گزارش کوتاه

مجله دانشگاه علوم پزشکی بابل
سال ۱۳۹۹، دوره ۲۲، صفحه ۱۸۰-۱۷۵

بررسی همراهی چند شکلی rs1736933 بالا دست ژن HLA-G با اختلال سقط مکرر

زهرا نجفی (MSc)[۱]، محمد خلج کندری (PhD)[۱*]، محمدعلی حسین پور فیضی (PhD)[۱]، شمسی عباسعلیزاده (MD)[۲]

۱-گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲-گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۸/۸/۲، اصلاح: ۹۸/۱۰/۲۵، پذیرش: ۹۸/۱۱/۱۲

خلاصه

سابقه و هدف: مطالعات حاکی از آن است که HLA-G در حفاظت جنین در برابر سیستم ایمنی مادر نقش دارد و پلی مورفیسم های بالادست این ژن احتمالاً با تاثیر بر بیان آن، بر موفقیت حاملگی تاثیر می گذارد. مطالعه حاضر با هدف بررسی همراهی پلی مورفیسم rs1736933 بالا دست ژن HLA-G با اختلال سقط مکرر خودبخودی در جمعیت زنان استان آذربایجان شرقی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد- شاهدی بر روی ۸۰ زن دارای حداقل یک فرزند و بدون هرگونه سابقه سقط و ۱۰۰ زن دارای حداقل دو سابقه سقط مکرر خودبخودی پس از تایید متخصص زنان و زایمان انجام شد. مقدار ۲ میلی لیتر خون از افراد شرکت کننده اخذ و پس از استخراج DNA، بخشی از پروموتر ژن HLA-G توسط PCR تکثیر و به وسیله الکتروفورز روی ژل آگارز بررسی شد. محصولات PCR تعیین توالی و ژنوتیپ افراد مشخص شد. فراوانی های آللی و ژنوتیپی گروه های بیمار و کنترل محاسبه و باهم مقایسه شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ های CC، CA، AA در گروه بیمار به ترتیب ۵۵ و ۳۷ و ۸ درصد و در گروه کنترل ۳۷/۷۵ و ۴۱/۲۵ و ۲۰ درصد بدست آمد. مقایسه فراوانی های ژنوتیپی بین دو گروه نشان داد که ژنوتیپ هموزیگوت CC با سقط مکرر همراهی دارد (p=۰/۰۱۵). همچنین، بررسی آماری حاکی از تفاوت معنی دار فراوانی های آللی بین دو گروه بود (p=۰/۰۱۹).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که چند شکلی rs1736933 واقع در بالادست ژن HLA-G با بیماری سقط مکرر در جمعیت زنان همراهی دارد.

واژه‌های کلیدی: سقط مکرر، پلی مورفیسم، HLA-G، مطالعات همراهی.

