Research Article

Nova Biologica Reperta 8(4): 242-252 (2022)

Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115

https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.8.4.242

مقاله پژوهشی

یافته‌های نوین در علوم زیستی

جلد ۸، شماره ۴، صفحات ۲۴۲ الی ۲۵۲ (۱۴۰۰)

انتشارات دانشگاه خوارزمی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]

[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم پروموتر MMP-3 و غلظت سرمی آن با نتیجه لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین

مهدیس معراجی ماسوله مقدم[۱]، فرهاد مشایخی[۲]، زیبا ظهیری[۳] و اکرم عیدی[۱]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران؛ [۲]گروه زیست، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران؛[۳]مرکز تحقیقات بهداشت باروری گروه زنان و مامایی، بیمارستان الزهرا (س)، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گیلان، رشت، ایران

مسئول مکاتبات: فرهاد مشایخی، mashayekhi@guilan.ac.ir

چکیده. هدف از این تحقیق بررسی پلی‌مورفیسم ژن MMP-3 و بیان آن در سرم خون در زنان ناباروری است که لقاح مصنوعی و انتقال جنین (In vitro fertilization and embryo transfer) انجام داده‌اند. در این مطالعه۱۰۰ زن نابارور با نتیجه لقاح مصنوعی ناموفق (IVF^-) و ۱۰۰ زن بارور با نتیجه لقاح مصنوعی و حاملگی کلینیکی موفق (IVF^+) مورد بررسی قرار گرفتند. پلی‌مورفیسم ژنی و غلظت سرمی MMP-3 به ترتیب توسط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (ARMS-PCR) و روش الایزا (ELISA) مورد بررسی قرار گرفت. نتایج به دست آمده بیانگر عدم وجود ارتباط بین فراوانی آللی و ژنوتیپی ژن MMP-3 در دو گروه مورد مطالعه است. همچنین نشان داده شد که کاهش معنی‌داری در غلظت MMP-3 بین دو گروه وجود دارد (P=۰/۰۰۰۰۰۲). نتایج نشان داد میزان سرمی MMP-3 در ژنوتیپ‌های AA، AC و CC در گروه IVF^- به ترتیب مقادیر ۸۶، ۶۵/۳۳ و ۳۳ ng/ml است. به طور کلی نتیجه‌گیری می‌شود که ارتباط معناداری بین پلی‌مورفیسم پروموتر ژن MMP-3 با دو گروه IVF^+ و IVF^- وجود ندارد، در حالی که کاهش معناداری در سطح پروتئین سرمی MMP-3 در گروه IVF^- در مقایسه با گروه IVF^+وجود دارد. همچنین نشان دادیم که ژنوتیپ CC با کاهش غلظت سرمی MMP-3 در ارتباط است و ممکن است در نتیجه لقاح مصنوعی و انتقال جنین نقش داشته باشد.

کلمات کلیدی: تنوع ژنتیکی، حاملگی کلینیکی، ناباروری، نقص لانه‌گزینی، rs632478

Analyzing the association of MMP-3 promoter polymorphism and its serum concentration with the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer

Mahdis Meraji Masouleh Moghaddam[1], Farhad Mashayekhi[2], Ziba Zahiri[3] & Akram Eidi[1]

[1]Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran; [2]Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran; [3]Reproductive Health Research Center, Department of Obstetrics & Gynecology, Alzahra Hospital, School of Medicine, Guilan University of Medical Sciences, Rasht, Iran.

Corresponding author**:** Farhad Mashayekhi, mashayekhi@guilan.ac.ir

Abstract. This study aimed to investigate the polymorphism of matrix metalloproteinase -3 (MMP-3) gene and its expression in the serum of infertile female patients received in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET). To do so, 100 women with unsuccessful IVF-ET (IVF^-) and 100 women with successful IVF-ET procedure and clinical pregnancy (IVF^+) were included. Genetic polymorphism and serum concentration of MMP3 were investigated by ARMS-PCR and ELISA, respectively. The results showed no significant association between MMP-3 gene polymorphism and IVF-ET outcome among the two groups studied. However, a significant decrease in the concentration of MMP-3 serum in the IVF^- group was observed in comparison with the IVF^+ group (P=0.000002). Moreover, we showed that the serum MMP-3 levels in CC, AC and AA genotypes in the IVF^- group were 33, 65.33 and 86 ng/ml, respectively. In conclusion, while there is no significant difference between MMP-3 promoter polymorphism and IVF-ET outcome between the IVF^+ and IVF^- groups, a significant decrease in MMP-3 serum levels in IVF^- group was seen as compared with the IVF^+ group. It could be also suggested that the CC genotype is associated with a decreased level of MMP-3 serum concentration and may be associated with IVF-ET failure.

Key words: clinical pregnancy, genetic variation, implantation failure, infertility, rs632478

Received 13.08.2021/ Revised 29.09.2021/ Accepted 19.10.2021/ Published 20.01.2022

دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۲۲/ اصلاح: ۱۴۰۰/۰۷/۰۷/ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۲۷/ انتشار: ۱۴۰۰/۱۰/۳۰

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]

