‌گردد. در نوع اولیه، بلافاصله چند سقط مکرر رخ می‌دهد ولی در نوع ثانویه، پس از یک بارداری موفق، سقط‌های متوالی آغاز می‌شود (۲). ۱-۲٪ زنان سقط مکرر را تجربه می‌کنند که برای ۵۰٪ سقط‌های مکرر دلایل مشخصی نظیر ناهنجاری‌های کروموزومی، ناهنجاری‌های رحمی، مشکلات دستگاه ایمنی، بیماری‌های متابولیکی، عفونت و سبک زندگی ارائه شده است (۳-۵). یکی از عوامل سقط مکرر، عوامل ژنتیکی است. علل ناباروری اعم از مشکلات هورمونی تا غیرطبیعی بودن سلول‌های جنسی و سقط مکرر همگی می‌تواند به نوعی تحت تأثیر عوامل ژنتیکی باشند (۶). خانواده‌های ژنی مختلفی بر باروری تأثیر گذارند. خانواده ژنی *HOX* یکی از این خانواده‌ها محسوب می‌گردد و نقش مهمی در باروری جنس مذکر و مونث دارد. خانواده ژنی *HOX* گروهی از ژن‌های کنترل‌کننده الگویندی سری - دمی در بدن موجودات مختلف می‌باشند و شکل‌گیری محورهای سری - دمی بدن رویان، توسط ژن‌های *HOX* تنظیم می‌شود. این ژن‌ها که بسیار محافظت شده‌اند، به چهار دسته *HOXC, HOXB, HOXA* و *HOXD* تقسیم می‌گردند که بر روی ۴ کروموزوم مختلف قرار گرفته‌اند. از این خانواده، ژن *HOXA10* یکی از ژن‌های تأثیرگذار در حیات جنین و شکل‌گیری دستگاه جنسی محسوب می‌گردد (۷). ژن‌هایی که به طرف انتهای ۳ کروموزوم قرار گرفته‌اند شکل‌گیری ساختارهای سری‌تر را کنترل می‌کنند و آن‌هایی که نزدیک به انتهای ۵ هستند تمایز ساختارهای خلفی‌تر را تنظیم می‌کنند. مجموعه اعمال این ژن‌ها شکل‌گیری مغز پسین و محور رویان را تنظیم می‌کند (۸). ژن *HOXA10* جز گروه A خانواده ژنی *HOX* بوده و بر روی کروموزوم ۷ در موقعیت 7p15.2 قرار دارد و کدکننده یک فاکتور رونویسی و تنظیم

(GenID,Germany) که در نهایت با آب مقطر استریل به حجم ۲۵ میکرولیتر رسید تهیه شد. تکنیک PCR جهت تکثیر ژن مورد نظر توسط پرایمرهای اختصاصی طراحی شده توسط نرم افزار (Gene runner Version 5.1) انجام شد. توالی پرایمرهای طراحی شده به ترتیب شامل پرایمر رفت (5'-GGATTCCCTGGGCAATTCCA-3') و پرایمر برگشت (3'-CTGAAGACAGAGGGAGGGGA-5') بود (جدول ۱).

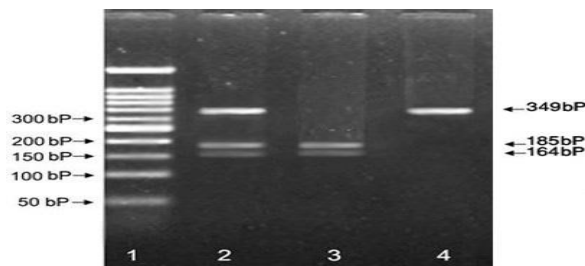
استخراج شده توسط دستگاه نانودراپ (Thermo Scientific Nanodrop,USA) مورد بررسی قرار گرفت. سرانجام نمونه‌های DNA تا زمان استفاده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. جهت تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز و چندشکلی قطعات محدود شونده (PCR-RFLP) انجام شد، محلول واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت ۲ میلی‌لیتر از پرایمر رفت و برگشت، ۳ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده، ۱۲/۵ میکرولیتر از مستر میکس