مقدمه

سقط مکرر به معنی حداقل دو الی سه بار سقط خودبخودی در هفته ۲۰ بارداری یا تولد جنینی با وزن کمتر از ۵۰۰ گرم است (۱). شیوع آن در زوج هایی که قصد بچه دار شدن دارند، حدود ۱ تا ۳ درصد تخمین زده شده است (۲). شناسایی اولیه خطر بالقوه سقط و کنترل سیستمیک، تاثیر مفیدی در افزایش نرخ تولد زنده در زوج های با سابقه سقط مکرر دارد (۳). اگر چه این بیماری علل متعددی از جمله اختلالات سیتوژنتیکی، بدشکلی رحمی، ترومبوفیلی ارثی، خود ایمنی، مشکلات اسپرم و فاکتورهای محیطی دارد اما دلیل آن در بیشتر بیماران نامشخص باقی مانده است (۴). از طرف دیگر، مطالعات نشان می دهند که سقط مکرر با پلی مورفیسم ژن‌های دخیل در روند حاملگی مرتبط می باشد (۵و۶). از جمله ژن هایی که ارتباط آنها با این بیماری نشان داده شده است می توان به TNF، IL6، VEG، AR، eNOS، HLA-G اشاره کرد (۷). علاوه بر این، فناوری توالی یابی نسل بعدی به سبب شناسی ژنتیکی این بیماری کمک زیادی کرده است (۸). HLA-G عمدتاً بر روی سلول های جفتی جنین بیان می شود (۹) و در لانه گزینی، تکامل و تمایز تروفوبلاست و اتصال آن به اندومتر رحم و همچنین در فرآیند آنژیوژنز برای تامین اکسیژن کافی برای جنین نقش حیاتی ایفا می کند (۱۰). این مولکول با القاء تولرانس در سیستم ایمنی مادر از طریق مهار سلول‌های NK (Natural killer cell) باعث تحمل جنین شده و مانع دفع آن توسط سیستم ایمنی مادر می شود (۱۱). همچنین، تغییر غلظت سرمی و تغییر بیان آن در بافت جفت افراد مبتلا به سقط مکرر گزارش شده است (۱۴-۱۲). بیان انحصاری HLA-G در مرز مادر- جنین بر خلاف آنتی ژن‌های HLA کلاسیک که در تمام بخش های بدن بیان می شوند، نشان می دهد که HLA-G در این نواحی دارای نقش ویژه ای است (۱۵). گزارشات نشان می دهد که جهش در ژن HLA-G و یا پلی مورفیسم های بالا دست آن ممکن است با تعدیل بیان ژن HLA-G بر موفقیت بارداری تأثیر داشته باشد (۱۷و۱۶). پلی مورفیسم های متعددی در ناحیه ´3 UTR (۱۸) و همچنین نواحی ´5 UTR و ناحیه پروموتری (۱۹) این ژن شناخته شده اند که با سقط مکرر همراهی نشان می دهند. پلی مورفیسم rs 1736933

▣ این مقاله حاصل پایان نامه زهرا نجفی، دانشجوی کارشناسی ارشد رشته ژنتیک دانشگاه تبریز می‌باشد.
*مسئول مقاله: دکتر محمد خلج کندری
آدرس: تبریز، دانشگاه تبریز، دانشکده علوم طبیعی، گروه علوم جانوری. تلفن: ۳۳۳۹۲۶۷۴-۰۴۱
E-mail: khalaj@tabrizu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1399.22.1.23.5]
[DOI: 10.22088/jbums.22.1.175]

در ناحیه پروموتر ژن HLA-G قرار گرفته است و تحت عنوان -486 A>C نیز شناخته می شود (۲۰). این پلی مورفیسم اتصال فاکتور شوک حرارتی به عنصر شوک حرارتی را تحت تاثیر قرار می دهد و منجر به تفاوت های اولیه در بیان ژن HLA-G می شود (۲۱). Hviid و همکاران نشان دادند که HLA-G به عنوان یک لیگاند برای گیرنده های سلولی NK عمل می کند و قادر است عملکرد سلول های NK را مهار کند و اگر این فعالیت کنترل نشود می تواند به صورت بالقوه به جنین آسیب برساند (۲۲). از طرف دیگر Ober و همکاران کاهش سطح سرمی HLA-G را در بیماران مبتلا به سقط مکرر خودبخودی و همراهی پلی مورفیسم ۴۸۶- را با آن بیماری نشان داده اند (۲۳).

با توجه به اینکه فراوانی آللی پلی مورفیسم ها در جمعیت های مختلف به پیش زمینه ژنتیکی آن جمعیت ها بستگی دارد لذا ممکن است فراوانی پلی مورفیسم rs1736933 بالادست ژن HLA-G هم در جمعیت زنان استان آذربایجان شرقی با جمعیت های دیگر متفاوت باشد. بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی توزیع ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم مذکور و همچنین بررسی همراهی آن با بیماری سقط مکرر در جمعیت زنان استان آذربایجان شرقی انجام گرفت.