[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

مقدمه

تشکیل جنین به سلامت و شرایط مناسب سیستم تولید مثلی زنان و مردان بستگی دارد. در مردان تولید اسپرم کافی با خصوصیات مورفولوژیکی نرمال، پتانسیل خروج آنها از مجاری تناسلی و ورودشان به داخل رحم و لوله‌های رحمی حائز اهمیت است. از طرفی در زنان تخمک گذاری، قدرت اسپرم برای باروری تخمک و لانه‌گزینی تخمک بارور شده در رحم نقش مهمی را در جهت تشکیل جنین ایفا می کند. براین اساس، اختلال در هر یک از موارد فوق می‌تواند زمینه ناباروری و عدم وقوع حاملگی را در افراد ایجاد کند (Matzuk & Lamb, 2008). ناباروری به عنوان یک اختلال سیستم تولید مثلی تعریف شده است که به عدم موفقیت در بارداری پس از ۱۲ ماه مقاربت جنسی منظم بدون جلوگیری اطلاق می‌گردد (Kitchen et al., 2017). در زنان علل اصلی ناباروری شامل عوامل ژنتیکی، سندروم تخمدان پلی کیستیک Polycystic Ovary Syndrome (PCO)، نارسایی زودرس تخمدان (یائسگی زودرس) Premature Ovarian Failure (POF)، کاهش ذخیره تخمدانی Diminished Ovarian Reserve (DOR)، اندومتریوز، ناباروری ادیوپاتیک (ناشناخته)، سرطان، بیماری‌های قلبی عروقی هستند. همچنین اختلالات تخمک گذاری، چسبندگی لگن، انسداد و سایر ناهنجاری‌های لوله تخم‌بر، افزایش پرولاکتین و ناتوانی‌های رحمی نیز در ناباروری زنان دخیل هستند (Hung et al., 2016). در دهه‌های اخیر در مسائل مرتبط با ناباروری ۳ تغییر عمده رخ داده است که عبارتند از: (۱) تغییر و تحول در باروری مصنوعی In Vitro Fertilization (IVF) و تکنولوژی‌های کمک باروری Assisted Reproductive Technology (ART)، (۲) آگاهی بیشتر جمعیت‌ها از درمان‌های موجود برای ناباروری و (۳) افزایش تعداد زنان بالای ۳۵ سال که در جستجوی خدمات کمک باروری هستند (Plaseska-Karanfilska et al., 2012). لقاح مصنوعی در سه مرحله اصلی شامل: (۱) تحریک تخمدان‌ها توسط تزریق گنادوتروپین به منظور تخمک گذاری، (۲) تلقیح اسپرم و تخمک در محیط آزمایشگاه و تکوین زیگوت تا مرحله ۸ سلولی و (۳) انتقال جنین انتخاب شده به داخل رحم مادر انجام می‌شود (Suzuki, 2014, Zhao et al., 2011). عوامل مختلفی از جمله هورمون‌ها مثل استروژن، پروژسترون، ملاتونین و گنادوتروپین انسانی و ژن های مختلفی شامل کادهرین، اعضای خانواده اینتگرین، فاکتور مهارکننده لوسمی، ژن‌های HOX و ماتریکس متالوپروتئینازها Matrix Metalloproteinases (MMPs) از جمله MMP-3 در لانه‌گزینی دخیل هستند (Zhang et al., 2017; Bielfeld et al., 2019). آنزیم‌های ماتریکس متالوپروتئیناز خانواده‌ای از پروتئینازهای وابسته به روی بوده که توانایی تجزیه اکثر ساختارهای شناخته شده در ماتریکس خارج سلولی شامل کلاژن‌ها، پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌ها را دارند (Shibahara et al., 2005). سنتز آنزیم‌های ماتریکس متالوپروتئیناز به صورت پروآنزیم pro-MMPs، غیرفعال است و فعال شدن آنزیم‌ها تحت فرایند پروتئولیتیک در خارج سلول، درون سلول و یا در سطح سلول رخ می‌دهد (Yadav et al., 2014). MMPها و مهارکننده‌های آن‌ها نقش بزرگی در نفوذ تروفوبلاست در دیواره رحم بازی می‌کنند. تغییرات بزرگ در ساختار رحم نیازمند تغییر در عروق و ایجاد یک محیط مطلوب برای تکوین جنین است (Sosa et al., 2017). ماتریکس متالوپروتئیناز-۳ (MMP-3) و استرومیلیزین-۱ (Steomelysin-1)، در انسان به وسیله ژن MMP-3 کدگذاری می‌شوند. جایگاه کروموزومی ژن MMP-3 بر روی بازوی بلند کروموزوم شماره ۱۱ (11q22.3) قرار دارد و حاوی ۱۰ اگزون و ۹ اینترون است (Karachalios et al., 2016). MMP-3 باعث تجزیه کلاژن‌های غشاء پایه و سایر ترکیبات موجود در ماتریکس خارج سلولی می‌گردد. علاوه براین القای بیان سایر ژن‌های MMP نظیر MMP-1 و MMP-9 توسط این آنزیم صورت می‌گیرد (Teplyakov et al., 2015). MMP-3 به وسیله سلول‌های استرومایی آندومتر بیان می‌شود و در مراحل مختلف حاملگی، از جمله لانه‌گزینی جنین، هجوم تروفوبلاستیک، جفت زایی در مراحل اولیه بارداری، اتساع دهانه رحم در مراحل انتهایی بارداری و لیز غشای جنینی-مادری نقش ایفا می‌کند (Liu et al., 2020). با توجه به اینکه پروتئین ماتریکس متالوپروتئیناز نقش مهمی در فرایند لانه‌گزینی دارد پلی‌مورفیسم ژن این پروتئین در جوامع و نژادهای مختلف انسانی بررسی شده است از جمله نتیجه تحقیقات انجام گرفته در ارتباط با جمعیت تایوان نشان داد که پلی‌مورفیسم rs40401 ژن اینترلوکین-۳ با افزایش خطر سقط جنین در بیمارانی که تحت درمان عمل IVFقرار گرفته‌اند، همراه است اما با این وجود به منظور رسیدن به نتایج دقیق‌تر، به مقیاس بزرگتری از جمعیت با قومیت‌های مختلف نیاز است (Wu, Lee et al., 2019). همچنین در جمعیت مصر مطالعات نشان داد که پلی‌مورفیسم (1730+ G/A) rs4986938 ژن گیرنده استروژن-۲ و پلی‌مورفیسم rs6165 (c.919 A/G) ژن گیرنده هورمون محرکه فولیکولی با پاسخ ضعیف تخمدان به تحریک FSH در زنان تحت درمان با IVF، همراه است (Motawi et al., 2017). مطالعات زیادی در رابطه با ارتباط پلی‌مورفیسم ژن‌های مختلف در جمعیت شمال

ایران نیز صورت گرفته است که نتایج حاصل نشان دهنده وجود ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن‌های GDTM1 و GSTT1 با IVF-ET در جمعیت شمال ایران بود (Tajalli et al., 2021).

سقط جنین از شایع‌ترین علل عدم موفقیت در بارداری پس از لقاح مصنوعی و انتقال جنین است. بنابراین به منظور ارتقاء کیفیت و شانس موفقیت تکنیک لقاح مصنوعی، بررسی ژن‌های دخیل در روند لانه‌گزینی همچون ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) بسیار حیاتی است. همچنین بحث در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی و استعداد ابتلا به بعضی از بیماری‌ها از جمله مباحث پراهمیت محسوب می‌شود. بنابراین با توجه به نقش MMP-3 در فرایند لانه‌گزینی جنین، در این تحقیق به بررسی پلی‌مورفیسم ژن MMP-3 (rs632478C/A) و میزان آن در سرم با نتیجه لقاح مصنوعی و انتقال جنین پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ابتدا جهت بررسی ژنوتیپ‌ها ژنMMP-3 ، از دو گروه نمونه خون محیطی تهیه شد. هر دو گروه شامل زنان ناباروری بودند که بنا به تشخیص متخصص زنان و زایمان از روش IVF برای درمان ناباروری خود استفاده کرده بودند. گروه اول شامل ۱۰۰ زن نابارور بودند که بعد از IVF حاملگی در آنها صورت گرفته (IVF^+) و گروه دوم شامل ۱۰۰ زن نابارور بودند که بعد از IVF موفق به بارداری نشده بودند (IVF^-). با رعایت موارد و اصول اخلاقی و زیر نظر فوق تخصص ناباروری زنان، نمونه های خون افراد مورد مطالعه از موسسه درمان ناباروری مهر- رشت جمع آوری شد و با کسب رضایت کتبی از این افراد، حدود ۲ میلی‌لیتر خون محیطی از هر دو گروه تهیه شد و به منظور ممانعت از لخته شدن، نمونه‌های خون در ونوجکت‌های حاوی EDTA (EDTA Coated) نگهداری شدند. لوله‌های ونوجکت حاوی خون افراد به منظور استخراج DNA ژنومی در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد. کلیه مراحل آزمایشات و پرسشنامه با در نظر گرفتن اصول اخلاقی و زیر نظر استاد راهنما انجام شده است. این پروژه توسط شورای پژوهشی دانشگاه با شماره ۱۳۹۶/۰۵۸ تصویب و مطابق با قوانین اخلاقی انجمن پزشکی جهانی (اعلامیه هلسینکی) انجام شده است.

استخراج DNA ژنومی

استخراج DNA از نمونه خون محیطی فریز شده توسط روش بافر-دترجنت (Triton X-100) و مطابق با پروتکل انجام شد. در این پروسه خروج نمونه خون از فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد خارج شد مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر ۱ به ۱۰۰۰ میکرولیتر خون به آن اضافه شد، به مدت ۲ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ rpm قرار داده شد، مجدداً مقدار ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر ۱ به رسوب باقیمانده افزوده شد و به مدت ۲ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ rpm قرار داده شد، سپس ۴۰۰ میکرولیتر از بافر ۲، ۴۰ میکرولیتر سدیم دو دسیل سولفات (SDS ۱۰ درصد) به آن افزوده شد، به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت، سپس به ترتیب ۱۲۰ میکرولیتر محلول کلرید سدیم ۶ مولار، ۵۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن افزوده شد و به مدت ۲ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ rpm قرار داده شد و سه فاز تشکیل شد، محلول رویی جداسازی شد و ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول سرد ۱۰۰ درصد به آن افزوده شد و به مدت ۲ دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۲۰۰۰ rpm قرار داده شد، سپس محلول رویی دور ریخته شد، ۵۰ میکرولیتر آب مقطر یا بافر TE به منظور حل شدن DNA در آن، افزوده شد. برای انجام مراحل بعدی، نمونه‌های DNA باید عاری از آلودگی نسبت به RNA باشد. بدین منظور پس از تبخیر کامل الکل، مقدار ۵۰ میکرولیتر آب مقطر یا بافر TE به میکروتیوپ اضافه شد و به مدت نیم ساعت در دمای اتاق قرار داده شد تا DNA در آب حل گردد و RNA ها از بین بروند. برای بررسی کمی و کیفی خلوص DNA های استخراج شده، از ژل آگارز ۱درصد (الکتروفورز افقی) استفاده شد. DNA استخراج شده در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد. پس از انجام این مراحل محلول DNA آماده استفاده در آزمایشات مولکولی است (Gustincich et al., 1991).

انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR)

در این پژوهش برای تکثیر محدوده ژنی محتوی قطعه پلی‌مورفیک در ژن MMP-3، ۳ پرایمر شامل ۲ پرایمر Forward با توالی‌های FWD1:CCCCTGCCAAGTGGCTATCTC و FWD2: CCCCTGCCAAGTGGCTATAAA و یک پرایمر Reverse با توالی REV:ACTTTTATAGTCCTCTTGCCACC طراحی شد. طراحی پرایمر با استفاده از نرم‌افزار آنلاین Primer3 version 4.1.0 (به نشانی http://primer3.ut.ee) انجام شد. در ادامه، انجام تست Blast در سایت NCBI/Blast صورت گرفت و این اطمینان حاصل شد که آغازگرها به هیچ جایگاه غیراختصاصی در ژنوم انسان متصل نمی‌شوند. در ادامه به منظور شناسایی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها از تکنیک (ARMS-PCR) استفاده گردید. جهت بررسی جایگاه پلی‌مورفیکی rs632478 در ژن MMP-3 از واکنش ARMS-PCR استفاده گردید. مواد و غلظت‌های مورد نیاز جهت تکثیر قطعات ژنی مربوط به آلل A

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

در هر واکنش توسط ۱۰ µl از Master Mix، ۱ µl از پرایمر Forward (با غلظت ۵ pmol/µl)، ۱ µl از پرایمر Reverse (با غلظت ۵ pmol/µl)، ۴ µl از DNA استخراج شده و ۴ µl آب مقطر دیونیزه به حجم ۲۰ µl رسانیده شد. جهت تکثیر قطعه-های ژنی مربوط به آلل C هر واکنش توسط ۱۰ µl از Master Mix، ۱ µl از پرایمر Forward (با غلظت ۱۰ pmol/µl)، ۱ µl از پرایمر Reverse (با غلظت ۱۰ pmol/µl)، ۴ µl از DNA استراج شده و ۴ µl آب مقطر دیونیزه به حجم ۲۰ µl رسانیده شد. ویال نهایی درون دستگاه ترموسایکلر قرار داده شد. طی واکنش PCR، جهت بررسی پلی‌مورفیسم rs632478 در ژن MMP-3، جفت توالی پرایمر FWD1 و REV به صورت اختصاصی آلل A به طول ۳۶۶ جفت باز را تکثیر می‌کنند. همچنین جفت توالی پرایمر FDW2 و REV به صورت اختصاصی، آلل C به طول ۳۶۶ جفت باز را تکثیر می‌کنند. به علت اینکه طول محصول PCR تکثیر شده در آلل A و C مشابه هم هستند نمی‌توان از روش Multiplex استفاده کرد. پس از انجام واکنش PCR و الکتروفورز محصولات بر روی ژل آگارز ۲درصد، طبق باندهای مشاهده شده سه نوع ژنوتیپ هموزیگوت طبیعی (AA)، ژنوتیپ هتروزیگوت (AC) و ژنوتیپ هموزیگوت موتانت (CC) مشاهده شد. هر واکنش با شرایط دمایی واسرشت شدن ابتدایی در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، و در ادامه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت سازی ثانویه در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه، اتصال پرایمر به DNA در ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه، بسط به کمک پرایمر در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۰ ثانیه و یک چرخه شامل بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه و نگهداری در ۴ درجه سانتیگراد انجام شد. برای افزایش دقت، تمامی واکنش‌ها ۲ بار تکرار و در هر بار آزمایش کنترل مثبت و منفی نیز انجام شد (Zhang et al., 2020).

اندازه گیری سطح پروتئین‌های MMP-3 با روش الایزا (ELISA)

جهت بررسی سطح پروتئینی MMP-3 در سرم هر دو گروه IVF^+ و IVF^- نمونه گیر سرم تهیه و نمونه خون محیطی در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقادی ریخته شد و به مدت ۲۰-۳۰ دقیقه در دمای اتاق و یا به مدت ۱۰-۱۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت تا لخته خونی ایجاد شود. لوله‌های حاوی خون لخته شده به مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ rpm قرار داده شدند که پس از این مرحله در لوله مورد نظر دو فاز تشکیل شد و فاز رویی سرم مورد نظر از لوله خارج گردید. نمونه‌های سرم هر دو گروه تا زمان بررسی در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار داده شد. تعیین کمی غلظت MMP-3 در سرم توسط الایزا و توسط کیت الایزا (Abcam, Cambridge, UK) (Abcam Corporation, ab189572) و بر اساس دستورالعمل شرکت انجام شد.

آنالیز آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون χ^2 نرم افزار Med Calc ورژن ۱۲,۱,۴ به منظور پیش بینی ارتباط یا عدم وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP3 و موفقیت IVF انجام شد. نسبت شانس میانگین همراه با ۹۵درصد فاصله اطمینان (CI) آن ها محاسبه شد. داده‌ها با استفاده از آزمون مربع کای، آنالیز واریانس (ANOVA) و محاسبه نسبت شانس (OR) و فاصله اطمینان ۹۵ درصد (CI) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

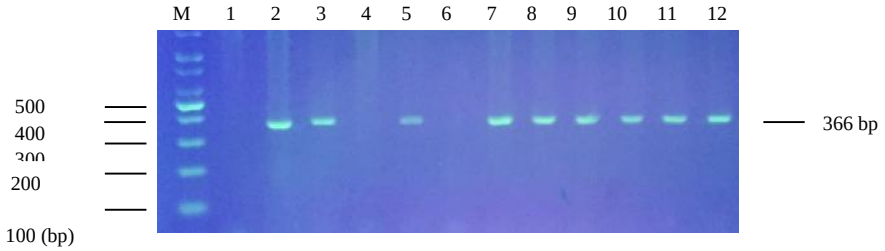
نتایج

بررسی فراوانی ژنوتیپی rs632478 ژن MMP-3

در این مطالعه، ۱۰۰ زن IVF^+ (بارداری موفق از طریق لقاح مصنوعی) و ۱۰۰ زن IVF^- (بارداری ناموفق از طریق لقاح مصنوعی) را مطابق با قوانین اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات و همچنین دانشگاه گیلان مورد بررسی قرار دادیم که مشخصات آن‌ها در جدول ۱ آورده شده شده است. جهت تعیین ژنوتیپ در پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 از تکنیک ARMS-PCR استفاده شد. در این پلی‌مورفیسم، جفت توالی پرایمر Forward1 و Reverse به صورت اختصاصی آلل طبیعی A به طول ۳۶۶ جفت باز را تکثیر می‌کنند. جفت توالی پرایمر Forward2 و Reverse به صورت اختصاصی آلل جهش یافته C به طول ۳۶۶ جفت باز را تکثیر می‌کنند که در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 در افراد IVF^+ و IVF^- مورد بررسی قرار گرفت. تمام اطلاعات مربوط به فراوانی آللی و ژنوتیپ و OR مربوط به آن (۹۵درصد CI) برای گروه‌های IVF^+ و IVF^- در جدول ۲ ارائه شده است.