جدول ۱: توالی پرایمرهای استفاده شده جهت بررسی پلی مورفیسم rs267601473 ژن *HOXA10*

توالی (5'→3')	طول پرایمر	Tm	GC%
پرایمر رفت GGATTCCCTGGGCAATTCCA	۲۰	۶۰/۰۳	۵۵/۰۰
پرایمر برگشت CTGAAGACAGAGGGAGGGGA	۲۰	۵۹/۹۶	۶۰/۰۰
طول قطعه	۳۴۹		

انتخاب شده بود، مورد برش آنزیمی قرار گرفت. واکنش RFLP شامل ۱۰ میکرولیتر محلول PCR، ۲ واحد آنزیم *MnII*، ۲ میکرولیتر بافر و حجم نهایی ۳۲ میکرولیتر بود. انکوباسیون نمونه‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۶ ساعت صورت گرفت. در نهایت محصولات واکنش آنزیمی توسط تکنیک الکتروفورز روی ژل ۳ درصد بارگذاری و جداسازی شد. پس از انجام تیمار آنزیمی و انجام الکتروفورز در مجاورت آنزیم محدودکننده ژنوتیپ A/A (هموزیگوت غالب) تنها به یک قطعه ۳۴۹ جفت بازی و ژنوتیپ A/T (هتروزیگوت) به سه قطعه ۱۶۴، ۱۸۵ جفت بازی و ژنوتیپ T/T (هموزیگوت مغلوب) به دو قطعه ۱۶۴ و ۱۸۵ جفت بازی شکسته شد (شکل ۱).

تکثیر DNA با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf ThermoCycler,Germany) تحت شرایط دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد و ۳۵ سیکل با برنامه دناتوراسیون ثانویه به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، مرحله اتصال DNA به مدت ۴۵ ثانیه در دمای ۶۱ درجه سانتی‌گراد، تکثیر به مدت ۴۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه و تکثیر نهایی به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد. پس از انجام تکثیر، جهت اطمینان از تکثیر، محصولات PCR، الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲٪ انجام شد. سپس محصول تکثیر ژن تحت تأثیر آنزیم محدودکننده *MnII* (Fermentas,Germany) که توسط نرم‌افزار NEBcutter



شکل ۱: نتایج حاصل از RFLP پلی مورفیسم rs267601473

مورفیسیم *rs267601473* واقع در ژن *HOXA10* در هر دو گروه مورد و شاهد مورد بررسی قرار گرفت. توزیع فراوانی ژنوتیپی و آلی مربوط به پلی مورفیسیم *rs267601473* واقع در ژن *HOXA10* در جدول ۱ نشان داده شده است. ژنوتیپ AA بیشترین میزان فراوانی را در دو گروه مورد مطالعه به خود اختصاص داده بود. فراوانی ژنوتیپ AT در دو گروه مورد و شاهد به ترتیب ۸/۶ و ۳۵ درصد (۰/۳۶۸-۰/۰۵۶-۰/۹۵ CI)؛ ۱۴۳ (OR:۰/۱۴۳) و فراوانی ژنوتیپ TT در دو گروه مذکور به ترتیب ۴/۳ و ۱۴ درصد (۰/۱۵۶-۳/۰۴۹-۰/۹۵ CI)؛ ۱۷۹ (OR:۰/۱۷۹) بود. و تحلیل داده‌ها به کمک آزمون آماری χ^2 (Chi-Square) نشان داد که تفاوت آماری معنی‌داری میان این دو گروه از نظر ژنوتیپ‌های پلی مورفیسیم مورد مطالعه وجود دارد (P=۰/۰۰۰۱). بررسی توزیع فراوانی آلی در دو گروه مورد و شاهد نشان داد که فراوانی آلل A در دو گروه مورد و شاهد به ترتیب ۶۴ و ۶۸/۵ درصد و فراوانی آلل T در دو گروه به ترتیب ۳۱/۵ و ۳ درصد (۰/۱۱-۰/۴-۰/۹۵ CI)؛ ۲ (OR:۰/۲) بود. بر این اساس به نظر می‌رسد که در جمعیت مورد مطالعه آلل A به‌عنوان آلل خطر ساز مطرح باشد. مقایسه آلل‌ها در دو گروه به کمک آزمون آماری χ^2 (Chi-Square) حاکی از تفاوت آماری معنی‌دار بین دو گروه بود (P=۰/۰۰۰۱).