مواد و روش ها

این مطالعه مورد- شاهدی پس از تصویب در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد TBZMED.REC.1398.208 و اخذ رضایت آگاهانه از افراد بیمار و کنترل، بر روی ۱۰۰ زن بیمار مبتلا به سقط مکرر خودبخودی و ۸۰ زن غیرمبتلا به این بیماری به عنوان گروه کنترل از بین افراد مراجعه کننده به بیمارستان الزهرا و کلینیک مادر تبریز که توسط متخصص زنان و زایمان انتخاب شدند، انجام گردید.

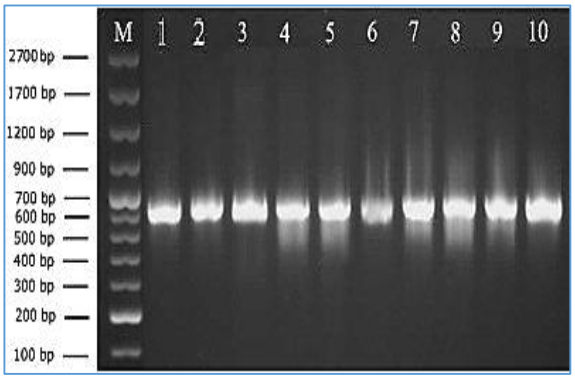
افراد با داشتن حداقل دو سقط مکرر بدون دلیل وارد مطالعه شدند و در صورت وجود سندروم TORCH (توکسوپلاسموز- روبلا- سیتو مگالو ویروس- هرپس ویروس)، مشکلات کروموزومی، اختلالات هورمونی و آناتومیکی رحمی از مطالعه خارج شدند. معیار ورود به گروه کنترل داشتن حداقل یک بچه با بارداری طبیعی و معیار خروج از مطالعه داشتن سابقه هرگونه سقط یا استفاده از روش های کمک باروری بود.

جهت استخراج DNA ژنومی از نمونه های خون از روش نمکی میلر با کمی تغییرات استفاده گردید (۲۴). کمیت و کیفیت DNA های استخراج شده توسط اسپکتروفتومتر و ژل آگارز بررسی شد. برای طراحی پرایمرها از نرم افزار Gene Runner و Primer-Blast استفاده شد. تکثیر قطعه حاوی پلیمورفیسم۴۸۶- با استفاده از پرایمر فوروارد GACTCACACGGAAACTTAGG -3 -5 و ریورس 5-ACACAGGTTAGGAGAAGGAG -3 به روش PCR انجام شد.

فرآیند PCR در دستگاه ترموسایکلر (Peqlab-pecStar, Jermany) شامل واسرشتی اولیه، یک سیکل پنج دقیقه ای در دمای ۹۵°C و به دنبال آن ۴۰ سیکل شامل ۳۰ ثانیه واسرشتی در دمای °C ۹۵، ۳۰ ثانیه اتصال در دمای °C ۵۸، ۳۰ ثانیه تکثیر در دمای °C ۷۲ و در نهایت ۵ دقیقه در دمای °C ۷۲ انجام گرفت. در نهایت محصولات PCR جهت تعیین توالی به شرکت میکروسینس سوئیس ارسال شدند. توالی ها با نرم افزار Chromas بررسی و ژنوتیپ افراد تعیین شد. اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون آماری x2 تجزیه و تحلیل شدند و p≤۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

تعیین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل: جهت تعیین ژنوتیپ افراد نسبت به پلی مورفیسم rs1736933، قطعه ای به طول ۶۸۴ جفت باز از ناحیه پروموتری ژن HLA-G توسط PCR تکثیر شد. شکل ۱ الکتروفورز محصولات PCR چند نمونه را نشان می دهد.