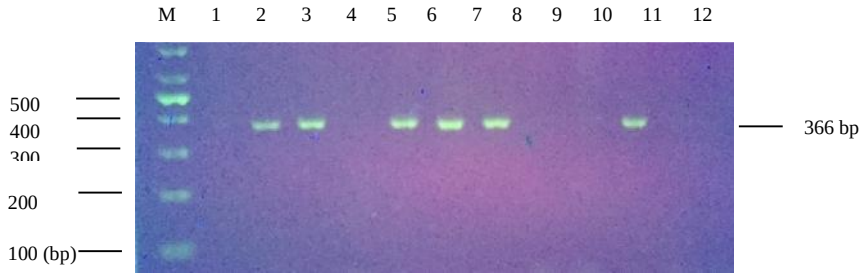
آنالیز آماری نشان می‌دهد که فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AC و CC در گروه IVF^-به ترتیب ۴۵ درصد، ۴۹ درصد و ۶ درصد و در گروه IVF^+ به ترتیب ۴۳درصد، ۴۸درصد و ۹ درصد بود. میزان χ^2= ۰/۶۵ با P= ۰/۷۲ به دست آمد. بنابراین با توجه به این‌که P>۰/۰۵ بود، آنالیز آماری نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی ژنوتیپی بین دو گروه IVF^+ و IVF^- در پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 وجود ندارد. علاوه بر این، فراوانی اللی در

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]



شکل ۱- محصول AS-PCR پلی مورفسیم rs632478 A/C بر روی ژل آگارز ۲ درصد که نشان دهنده تکثیر آلل A با استفاده از پرایمرهای Forward1 و Reverse است. M معرف مارکر مولکولی و چاهک‌های ۲، ۳، ۵ و ۷ تا ۱۲ نشان دهنده قطعه تکثیر شده هستند.

Figure 1. Product of AS-PCR of rs632478 A/C polymorphism on agarose gel 2% of which shows that allele A is amplified with Forward1 and Reverse primers. "M" represents molecular marker and 2, 3, 5 and 7-12 are amplified bands.



شکل ۲- محصول AS-PCR پلی مورفسیم rs632478 A/C بر روی ژل آگارز ۲درصد که نشان دهنده تکثیر آلل C مورد نظر با استقاده پرایمرهای Forward2 و Reverse است. M معرف مارکر مولکولی و چاهک‌های ۲، ۳، ۵، ۶، ۷ و ۱۰ نشان دهنده قطعه تکثیر شده هستند.

Figure 2. Product of AS-PCR of rs632478 A/C polymorphism on agarose gel 2% of which shows that allele C is amplified with Forward2 and Reverse primers. "M" represents molecular marker and 2, 3, 5, 6, 7 and 10 are amplified bands.

جدول ۱– مشخصات افراد دو گروه IVF^+ و IVF^- مورد مطالعه.

Table 1. Case study information for IVF^+ and IVF^- groups.

Age Average	Age Range (Year)	Number, Studied Groups
32±7	23-41	(n=100) IVF^+
32±6	24-40	(n=100) IVF^-

جدول ۲– توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 در افراد IVF^+ و IVF^-.

Table 2. Allele and genotype frequencies of MMP-3 gene rs632478 polymorphism among IVF^+ and IVF^- groups.

P[a]	(n=100) IVF^- (%) n	(n=100) IVF^+ (%) n	
0.59	134 (67)	139(69.5)	Allele A
	66 (33)	61(30.5)	C
0.72	43 (43)	45 (45)	Genotypes AA
	48(48)	49 (49)	AC
	9(9)	6 (6)	CC

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

گروه IVF^-، برای آلل A و C به ترتیب برابر با ۶۷ درصد و ۳۳ درصد و در گروه IVF^+ فراوانی آلل A و C به ترتیب برابر با ۶۹/۵ درصد و ۳۰/۵ درصد نشان داده شد. میزان χ^2= ۰/۲۸ و P =۰/۵۹ به‌دست آمد. نتایج نشان می‌دهد که تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی آللی پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 بین دو گروه وجود ندارد.

نتایج بررسی میزان سرمی MMP-3

همچنین غلظت سرمی MMP-3 توسط الایزا بررسی شد. میزان (میانگین± انحراف معیار) پروتئین MMP-3 در سرم افراد IVF^+ برابر با ۶۲/۱۴±۸۲/۶۴ ng/ml و در سرم افراد IVF^- برابر با ۴۵/۱۱±۲۸/۹۵ ng/ml بدست آمد. با توجه به اینکه P=۰/۰۰۰۰۰۲ شد، لذا ارتباط معنی‌داری بین غلظت سرمی MMP-3 دو گروه IVF^+ و IVF^- مشاهده شد (جدول ۳، شکل ۳). در افراد IVF^- در سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC، میزان سرمی MMP-3 اندازه‌گیری شد که به ترتیب مقادیر، ۸۲ng/ml ، ۱۳±۸۶/ ۴۳ng/ml، ۶۵/۱۵±۳۳/ و ۷±۳۳/۴۶ng/ml به دست آمد. مقایسه آماری سه گروه ژنوتیپی AA، AC و CC نشان داد که بین میزان غلظت MMP-3 در افراد دارای ژنوتیپ AA در مقایسه با ژنوتیپ AC (P= ۰/۰۰۸)، ژنوتیپ AA در مقایسه با ژنوتیپ CC (P=۰/۰۰۰۰۰۰۸) و ژنوتیپ AC در مقایسه با ژنوتیپ CC (P=۰/۰۰۰۳) ارتباط معنی‌داری وجود دارد (جدول ۴، شکل ۴). بنابراین افراد با ژنوتیپ CC میزان غلظت سرمی MMP-3 پایین تری نسبت به ژنوتیپ های AA و AC داشته و ژنوتیپ CC مرتبط با عدم موفقیت نتیجه لقاح مصنوعی هستند.

بحث و نتیجه‌گیری

ناباروری یک مشکل فردی و اجتماعی محسوب می‌شود. طبق تخمین‌های بین المللی، شیوع ناباروری حدود ۹-۱۵ درصد است (Lakatos et al., 2017). در طی چند دهه گذشته، انجام تکنیک‌های ART، پیشرفت درمان ناباروری منجر به افزایش تعداد حاملگی در زوج‌های نابارور شده است (Gdańska et al., 2017). IVF یکی از شناخته شده‌ترین روش‌های کمک باروری است که با استفاده از ترکیبی از داروها و روش‌های آزمایشگاهی به منظور بارورسازی سلول تخم توسط اسپرم و کمک به لانه‌گزینی تخم لقاح یافته درون رحم عمل می‌کند (Cunningham, 2017). امروزه، ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی و استعداد ابتلا به بیماری‌ها بسیار مورد توجه قرار گرفته است. تغییرات ژنتیکی که در بیش از یک درصد از جمعیت رخ می‌دهند را چند شکلی یا پلی‌مورفیسم می‌گویند (Pereza et al., 2013).

ژن‌های زیادی در لانه‌گزینی جنین نقش دارند که یک گروه از آن‌ها MMPs است. حمله تروفوبلاست به استرومای دسیجوا نیازمند تخریب پروتئین‌های ماتریکس خارج سلولی توسط آنزیم-های پروتئولیتیک از جمله MMPs است (Chen & Khalil, 2017). اکثر MMPها به عنوان پیش آنزیم ترشح می‌شوند که در هنگام برش توسط پروتئینازهای خارج سلولی فعال می‌شوند. MMPها دارای نقش کلیدی در فرایندهای فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی همچون سرطان‌زایی و شرایط التهابی دارند و همچنین در طول قاعدگی، تخمک گذاری، لانه‌گزینی و زایمان در اندام‌های تولید مثلی فعال هستند (Lahav-Baratz et al., 2004). با توجه به اهمیت MMP ها در لانه‌گزینی جنین از یک طرف و از طرف دیگر اهمیت پلی‌مورفیسم‌ها که نشان دهنده یک بیماری یا موفقیت یک فرایند باشد، به بررسی MMP در سرم و اهمیت رابطه آن با IVF در این مطالعه پرداخته شد.