چاهک شماره ۱ مربوط به مارکر مولکولی ۵۰bp، چاهک شماره ۲ هتروزیگوت (A/T) و چاهک شماره ۳ هموزیگوت مغلوب (T/T) و چاهک شماره ۴ هموزیگوت غالب (A/A) را نشان می‌دهد.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS Inc., Chicago, IL; version 18 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. فراوانی ژنوتیپی و آلی در دو گروه بیمار و کنترل محاسبه گردید. ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و سقط مکرر توسط آزمون آماری χ^2 (Chi-Square) و نسبت شانس توسط مدل Logistic regression بررسی شد. سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی یزد مورد تایید قرار گرفت. (کد اخلاق IR.IAU.YAZD.REC.1396.15).

نتایج

شکل ۱ نتایج حاصل از تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسیم *rs267601473* واقع در ژن *HOXA10* به کمک روش PCR-RFLP را نشان می‌دهد. پس از تعیین ژنوتیپ و با توجه به یافته‌های به‌دست آمده، توزیع ژنوتیپی و آلی پلی

جدول ۱: توزیع فراوانی ژنوتیپی و آلی پلی مورفیسیم *rs267601473* در گروه بیمار و شاهد

Genotype HOXA10	n (%) Control	n (%) Case	OR (% 95 CI)	P value
AA	۵۱ (۵۱)	۶۱ (۸۷/۱)	1 (Reference)	-
AT	۳۵ (۳۵)	۶ (۸/۶)	۰/۱۴۳ (۰/۰۵۶-۰/۳۶۸)	۰/۰۰۰۱
TT	۱۴ (۱۴)	۳ (۴/۳)	۰/۱۷۹ (۰/۰۴۹-۳/۱۵۶)	۰/۰۱۰
Allele				
A	۱۳۷ (۶۸/۵)	۱۲۸ (۶۴/۰۰)	1 (Reference)	-
T	۶۳ (۳۱/۵)	۱۲ (۶/۰۰)	۰/۲ (۰/۱۱-۰/۴)	۰/۰۰۰۱

سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد. آزمون آماری χ^2 (Chi-Square)

بحث

یکی از شایع‌ترین مشکلات زنان باردار، سقط مکرر خودبه‌خودی می‌باشد. از این رو مطالعات زیادی در جهت کشف علت و روش‌های درمانی این مشکل در حال انجام است. بر اساس

مطالعات انجام شده، عوامل ژنتیکی در بروز سقط مکرر نقش عمده‌ای دارد (۱۱). نتایج حاصل از این تحقیق، به‌عنوان اولین مطالعه در ارتباط با پلی مورفیسیم *rs267601473* در ژن *HOXA10* با استعداد ابتلا به سقط مکرر نشان داد که آلل T در

همکاران در سال ۲۰۱۱ میلادی بار دیگر نقش عمیق *HOXA10* در ابتلا به اندومتريوم را به اثبات رساندند (۱۸). این در حال بود که تحقیقات صورت گرفته توسط Hong و همکارانش در سال ۲۰۱۲ میلادی تاییدی بر مطالعات انجام گرفته توسط Cermik و همکارانش بود (۱۹). گزارش‌های اخیر حاکی از آن است که *HOXA10* و *HOXA13* فرایندهای شکل‌گیری دستگاه جنسی مونث را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهند (۲۰). Quinone و همکارانش در سال ۲۰۱۴ میلادی به مطالعه دقیق بیماری‌های مرتبط با ژن *HOX* پرداخته و یکی از اساسی‌ترین نقش‌های این ژن را در حیات جنین و شکل‌گیری دستگاه جنسی مورد بررسی قرار دادند (۲۱). در جدیدترین تحقیقات صورت گرفته در سال ۲۰۱۸ میلادی توسط Zheng و همکارانش تفاوت بیان ژن در بافت بارور و غیر بارور بیانگر نقش عمیق این ژن در باروری بود (۲۲).