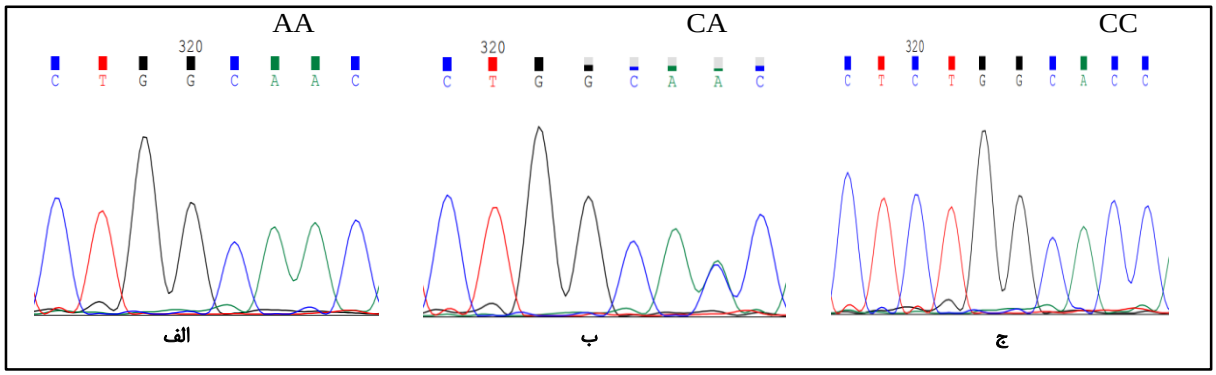
شکل ۱. الکتروفورز محصولات PCR: M نشاندهنده DNA Marker و ستون های ۱۰-۱ محصولات PCR نمونه های مختلف هستند.

در مرحله بعد محصولات PCR تعیین توالی شدند و ژنوتیپ افراد از روی کروماتوگرامهای حاصل قرائت شد. شکل ۲، نمونه هایی از کروماتوگرام های حاوی ژنوتیپ های مختلف جایگاه پلی مورفیسم rs1736933 را نشان می دهد.

توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم ۴۸۶- درگروه بیمار و کنترل و ارتباط آنها با بیماری سقط مکرر: در این بررسی در بین افراد مبتلا، ۸ بیمار هموزیگوت (AA)، ۳۷ بیمار هتروزیگوت (CA) و ۵۵ بیمار هموزیگوت (CC) تشخیص داده شدند و از بین افراد گروه کنترل ۱۶ فرد هموزیگوت (AA)، ۳۳ فرد هتروزیگوت (CA) و ۳۱ فرد هموزیگوت (CC) یافت شدند (جدول ۱). مقایسه فراوانی های ژنوتیپی گروه های بیمار و کنترل نشان داد که ژنوتیپ CC در دو گروه اختلاف معنی داری باهم دارند (p=۰/۰۱۵) و مقدار Odds Ratio حاصل نشان می دهد که ژنوتیپ CC با بروز بیماری سقط مکرر خود بخودی همراهی دارد (OR=۱/۹۳۲).

فراوانی های آللی پلی‌مورفیسم (۴۸۶-) افراد بیمار و کنترل و ارتباط آنها با بیماری سقط مکرر: فراوانی آلل A (آلل نرمال) برای گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۲۶/۵٪ و ۴۰/۶۲٪ و فراوانی آلل C برای گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۷۳/۵٪ و ۵۹/۳۸٪ درصد محاسبه شد. مقایسه فراوانی های آللی بین گروه بیمار و کنترل حاکی از اختلاف معنی دار آلل C بین گروه های بیمار و کنترل بود (p=۰/۰۱۹) و مقدار Odds Ratio حاصل نشان داد که آلل C با بروز سقط مکرر در جمعیت مورد بررسی همراهی نشان می دهد (OR=۱/۸۹۷) (جدول ۱).