نتیجه مطالعه ای بر روی جمعتی از ایران در رابطه با ارتباط پلی-مورفیسم تک نوکلئوتیدی 1562 C/T- ژن MMP-9 و نتیجه IVF و انتقال جنین در دو گروه IVF^+ و IVF^- با استفاده از تکنیک AS-PCR نشان داد که بین دو گروه از نظر فراوانی ژنوتیپی و آللی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و نتیجه گرفته شد که احتمالا بین پلی‌مورفیسم 1562 C/T- ژن MMP-9 با نتیجه لقاح مصنوعی و انتقال جنین که تحت عنوان IVE-ET شناخته می شوند در این جمعیت ارتباطی وجود ندارد (Shabanipour et al., 2015). در ارتباط با پلی‌مورفیسم MMP-3 جایگزینی سیتوزین C به جای A باعث افزایش میل ناحیه پروموتر نسبت به تقویت کننده ها می‌شود و این افزایش میل، باعث افزایش بیان MMP-3 می‌گردد (Balkhi et al., 2020). همسو با نتایج سایر محققان در بررسی حاضر افراد با ژنوتیپ CC میزان غلظت سرمی MMP-3 پایین‌تری نسبت به ژنوتیپ‌های AA و AC نشان دادند و ژنوتیپ CC مرتبط با عدم موفقیت نتیجه لقاح مصنوعی بودند. همچنین ارتباط معنی‌داری بین غلظت سرمی MMP-3 دو گروه IVF^+ و IVF^- مشاهده گردید (Shabanipour et al., 2015). دیگر محققین گزارش کردند که MMP-9 می‌تواند به عنوان پیش بینی کننده نتیجه IVF موفقیت‌آمیز (حاملگی) باشد (Horka et al., 2012). نتیجه تحقیقات بیشتر در این زمینه در سال ۲۰۱۵ نشان داد که MMP-9 و MMP-2 در آندومتر رحم بیماران نابارور در طول فاز پذیرش چرخه طبیعی قاعدگی پیش از فرایند IVF بیان می‌شوند، با این حال هیچ ارتباطی بین بیان این مولکول‌ها و نتایج حاصل از IVF یافت نشد (Maia-Filho et al., 2015). نتیجه تحقیقات دیگری بر روی ۲۶۶ نوع SNP از ۲۳ ژن MMP نشان داد که واریانت‌های ژنتیکی

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

جدول ۳- نتایج حاصل از غلظت پروتئین MMP-3 در دو گروه IVF^+ و IVF^-.

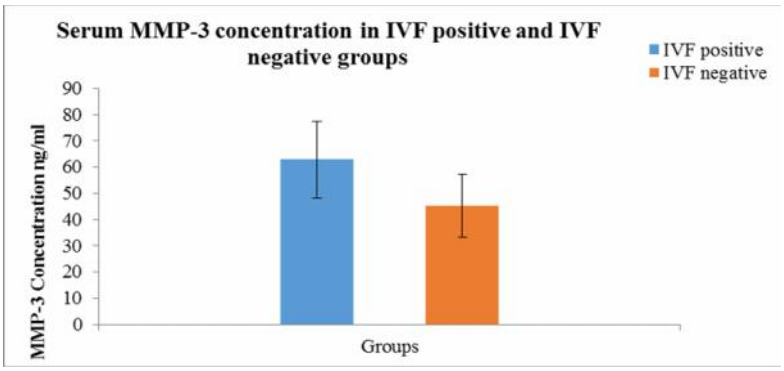
Table 3. MMP-3 protein serum concentratiosn in IVF^+ and IVF^- groups.

IVF^+	IVF^-	
62.82 ng/ml	45.28 ng/ml	Average
14.64	11.95	SD
0.000002	0.000002	*P*-Value

جدول ۴- مقایسه غلظت سرمی MMP-3 در سه ژنوتیپ مختلف در گروه IVF^-.

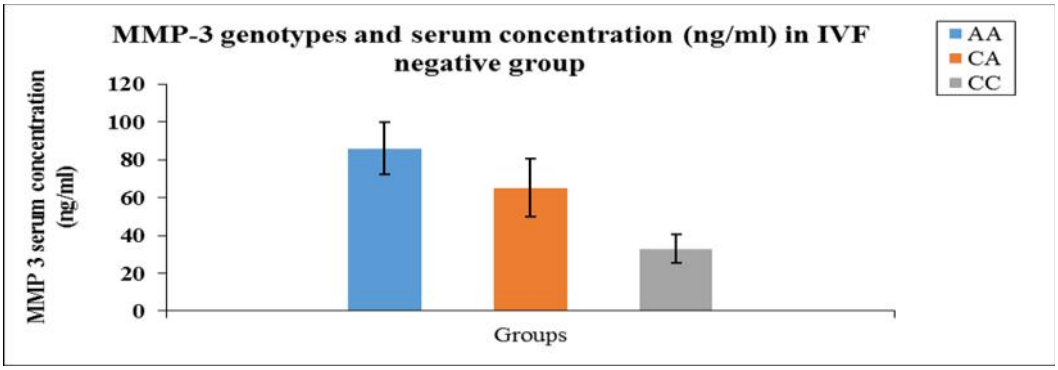
Table 4. Comparison of MMP-3 serum concentrations in three genotypes in IVF^- group.

CC	AC	AA	
33	65.33	86	ng/ml Average
7.46	15.43	13.82	SD
0.008	0.008	AA v AC	
<0.00001	<0.00001	AA v CC	*P*-Value
<0.0001	<0.0001	AC v CC	



شکل ۳- نمودار مقایسه غلظت MMP-3 در سرم افراد IVF^+ و IVF^-. افزایش قابل توجهی در سطح سرم MMP-3 در نمونه‌های گروه IVF^+ در مقایسه با گروه IVF^- مشاهده شده است.

Figure 3. Comparison of MMP-3 concentrations in the serum of IVF^+ and IVF^- subjects. Considerable increase in MMP-3 levels has been detected among IVF^+ respect to the IVF^- groups.



شکل ۴- نمودار مقایسه غلظت سرمی MMP-3 در ژنوتیپ های مختلف در گروه IVF^-.

Figure 4. Comparison of MMP-3 serum concentration in different genotypes IVF^- group.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