علاوه بر این تحقیق، تحقیق دیگر صورت گرفته توسط Ozan و همکاران در سال ۲۰۱۸ میلادی نیز به نقش اساسی *HOXA10* در ناباروری اشاره دارد (۲۳). با توجه به نتایج این تحقیق و سایر تحقیقات صورت گرفته این ژن یکی از ژن‌های مهم دخیل در باروری شناخته شده است و با توجه به مطالعات گوناگون صورت گرفته و ارتباط عمیق این خانواده ژنی با قدرت باروری تحقیق حاضر برای بررسی اثر این ژن با خطر ابتلا به سقط مکرر انجام گرفت. مطالعه حاضر برای اولین بار ارتباط پلی‌مورفیسم *rs267601473* در ژن *HOXA10* با ریسک ابتلا به سقط مکرر مورد بررسی قرار گرفت و ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم *rs267601473* در ژن *HOX* و خطر ابتلا به سقط مکرر مشاهده شد. پیشنهاد می‌شود که این مطالعه در سطح وسیع‌تر و در جمعیت‌های نژادی مختلف نیز انجام پذیرفته و نتایج توسط محققین دیگر تایید گردد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه بیانگر ارتباط معنی‌دار بین پلی‌مورفیسم *rs267601473* در ژن *HOXA10* و خطر ابتلا به سقط مکرر است به طوری که آلل A در این جایگاه پلی‌مورفیک، خطر ابتلا به سقط مکرر را افزایش می‌دهد.

این جایگاه پلی‌مورفیک با خطر ابتلا به سقط مکرر مرتبط است ($p = 0/0001$; $OR: 0/2$; $95\% CI: 0/11-0/4$). در تحقیق حاضر، تحلیل آماری ($P < 0/05$) نتایج و بررسی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در دو گروه نشانگر ارتباط معنی‌دار میان جمعیت مطالعه شده با پلی‌مورفیسم این ژن و سقط مکرر در زنان ایرانی داشت. مطابق با نتایج ما در این تحقیق در سایر مطالعات انجام گرفته توسط محققین دیگر ارتباط عمیق این ژن در توان باروری گزارش شده است. ژن‌های *HOX* یکی از ژن‌های اساسی در مسیر تکامل و شکل‌گیری اندام‌ها به‌ویژه دستگاه تناسلی در جنس نر و ماده بر عهده دارد. موقعیت قرارگیری اندام‌ها در طول محور سری دمی در طرفین تنه رویان توسط ژن‌های *HOX* که در طول این محور بیان می‌شوند، تنظیم می‌گردد. بیان اشتباه این ژن، حیات جنین را تحت تاثیر قرار خواهد داد (۱۲).