[DOR: 20.1001.1.15614107.1399.22.1.23.5]
[DOI: 10.22088/jbums.22.1.175]



شکل ۲. نمونه هایی از کروماتوگرام های حاصل از تعیین توالی محصولات PCR مربوط به ژن HLA-G: الف) کروماتوگرام فرد با ژنوتیپ هموزیگوت AA ب) کروماتوگرام فرد با ژنوتیپ هتروزیگوت CA ج) کروماتوگرام فرد با ژنوتیپ هموزیگوت CC

جدول ۱. فراوانی های ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم (۴۸۶-) ژن HLA-G در افراد مبتلا به بیماری سقط مکرر و گروه کنترل

متغیرها	بیمار (n=۱۰۰) تعداد(٪)	کنترل (n=۸۰) تعداد(٪)	Odds Ratio	(CI ٪۹۵)	P-value
ژنوتیپ					
AA	۸(۸)	۱۶(۲۰)	۰/۳۴۸	۰/۱۳۲-۰/۸۹۱	۰/۰۱۲
CA	۳۷(۳۷)	۳۳(۴۱/۲۵)	۰/۸۳۶	۰/۴۵۵-۱/۵۳۷	۰/۳۱۹
CC	۵۵(۵۵)	۳۱(۳۸/۷۵)	۱/۹۳۲	۱/۰۵۹-۳/۵۳۳	۰/۰۱۵
آلل					
A	۵۳(۲۶/۵)	۶۵(۴۰/۶۲)	۰/۵۲۷	۰/۲۷۷-۰/۹۹۹	۰/۰۱۷
C	۱۴۷(۷۳/۵)	۹۵(۵۹/۳۸)	۱/۸۹۷	۱/۰۰۱-۳/۶۰۵	۰/۰۱۹

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه مقایسه فراوانی های ژنوتیپی بین گروه بیمار و کنترل نشان داد که ژنوتیپ هموزیگوت CC با سقط مکرر همراهی دارد (OR=۱/۹۳۲ و p=۰/۰۱۵). همچنین فراوانی آلل C در گروه بیمار با گروه کنترل تفاوت معنی داری داشت (OR=۱/۸۹۷ و p=۰/۰۱۹) که حاکی از همراهی آن با بیماری سقط مکرر در جمعیت مورد بررسی می باشد. در یک حاملگی طبیعی عوامل متعددی نقش دارند (۲۵) که می توان به سیتوکین ها، هورمون‌ها، فاکتورهای رشد و عوامل رگزایی اشاره کرد (۷). محققان کشورهای مختلف، اکثر ژن های درگیر در بیماری سقط مکرر از قبیل ژن‌های دخیل در تحمل ایمنی، التهاب، تغییر متابولیسم مادری، ترومبوفیلی و همچنین ژن‌های نقص ساختاری کروموزوم را مورد مطالعه قرار داده‌اند (۲۶). از جمله این ژن ها، ژن HLA-G می باشد که دارای پلی مورفیسم های متعدد می باشد و این پلی مورفیسم ها ممکن است به طور بالقوه بر تمام ویژگی ها و عملکرد های بیولوژیکی HLA-G تأثیر بگذارد (۲۰). نواحی 3´UTR (۱۸) و پروموتر HLA-G (۱۹) پلی مورفیسم های مختلفی دارند که می توانند میزان بیان و سطح پروتئین HLA-G را تحت تاثیر قرار دهند که از جمله آنها پلی‌مورفیسم 486 A>C- می باشد (۲۷). طبق مطالعه Berger و همکاران بر روی HLA-G، در کل ۳۲ SNP شناسایی شد (۲۸). آنها همچنین برای جایگاه ۴۸۶- فراوانی آلل C را در گروه بیمار و کنترل به ترتیب ۰/۵۰۰ و ۰/۴۱۸ محاسبه کردند و نشان دادند که آلل C با OR=۱/۴۱ و CI=۱/۰۷۳-۱/۸۵۱ و p=۰/۰۰۴ همراهی مثبتی با سقط مکرر نشان می دهد (۲۹). Agrawal و همکاران در کل، ۲۷ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی را مطالعه کردند و نشان دادند آلل C در جایگاه پلی مورفیسم ۴۸۶- p=۰/۰۱۹ و OR=۲/۳۵ با سقط مکرر همراهی نشان می دهد و آلل C یک ریسک آلل می باشد (۳۰). همچنین Hviid و همکاران در مطالعه خود بر روی ۶۱ زوج قفقازی، ۱۱ پلی مورفیسم از جمله پلی مورفیسم ۴۸۶- را شناسایی کردند. آن ها نشان دادند که پلی مورفیسم های موجود در5´ URR (Region Regulatory Upstream) ژن HLA-G می تواند ترشح اینترلوکین ۱۰ را تحت تاثیر قرار دهد. همچنین پلی‌مورفیسم ۴۸۶- که در پروموتر ژن HLA-G قرار دارد ارتباط معنی داری با غلظت اینترلوکین ۱۰ نشان داد. مطالعه آنها نشان داد که پلی مورفیسم ۴۸۶ - دارای اهمیت عملکردی است (۳۱). نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر با نتایج Berger و همکاران (۲۹) مطابقت دارد. با این وجود، فراوانی آللی آلل C در مطالعه ما نسبت به مطالعهBerger و همکاران کمتر می باشد. همچنین در مقایسه با نتایج Agrawal و همکاران (۳۰) تفاوت آللی زیادتری نسبت به مطالعه حاضر مشاهده می شود. این تفاوت ها ناشی از پیش زمینه ژنتیکی جمعیت های مورد مطالعه می باشد. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که آلل C و ژنوتیپ CC در پلی مورفیسم ۴۸۶- در جمعیت زنان آذری استان آذربایجان شرقی همراهی مثبتی با بیماری سقط مکرر دارد و بررسی ژنوتیپ افراد نسبت به این جایگاه ممکن است بتواند برای تصمیم گیری و ارائه خدمات بهداشتی- درمانی توسط متخصصان زنان و زایمان کمک کننده باشد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از افراد شرکت کننده در این مطالعه و همچنین معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه تبریز تشکر و قدردانی می گردد.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1399.22.1.23.5]
[DOI: 10.22088/jbums.22.1.175]