ژن‌های MMP ممکن است به عنوان فاکتور خطر سبب افزایش میزان بروز سرطان تخمدان در جمعیت‌های مختلف شوند. در مقابل، مشاهده شد که rs9787933 ژنMMP-20 اثر محافظتی بر روی خطر ابتلا به سرطان تخمدان دارد (Wang et al., 2015). مطالعه دیگری نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم 267 G/A ژن MMP-3 با مرحله پیشرفته آندومتریوز و ناباروری مرتبط به آندومتریوز ارتباط معنی‌داری دارد (Cardoso et al., 2019). نتیجه مطالعه بر روی ۳۷۵ زن کره‌ای در سال ۲۰۱۹ نشان داد که پلی‌مورفیسمrs2509013 C/T ژنMMP-8 و پلی‌مورفیسمrs3809017 T/C ژن MMP-27، هم به صورت انفرادی و هم به صورت مشترک به طور قابل توجهی با خطر از دست دادن مکرر حاملگی همراه است (Park et al., 2019). نتایج مطالعات دیگر نشان داد که پلی‌مورفیسم C-799T در پروموتر ژن MMP-8 می‌تواند یک قاکتور خطر برای سقط جنین اولیه باشد. از این پلی‌مورفیسم می‌توان به عنوان یک نشانگر ژنتیکی برای لانه‌گزینی های ناموفق استفاده کرد (Costa-Junior et al., 2013). همسو با نتایج محققان پیشین، در مطالعه ی حاضر نیز نتایج ما نشان داد که تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی ژنوتیپی و توزیع فراوانی آللی بین دو گروه IVF^+ و IVF^- در پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 وجود ندارد. محققین پیشنهاد کردند که پلی‌مورفیسم (2252070) -g. 77 A>G ژن MMP-13ممکن است قابلیت از دست دادن لانه‌گزینی را افزایش دهد، که بیان می‌کند این پلی‌مورفیسم می‌تواند یک فاکتور بالقوه تشخیصی برای از دست دادن لانه‌گزینی اولیه باشد (de Araujo Munhoz et al., 2019). نشان داده شده است که پلی‌مورفیسم موقعیت 1607-در ناحیه پروموتر ژن MMP-1 ممکن است با سقط جنین در ارتباط باشد، در حالیکه ممکن است پلی‌مورفیسم C-1562T در ناحیه پروموتر ژن MMP-9 ارتباطی با از دست دادن ایمپلنت نداشته باشد (Dos Santos et al., 2004). نتایج مطالعات دیگر نشان داد که SNP های (rs1799750) ژن MMP-1 و (rs11225395) ژن MMP-8 به طور جداگانه بر روی از لانه‌گزینی جنین تأثیر می گذارند. علاوه بر این هاپلوتایپ (rs11225395) ژنMMP-8 ، (rs1144393) ژنMMP-1 ، (rs1799750) ژن MMP-1 و (rs3025058) ژنMMP-3 یک فاکتور خطر سقط جنین osseointegrated است (de Araujo Munhoz et al., 2019). نتایج تجزیه و تحلیل مطالعه محققان دیگر نشان داد که پلی‌مورفیسم این نتایج نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم در پروموتر ژن MMP-1 می‌تواند یک عامل خطر برای سقط جنین باشد (Godoy Santos et al., 2008).

همچنین پیشنهاد شده است که بین پلی‌مورفیسم‌های دو ژن VEGF (+405 G/C) و TNFα (-308 A/G) و میزان موفقیت لانه‌گزینی جنین در طی لقاح مصنوعی، ارتباط معناداری وجود دارد (Boudjenah et al., 2014). مطالعه‌ای در زمینه تاثیر انواع پلی‌مورفیسم‌های کروموزومی بر روی نتیجه حاصل از درمان از طریق IVF و انتقال جنین توسط دیگر محققین انجام شد و نتیجه حاصل نشان داد که این پلی‌مورفیسم‌ها تاثیری در نتیجه فرایند درمان از طریق IVF- انتقال جنین ندارند (Hong et al., 2011). نتیجه تحقیقات انجام شده در جمعیت مصر نشان داد که پلی‌مورفیسم rs4986938 (+1730 G/A) ژن گیرنده استروژن-۲ (ESR-2) و پلی‌مورفیسم (c.919 A/G) rs6165 ژن گیرنده هورمون محرکه فولیکولی Follicle Stimulating Hormone Receptor (FSHR) با پاسخ ضعیف تخمدان به تحریک FSH در زنان تحت درمان با IVF، همراه است (Motawi et al., 2017) و نتایج تحقیقات Motawi و همکارانش در راستای تایید نتایج (Gleicher et al., 2010) و (Broer et al., 2013) است. محققین در سال ۲۰۱۵ در نتیجه مطالعه بر روی پلی‌مورفیسم ژن گیرنده استروژن-α (ESR1) نشان دادند که بین پلی‌مورفیسم rs9340799 و آندومتریوز زنان نابارور و همچنین زنان تحت درمان با IVF که لانه‌گزینی بلاستوسیست در آنان اتفاق نیفتاد، ارتباط وجود دارد (Paksulin et al., 2013).

مطالعه ای نشان داد که SNP های مورد مطالعه در یک جمعیت بزرگ از بیماران نابارور که تحت درمان عمل IVF قرار گرفته‌اند، هیچ تاثیر منفرد یا چندگانه بر تست حاملگی مثبت، بارداری بالینی، لانه‌گزینی جنین، تولد زنده یا از دست دادن حاملگی ندارد (Patounakis et al., 2016). مطالعات زیادی در رابطه با ارتباط پلی‌مورفیسم ژن‌های مختلف در جمعیت شمال ایران صورت گرفته است. نتیجه مطالعات گروهی از محققین نشان داد که بین پلی‌مورفیسم ژن‌های GDTM1 و GSTT1 با IVF-ET در جمعیت شمال ایران ارتباط معنی‌داری وجود دارد (Karimlo et al., 2015). نتیجه مطالعه محققین دیگر نیز در رابطه با ارتباط پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن‌های MMP-1, -2, -3, -4 در سقط خود به خودی مکرر ایدیوپاتیک Idiopathic recurrent spontaneous abortion نشان داد که پلی‌مورفیسم 735 C/T- پروموتر ژن MMP-2 و پلی‌مورفیسم-1562 C/T پروموتر ژن MMP-9 با IRSA در زنان ارتباط معنی‌دار دارد (Pereza et al., 2013).

مطالعات پیشین نشان داد که پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 و پلی‌مورفیسم rs1799750 ژن MMP-1 با خطر

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]
[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]
[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

ایجاد سرطان پستان مرتبط هستند. همچنین نشان داده شده که غلظت سرمی MMP1 و MMP-3 با خطر ابتلا به سرطان پستان مرتبط است. پیشنهاد شده است که آلل 2G در MMP-1 و آلل A در MMP-3 ممکن است با خطر سرطان پستان مرتبط باشند (Balkhi et al., 2020). مطالعات نشان داد که پلی‌مورفیسم rs632478 ژن MMP-3 مکن است به قابلیت به تحلیل رفتن دیسک کمک کند (Saberi et al., 2018).

مطالعه ای نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین سطوح بیان MMP-3، MMP-9 و TIMP-1 با خارج کردن لوله فالوپ در طول بیماری نایسریا گونورهآ Neisseria gonorrhoeae مشاهده نشد. در مقابل، در رابطه با MMP-8 افزایش معنی‌داری در سطح بیان آن مشاهده شد، که ممکن است به آسیب لوله فالوپ کمک کند (Juica et al., 2017). با مطالعه زنان با سابقه سقط مکرر جنین گزارش شد که سطح سرمی MMP-1، MMP-9 و TIMP-1 بین افراد با سابقه RPL و بدون سابقه RPL تفاوتی یافت نشد اما سطح سرمی MMP-3 در افراد با سابقه RPL در مقایسه با افراد بدون سابقه RPL در هفته‌های ۶ تا ۸ حاملگی بالاتر مشاهده شد و این در حالی است که سطح TIMP-2 سرم در زنان با سابقه RPL در تمام دوره حاملگی بالاتر مشاهده شد (Anumba et al., 2010). نتیجه تحقیقاتی نشان داد که سطح MMP-2 در مایع فولیکولی در طی IVF/ICSI با میزان بلوغ اووسیت‌ها ارتباط معنی دارد. علاوه بر این مشاهده شد که فعالیت MMP-2 با میزان بالای لقاح ارتباط شدیدی دارد. همچنین نشان داده شد که فعالیت MMP-2 در مایع فولیکولی در چرخه‌های IVF/ICSI ممکن است یک نشانگر قابل اعتماد از میزان بلوغ اووسیت باشد (Yang et al., 2015).

نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد که واریانت ژن (rs632478) MMP-3 با میزان موفقیت نتیجه IVF در جمعیت در شمال ایران ارتباط ندارد، ولی میزان سرمی MMP-3 مستقل از ژنوتیپ می‌تواند موثر باشد. ضمنا نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ژنوتیپ CC در ارتباط با کاهش میزان سرمی MMP-3 بوده و لذا با عدم موفقیت نتیجه لقاح مصنوعی و انتقال جنین مرتبط است. نتایج به دست آمده در جوامع آماری محدود صورت گرفته و تایید نتایج ذکر شده نیازمند به بررسی و مطالعه در جوامع بزرگتر است زیرا ممکن است با تغییر خزانه ژنتیکی و یا افزایش تعداد نمونه‌ها، نتایج دچار تغییر شوند. علاوه بر این‌ها عوامل دیگر از قبیل موقعیت جغرافیایی، سن، نژاد و عوامل محیطی می‌توانند در نتایج به دست آمده تاثیر گذار باشند. نتیجه‌گیری می‌شود که بین پروموتر پلی‌مورفیسم MMP-3 بین گروه‌های IVF^+ و IVF^- تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، اما کاهش قابل توجهی در سطح سرمی MMP-3 در گروه IVF^- در مقایسه با گروه IVF^+ مشاهده شد. همچنین نتیجه‌گیری می‌شود که ژنوتیپ CC با کاهش غلظت سرمی MMP-3 همراه است و ممکن است با نتیجه IVF-ET مرتبط باشد. برای تأیید نتایج، مطالعات وسیع‌تر با بیماران بیشتر و کنترل نیاز است.

سپاسگزاری

در پایان لازم است از تمام بانوانی که در انجام این مطالعه همکاری داشتند تشکر شود. این طرح پژوهشی در دانشگاه گیلان و با همکاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات- تهران و موسسه درمان ناباروری مهر- رشت انجام شد. از تمام افرادی که ما را در انجام این طرح یاری نمودند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌کنیم.

REFERENCES

Anumba, D.O., El Gelany, S., Elliott, S.L. & Li, T.C. 2010. Circulating levels of matrix proteases and their inhibitors in pregnant women with and without a history of recurrent pregnancy loss. Reproductive Biology and Endocrinology 16: 8-62.

Balkhi, S., Mashayekhi, F., Salehzadeh, A. & Saedi, H.S. 2020. Matrix metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 gene variations affect MMP-1 and-3 serum concentration and associates with breast cancer. Molecular Biology Reports 47: 9637-9644.

Bielfeld, A.P., Pour, S.J., Poschmann, G., Stühler, K., Krüssel, J.S. & Baston-Büst, D.M. 2019. A proteome approach reveals differences between fertile women and patients with repeated implantation failure on endometrial level. Does hCG render the endometrium of RIF patients? International Journal of Molecular Sciences 20: 425.

Boudjenah, R., Molina-Gomes, D., Torre, A., Boitrelle, F., Taieb, S., Dos Santos, E. & Vialard, F. 2014. Associations between individual and combined polymorphisms of the TNF and VEGF genes and the embryo implantation rate in patients undergoing in vitro fertilization (IVF) programs. PloS One 9: e108287.

Broer, S.L., Dólleman, M., Van Disseldorp, J., Broeze, K.A., Opmeer, B.C., Bossuyt, P.M. & Dólleman, M. 2013. Prediction of an excessive response in in vitro fertilization from patient characteristics and ovarian reserve tests and comparison in subgroups: an individual patient data meta-analysis. Fertility and Sterility 100: 420-429.

Cardoso, J.V., Machado, D.E., da Silva, M.C., Berardo, P.T., Ferrari, R., Abrão, M.S. & Perini, J.A. 2019. Matrix metalloproteinases 3 polymorphism increases the risk of developing advanced endometriosis and infertility: A case-control study. European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology X 3: 100041.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]

[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]

[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]

Chen, J. & Khalil, R.A. 2017. Matrix metalloproteinases in normal pregnancy and preeclampsia. Progress in Molecular Biology and Translational Science 148: 87-165.

Costa-Junior, F.R., Alvim-Pereira, C.C., Alvim-Pereira, F., Trevilatto, P.C., de Souza, A.P. & Santos, M.C.L. 2013. Influence of MMP-8 promoter polymorphism in early osseointegrated implant failure. Clinical Oral Investigations 17: 311-316.

Cunningham, J. 2017. Infertility: A primer for primary care providers. Journal of the American Academy of Physician Assistants 30:19-25.

de Araujo Munhoz, F.B., Branco, F.P., Rodrigues Souza, R.L. & dos Santos, M.C.L.G. 2019. MMP-13 Polymorphism as a Risk Factor in Implant Loss. International Journal of Oral & Maxillofacial Implants 34: 768-771.

de Araujo Munhoz, F.B., Branco, F.P., Souza, R.L.R. & Dos Santos, M.C.L.G. 2018. Matrix metalloproteinases gene polymorphism haplotype is a risk factor to implant loss: A case-control study. Clinical Implant Dentistry and Related Research 20: 1003-1008.

Dos Santos, M.C.L.G., Campos, M.I.G., Souza, A.P., Scarel-Caminaga, R.M., Mazzonetto, R. & Line, S.R.P. 2004. Analysis of the transforming growth factor-β1 gene promoter polymorphisms in early osseointegrated implant failure. Implant Dentistry 13: 262-269.

Gdańska, P., Drozdowicz-Jastrzębska, E., Grzechocińska, B., Radziwon-Zaleska, M., Węgrzyn, P. & Wielgoś, M. 2017. Anxiety and depression in women undergoing infertility treatment. Ginekologia Polska 88: 109-112.

Gleicher, N., Weghofer, A. &Barad, D.H. 2010. Discordances between follicle stimulating hormone (FSH) and anti-Müllerian hormone (AMH) in female infertility. Reproductive Biology and Endocrinology 8: 64.

Godoy-Santos, A.L., D'Elia, C.O., Teixeira, W.J., Cabrita, H.B. & Camanho, G.L. 2009. Aseptic loosening of total hip arthroplasty: preliminary genetic investigation. The Journal of Arthroplasty 24: 297-302.

Gustincich, S., G. Manfioletti, G. Del Sal, C. Schneider and P. Carninci 1991. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. Biotechniques 11: 298-302.

Hong, Y., Zhou, Y.W., Tao, J., Wang, S.X. & Zhao, X.M. 2011. Do polymorphic variants of chromosomes affect the outcome of in vitro fertilization and embryo transfer treatment? Human Reproduction (Oxford, England) 26: 933-940.

Horka, P., Malickova, K., Jarosova, R., Janatkova, I., Zima, T. &Kalousova, M. 2012. Matrix metalloproteinases in serum and the follicular fluid of women treated by in vitro fertilization. Journal of Assisted Reproduction and Genetics 29: 1207-1212.

Hung, Y.C., Kao, C.W., Lin, C.C., Liao, Y.N., Wu, B.Y., Hung, I.L. & Hu, W.L. 2016. Chinese herbal products for female infertility in Taiwan: A population-based cohort study. Medicine 95: e3075.

Juica, N.E., Rodas, P.I., Solar, P., Borda, P., Vargas, R., Muñoz, C,. Velasquez, L.A. 2017. Neisseria gonorrhoeae Challenge Increases Matrix Metalloproteinase-8 Expression in Fallopian Tube Explants. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology 7: 399.

Karachalios, C., Bakas, P., Kaparos, G., Demeridou, S., Liapis, I., Grigoriadis, C. & Liapis, A. 2016. Matrix metalloproteinase-3 gene promoter polymorphisms: A potential risk factor for pelvic organ prolapse. Biomedical Reports 5: 337-343.

Karimlo, F.K., Mashayekhi, F., Sorouri, Z.Z., Bahador, M.H. &Salehi, Z. 2015. Association of GSTM1 and GSTT1 gene polymorphisms and in-vitro fertilisation outcome in a population in northern Iran. Journal of Obstetrics and Gynaecology 35: 46-48.

Kitchen, H., Aldhouse, N., Trigg, A., Palencia, R. & Mitchell, S. 2017. A review of patient-reported outcome measures to assess female infertility-related quality of life. Health and Quality of Life Outcomes 15: 86.