مطالعات محدودی دال بر ارتباط پلی‌مورفیسم خانواده ژنی *HOX* و سقط مکرر وجود دارد این در حالی است که تحقیقات زیادی به نقش این خانواده ژنی در شکل‌گیری دستگاه تناسلی نر و ماده و حیات جنینی اشاره دارد. مطالعات مختلف صورت گرفته از سال ۱۹۹۵ میلادی تا سال‌های اخیر همگی به ارتباط شدید این ژن با بیماری‌های مربوط به دستگاه جنسی اشاره دارد. مطالعات صورت گرفته توسط Satokata و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان داد که ژن *HOXA10* نقش اساسی در شکل‌گیری فنوتیپ ماده بر عهده دارد (۱۳). تحقیقات Hsieh- Li و همکاران در همین سال نشان از نقش اساسی ژن‌های خانواده *HOX* به‌ویژه *HOXA11* در ناباروری در هر دو جنس نر و ماده داشت (۱۴). Benson و همکارانش در سال ۱۹۹۶ میلادی نشان دادند که *HOXA10* نقشی اساسی و مهم در شکل‌گیری فنوتیپ جنس ماده داشته و در توان باروری این جنس نقشی اساسی و ارتباط تنگاتنگی با *HOXA11* دارد (۱۵). Cermik و همکاران در سال ۲۰۰۱ میلادی به مطالعه اثر بیان ژن *HOXA10* و تغییرات هورمونی و تاثیر آن بر روی دستگاه جنسی مونث پرداختند و در سال ۲۰۰۳ میلادی ارتباط تنگاتنگ و عمیق این ژن با آندومتريوز و سندرم پلی‌کیستیک در زنان را اثبات کردند (۱۶، ۱۷). Catha و

آزاد اسلامی واحد اشکذر انجام پذیرفت و بدین وسیله از همکاری این واحد برای پیشبرد تحقیق تشکر می‌نماییم.
تعارض در منافع: وجود ندارد

این مقاله بخشی از پایان‌نامه دکترای رشته زیست‌شناسی سلولی و مولکولی می‌باشد. این تحقیق با حمایت مالی دانشگاه

References:

- 1-Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. *New insights into mechanisms behind miscarriage*. BMC Med 2013; 11(3):154-9.
- 2-Ray A, Shah A, Gudi A, Homburg R. *Unexplained infertility: an update and review of practice*. Reprod Biomed Online 2012; 24(6): 591-602.
- 3-Hyde KJ, Schust DJ. *Genetic considerations in recurrent pregnancy loss*. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine 2015; 5(3): 8-17.
- 4-Kaur R, Gupta K. *Endocrine dysfunction and recurrent spontaneous abortion*. Basic Med Res 2016; 6(2): 79-83.
- 5-Andersen A, Andersen P, Olsen J, Gronbak M, Strandberg-Larsen K. *Moderate alcohol intake during pregnancy and risk of fetal death*. Int J Epidemiol 2012; 41(2): 405-13.
- 6-Ford HB, Schust DJ. *Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis, and Therapy*. Rev Obst Gynecol 2009; 2(2): 76-83.
- 7-Eun Kwon H, Taylor HS. *The role of HOX genes in human implantation*. Ann N Y Acad Sci 2004; 10 (1): 1-18.
- 8-Nolte C, Tara B, Krumlauf R. *Mammalian Embryo: HOX Genes*. In: eLS. John Wiley & Sons Ltd 2015; 5(2): 40-8
- 9-Du H, Taylor HS. *The role of HOX genes in female reproductive tract development, adult function, and fertility*. Cold Spring Harb Perspect Med 2015; 6(1): 79-90.
- 10- Deschamps J, van Nes J. *Developmental regulation of the HOX genes during axial morphogenesis in the mouse*. Development 2005; 132(13): 2931-42.
- 11- Pandey MK, Rani R, Agrawal S. *An update in recurrent spontaneous abortion*. Arch Gynecol Obstet 2005; 272(2): 95-108
- 12- Vitiello D, Kodaman PH, Taylor HS. *HOX genes in implantation*. Semin Reprod Med 2007; 25(6): 431-36.
- 13- Satokata I, Benson G, Maas R. *Sexually dimorphic sterility phenotypes in HOXA10-deficient mice*. Nature 1995; 374(6): 460-63
- 14- Hsieh-Li HM, Witte DP, Weinstein M, Branford W, Li H, Small K, et al. *HOXA11 structure, extensive antisense transcription, and function in male and female fertility*. Development 1995; 121(5): 1373-85.
- 15- Benson GV, Lim H, Paria BC, Satokata I, Dey SK, Maas RL. *Mechanisms of reduced fertility in HOXA10 mutant mice: uterine homeosis and loss of maternal Hoxa-10 expression*. Development 1996; 122(9): 2687-96.