Association Analysis of the HLA-G Upstream Polymorphism Rs1736933 with the Recurrent Spontaneous Abortion

Z. Najafi (MSc)[1], M. Khalaj Kondori (PhD)*[1], M.A. Hosseinpour Feizi (PhD)[1] , Sh. Abbasaliizadeh (MD)[2]

1.Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R.Iran

2.Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I.R.Iran

J Babol Univ Med Sci; 22; 2020; PP: 175-180

Received: Oct 24th 2019, Revised: Jan 15th 2020, Accepted: Feb 1st 2020.

ABSTRACT

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Studies have suggested that HLA-G is involved in protecting the fetus against the mother's immune system, and upstream polymorphisms of this gene may influence pregnancy success by effecting its expression. The aim of this study was to evaluate the association of upstream HLA-G gene polymorphism, rs1736933, with recurrent spontaneous abortion in East Azerbaijan women population.

METHODS: This case-control study was performed on 80 women with at least one child and without any history of abortion, and 100 women with at least two recurrent spontaneous abortions which were diagnosed by gynecologist. 2 ml of blood was obtained from the participants and after DNA extraction, a segment of the HLA-G gene promoter was amplified by PCR and analyzed by agarose gel electrophoresis. PCR products were sequenced and genotyped. Allelic and genotypic frequencies of patient and control groups were compared.

FINDINGS: Frequency of AA, CA, CC genotypes in the patient group were 8(8%), 37(37%), 55(55%) and in the control group were 16(20%), 33(41.25%), 31(38.75%) respectively. Comparison of genotypic frequencies between the two groups showed that CC homozygous genotype was associated with recurrent abortion (p= 0.015). Statistical analysis also showed a significant difference between the allelic frequencies of the two groups (p= 0.019).