Lahav-Baratz, S., Shiloh, H., Koifman, M., Kraiem, Z., Wiener-Megnazi, Z., Ishai, D. & Dirnfeld, M. 2004. Early embryo-endometrial signaling modulates the regulation of matrix metalloproteinase-3. Fertility and Sterility 82: 1029-1035.

Lakatos, E., Szigeti, J.F., Ujma, P.P., Sexty, R. & Balog, P. 2017. Anxiety and depression among infertile women: a cross-sectional survey from Hungary. BMC Women's Health 17: 48.

Liu, X., J. Zhao, X. Luan, S.Li, J. Zhai, J. Liu and Y. Du 2020. SPARCL1 impedes trophoblast migration and invasion by down-regulating ERK phosphorylation and AP-1 production and altering EMT-related molecule expression. Placenta 89: 33-41.

Maia-Filho, V.O., Rocha, A.M., Ferreira, F.P., Bonetti, T.C., Serafini, P. & Motta, E.L. 2015. Matrix metalloproteinases 2 and 9 and e-cadherin expression in the endometrium during the implantation window of infertile women before in vitro fertilization treatment. Reproductive Sciences (Thousand Oaks, Calif.) 22: 416-422.

Matzuk, M.M. & Lamb, D.J. 2008. The biology of infertility: research advances and clinical challenges. Nature Medicine 14: 1197-1213.

Motawi, T., Rizk, S.M., Maurice, N.W., Maged, A.M., Raslan, A.N. &Sawaf, A.H. 2017. The role of gene polymorphisms and AMH level in prediction of poor ovarian response in Egyptian women undergoing IVF procedure. Journal of Assisted Reproduction and Genetics 34: 1659-1666.

Park, H.S., Ko, K.H., Kim, J.O., An, H.J., Kim, Y.R., Kim, J.H. & Kim, N.K. 2019. Association study between the polymorphisms of matrix metalloproteinase (MMP) genes and idiopathic recurrent pregnancy loss. Genes 10: 347.

Paskulin, D.D., Cunha-Filho, J.S., Paskulin, L.D., Souza, C.A. & Ashton-Prolla, P. 2013. ESR1 rs9340799 is associated with endometriosis-related infertility and in vitro fertilization failure. Disease Markers 35: 907-913.

Patounakis, G., Bergh, E., Forman, E.J., Tao, X., Lonczak, A., Franasiak, J.M. & Scott, R.T.Jr. 2016. Multiple thrombophilic single nucleotide polymorphisms lack a significant effect on outcomes in fresh IVF cycles: an analysis of 1717 patients. Journal of Assisted Reproduction and Genetics 33: 67-73.

Pereza, N., Volk, M., Zrakić, N., Kapović, M., Peterlin, B. & Ostojić, S. 2013. Genetic variation in tissue inhibitors of metalloproteinases as a risk factor for idiopathic recurrent spontaneous abortion. Fertility and Sterility 99: 1923-1929.

Plaseska-Karanfilska, D., Noveski, P., Plaseski, T., Maleva, I., Madjunkova, S. & Moneva, Z. 2012. Genetic causes of male infertility. Balkan Journal of Medical Genetics 15: 31-34.

Saberi, A., Salehi, Z., Naderinabi, B., Ansari, S. H. & Mashayekhi, S. 2018. Genetic dimension of intervertebral disc degeneration: polymorphism of matrix metalloproteinase 1 and 3 in the north Iranian population. Turk Neurosurg 28: 447-453.

Shabanipour, S., Mashayekhi, F., Bahadori, M.H. & Soruri, Z.Z. 2015. The relationship between MMP-9 promoterpolymorphism and IVF outcome. Cellular and Molecular Biology 61: 64-67.

Shibahara, H., Suzuki, T., Ayustawati, Kikuchi, K., Hirano, Y. & Suzuki, M. 2005. Serum matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase concentrations in infertile women achieved pregnancy following IVF-ET. American Journal of Reproductive Immunology 54: 186-192.

Sosa, E.Y., Flores-Pliego, A., Espejel-Nuñez, A., Medina-Bastidas, D., Vadillo-Ortega, F., Zaga-Clavellina, V. & Estrada-Gutierrez, G. 2017. New insights into the role of matrix metalloproteinases in preeclampsia. International Journal of Molecular Sciences 18: 1448.

Suzuki, M. 2014. In vitro fertilization in Japan: Early days of in vitro fertilization and embryo transfer and future prospects for assisted reproductive technology. Proceedings of the Japan Academy, Series B 90: 184-201.

Tajalli, S., Mashayekhi, F., Salehi, Z., Arefi, S. & Sasani, S. T. 2021 Association of hTERT SNP (rs2736100) with implantation failure after *in vitro* fertilization and embryo transfer (IVF-ET). British Journal of Biomedical Science 78: 41-43.

Teplyakov, A.T., Berezikova, E.N., Shilov, S.N., Grakova, E.V., Torim, Y.Y., Efremov, A.V. & Karpov, R.S. 2015. Assessment of the role of matrix metalloproteinase-3 gene polymorphism in the development of chronic heart failure. Terapevticheskii Arkhiv 87: 8-12.

Wang, Y., Ye, Y., Lin, J., Meyer, L., Wu, X., Lu, K. & Liang, D. 2015. Genetic variants in matrix metalloproteinase genes as disposition factors for ovarian cancer risk, survival, and clinical outcome. Molecular Carcinogenesis 54: 430-439.

Wu, C.H., Lee, T.H., Yang, S.F., Tsao, H.M., Chang, Y.J., Chou, C.H. & Lee, M.S. 2019. Interleukin-3 polymorphism is associated with miscarriage of fresh in vitro fertilization cycles. International Journal of Environmental Research and Public Health 16: 995.

Yadav, L., Puri, N., Rastogi, V., Satpute, P., Ahmad, R. & Kaur, G. 2014. Matrix metalloproteinases and cancer-roles in threat and therapy. Asian Pac J Cancer Prev 15: 1085-1091.

Yang, W.J., Liu, F.C., Hsieh, J.S., Chen, C.H., Hsiao, S.Y. & Lin, C.S. 2015. Matrix metalloproteinase 2 level in human follicular fluid is a reliable marker of human oocyte maturation in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection cycles. Reproductive Biology and Endocrinology 13: 102.

Zhang, L., Zhang, Z., Wang, F., Tian, X., Ji, P. & Liu, G. 2017. Effects of melatonin administration on embryo implantation and offspring growth in mice under different schedules of photoperiodic exposure. Reproductive Biology and Endocrinology 15: 78.

Zhang, S., Y. Cai, J. Zhang, X. Liu, L.He, L. Cheng, K. Hua, W. Hui, J. Zhu & Y. Wan 2020. Tetra-primer ARMS-PCR combined with GoldMag lateral flow assay for genotyping: simultaneous visual detection of both alleles. Nanoscale 12: 10098-10105.

Zhao, Y., Brezina, P., Hsu, C.C., Garcia, J., Brinsden, P.R. & Wallach, E. 2011. In vitro fertilization: four decades of reflections and promises. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects 1810: 843-852.

****

How to cite this articl

Meraji Masouleh Moghaddam, M., Mashayekhi, F., Zahiri, Z. & Eidi, A. 2022. Analysis of the association of M MP-3 promoter polymorphism and its serum concentration with in vitro fertilization and embryo transfer outcome. Nova Biologica Reperta 8: 242-252. (In Persian).

معراجی ماسوله مقدم، م.، مشایخی، ف.، ظهیری، ز. و عیدی، ا. ۱۴۰۰. بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم پروموتر MMP-3 و غلظت سرمی آن با نتیجه لقاح آزمایشگاهی و انتقال جنین. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۸: ۲۵۲-۲۴۲.

[Downloaded from c4i2016.khu.ac.ir on 2024-04-16]

[DOR: 20.1001.1.24236330.1400.8.4.6.1]

[DOI: 10.52547/nbr.8.4.242]