- 16- Cermik D, Karaca M, Taylor HS. *HOXA10 expression is repressed by progesterone in the myometrium: differential tissue-specific regulation of HOX gene expression in the reproductive tract.* J Clin Endocrinol Metab 2001; 86(7): 3387-92.
- 17- Cermik D, Selam B, Taylor HS. *Regulation of HOXA10 expression by testosterone in vitro and in the endometrium of patients with polycystic ovary syndrome.* J Clin Endocrinol Metab 2003; 88(1): 238-43.
- 18- Fischer CP, Kayisili U, Taylor HS. *HOXA10 expression is decreased in endometrium of women with adenomyosis.* Fertility and Sterility 2011; 95(3): 1133-36.
- 19- He H, Li T, Yin D, Liu L, Chen Q, Wang J, et al. *HOXA10 expression is decreased by testosterone in luteinized granulosa cells in vitro,* Molecular Medicine Reports 2012; 6(1): 51-6.
- 20- Ekici AB, Strissel PL, Oppelt PG, Renner SP, Brucker S, Beckmann MW, et al. *HOXA10 and HOXA13 sequence variations in human female genital malformation including congenital absence of the uterus and vagina.* Gene 2013; 518(2): 267-72.
- 21- Quinonez SC, Innis JW. *Human HOX gene disorders.* Mol Genet Metab 2014; 111(1): 4-15
- 22- Ozcan C, Ozdamar O, Gokbayrak ME, Doger E, Cakiroglu Y, Cine N. *HOXA10 gene expression in ectopic and eutopic endometrium tissues: Does it differ between fertile and infertile women with endometriosis?* European J Obstetrics Gynecology Reproductive Biol 2018; 233(5): 43-8
- 23- Zheng J, Luo X, Bao J, Huang X, Jin Y, Chen L, et al. *Decreased expression of HOXA10 may activate the autophagic process in ovarian endometriosis.* Reprod Sci 2018; 25(9): 1446-54.

Association between *HOXA10* (rs267601473) polymorphism and recurrent spontaneous abortion

Manouchehr Mazdapour¹, Mahmood DehghaniAshkezari^{*2}, SeyedMortezaSeifati³

Original Article

Introduction: Recurrent spontaneous abortion is defined as the occurrence of more than two clinical miscarriages in one woman. Several factors, including endocrine irregularities, genetics and environmental factors, are involved in this kind of infertility. The aim of this study was to survey the association of *HOXA10* (rs267601473) polymorphism with the risk of recurrent spontaneous abortion in our population.

Methods: In the present case-control study, the *HOXA10* (rs267601473) polymorphism was investigated in 70 infertile woman and 100 healthy participants using PCR-RFLP methods. Then, the data were analyzed by SPSS software version 18 and also were compared using Chi-square test and Logistic regression model. The p-value was found to be statistically significant ($p < 0.05$).

Results: Our results showed significant association between the *HOXA10* (rs267601473) polymorphism and recurrent spontaneous abortion (OR=0.143, 95% CI=0.056-0.368; $p < 0.0001$). Our findings showed that T allele frequency in women with recurrent spontaneous abortion had significant difference compared to the control group (OR=0.2, 95% CI=0.11-0.4; $p < 0.0001$).

Conclusion: The results of this study reveal that the *HOXA10* (rs267601473) polymorphism is significantly associated with recurrent spontaneous abortion in our population.

Keywords: Recurrent spontaneous abortion, Infertility, Polymorphism, *HOXA10*.

Citation: Mazdapour M, Dehghani Ashkezari M, Seifati SM. Association between *HOXA10* (rs267601473) polymorphism and recurrent spontaneous abortion. J ShahidSadoughiUni Med Sci 2019; 27(2): 1254-61.

¹Medical biotechnology research center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran

²Medical biotechnology research center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran

³Medical biotechnology research center, Ashkezar Branch, Islamic Azad University, Ashkezar, Yazd, Iran

*Corresponding author: Tel:09133535129, email:mdashkezary@yahoo.com