CONCLUSION: The results of this study showed that the upstream HLA-G gene polymorphism, rs1736933, is associated with the recurrent abortion in East Azerbaijan women population.

KEY WORDS: *Recurrent Abortion, Polymorphism, HLA-G, Association Studies.*

Please cite this article as follows:

Najafi Z, Khalaj Kondori M, Hosseinpour Feizi MA, Abbasaliizadeh Sh. Association Analysis of the HLA-G Upstream Polymorphism Rs1736933 with the Recurrent Spontaneous Abortion. J Babol Univ Med Sci. 2020; 22: 175-80.

***Corresponding Author: M. Khalaj Kondori (PhD)**

Address: Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, I.R.Iran

Tel: +98 41 33392674

E-mail: : khalaj@tabrizu.ac.ir

[DOR: 20.1001.1.15614107.1399.22.1.23.5]

[DOI: 10.22088/jbums.22.1.175]

References

1.Alemayehu M, Yebyo H, Medhanyie AA, Bayray A, Fantahun M, Goba GK. Determinants of repeated abortion among women of reproductive age attending health facilities in Northern Ethiopia: a case–control study. BMC public health. 2017;17(1):188.

2.Rai R, Regan L. Recurrent miscarriage. Lancet. 2006;368(9535):601-11. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16905025/

3.Musters AM, Taminiau-Bloem EF, van den Boogaard E, van der Veen F, Goddijn M. Supportive care for women with unexplained recurrent miscarriage: patients' perspectives. Hum Reprod. 2011;26(4):873-7.

4.Laird SM, Tuckerman EM, Cork BA, Linjawi S, Blakemore AI, Li TC. A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. Hum Reprod Update. 2003;9(2):163-74.

5.Hunt JS, Petroff MG, McIntire RH, Ober C. HLA-G and immune tolerance in pregnancy. FASEB J. 2005; 19(7): 681-93.

6.Xue S, Yang J, Yao F, Xu L, Fan L. Recurrent spontaneous abortions patients have more -14 bp/+14 bp heterozygotes in the 3'UT region of the HLA-G gene in a Chinese Han population. Tissue Antigens. 2007; 69(Suppl 1):153-5. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1399-0039.2006.763_7.x

7.Daher S, Mattar R, Gueuvoghlanian-Silva BY, Torloni MR. Genetic polymorphisms and recurrent spontaneous Abortions: An Overview of Current Knowledg. Am J Reprod Immunol. 2012;67(4):341-7.

8.Quintero-Ronderos P, Laissue P. Genetic Variants Contributing to Early Recurrent Pregnancy Loss Etiology Identified by Sequencing Approaches. Reprod Sci. 2020;27(8):1541-52.

9.Mosaferi E, Majidi J, Mohammadian M, Babaloo Z, Monfaredan A, Baradaran B. HLA-G expression pattern: Reliable assessment for pregnancy outcome prediction. Adv Pharm Bull. 2013;3(2):443-6.

10.Naghavian E, Abediankenari S, Rahmani Z, Nazari Z, Chabaki M, Alizadeh A. Association of HLA-G Null Allele Polymorphism in Women with Threatened Abortion in Comparison with Control. J Mazandaran Univ Med Sci. 2014;23(1):2-7. [In Persian]

11.Abediankenari S, Farzad F, Rahmani Z, Hashemi-Soteh MB. HLA-G5 and G7 Isoforms in Pregnant Women. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2015;14(2):217-21.

12. Pellegrini S, Menicucci A, Noci I, Fuzzi B, Rizzo R, Melchiorri L, et al. Embryonic soluble HLA-G as a marker of developmental potential in embryos. Hum Reprod. 2005; 20(1): 138-46.

13.Mosaferi E, Alizadeh Gharamaleki N, Farzadi L, Majidi J, Babaloo Z, kazemi T, et al. The Study of HLA-G Gene and Protein Expression in Patients with Recurrent Miscarriage. Adv Pharm Bull. 2019;9(1):70-5.

14.Craenmehr MHC, Nederlof I, Cao M, Drabbels JJM, Spruyt-Gerritse MJ, Anholts JDH, et al. Increased HLA-G Expression in Term Placenta of Women with a History of Recurrent Miscarriage Despite Their Genetic Predisposition to Decreased HLA-G Levels. Int J Mol Sci. 2019;20(3):625.

15.Le Bouteiller P, Solier C. Is antigen presentation the primary function of HLA- G?. Microbes Infect. 2001;3(4): 323-32.

16.Dias FC, Bertol BC, Poras I, Souto BM, Mendes-Junior CT, Castelli EC, et al. The genetic diversity within the 1.4 kb HLA-G 5′ upstream regulatory region moderately impacts on cellular microenvironment responses. Sci Rep-Uk. 2018;8:5652.

17.Sipak O, Rył A, Grzywacz A, Laszczyńska M, Zimny M, Karakiewicz B, et al. The Relationship between the HLA-G Polymorphism and sHLA-G Levels in Parental Pairs with High-Risk Pregnancy. Int J Environ Res Public Health. 2019;16(9):1546.

18.Meuleman T, Drabbels J, van Lith JMM, Dekkers OM, Rozemuller E, Cretu-Stancu M, et al. Lower frequency of the HLA-G UTR-4 haplotype in women with unexplained recurrent miscarriage. J Reprod Immunol. 2018;126:46-52.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1399.22.1.23.5]
[DOI: 10.22088/jbums.22.1.175]

19.Yazdani N, Shekari Khaniani M, Bastami M, Ghasemnejad T, Afkhami F, Mansoori Derakhshan S. HLA-G regulatory variants and haplotypes with susceptibility to recurrent pregnancy loss. Int J Immunogenet. 2018;45(4):181-9.
20.Donadi EA, Castelli EC, Arnaiz-Villena A, Roger M, Rey D, Moreau P. Implications of the polymorphism of HLA-G on its function, regulation, evolution and disease association. Cell Mol Life Sci. 2011;68(3):369-95.
21.Lau HH, Ng NHJ, Loo LSW, Jasmen JB, Teo AKK. The molecular functions of hepatocyte nuclear factors - In andbeyond the liver. J Hepatol. 2018;68(5):1033-48.
22.Hviid TVF, Rizzo R, Christiansen OB, Melchiorri L, Lindhard A, Baricordi OR. HLA-G and IL-10 in serum in relation to HLA-G genotype and polymorphisms. Immunogenetics. 2004;56(3):135-41.
23.Ober C, Aldrich CL, Chervoneva I, Billstrand C, Rahimov F, Gray HL, et al. Variation in the HLA-G promoter region influences miscarriage rates. Am J Hum Genet. 2003;72(6):1425-35.
24.Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res.1988;16(3):1215.
25.Ford HB, Schust DJ. Recurrent Pregnancy Loss: Etiology, Diagnosis, and Therapy. Rev Obstet Gynecol. 2009;2(2):76-83.
26.Vaiman D. Genetic Regulation of Recurrent Spontaneous Abortion in Humans. Biomed J. 2015;38(1):11-24.
27.Tan Z, Shon AM, Ober C. Evidence of balancing selection at the HLA-G promoter region. Hum Mol Genet. 2005;14(23):3619-28.
28.Berger DS. Molecular associations of recurrent spontaneous abortion [PhD Dissertation]. Pittsburgh, Pennsylvania, United States: University of Pittsburgh; 2007. Available from: http://d-scholarship.pitt.edu/10015/
29.Berger DS, Hogge WA, Barmada MM, Ferrell RE. Comprehensive analysis of HLA-G implications for recurrent spontaneous abortion. Reprod Sci. 2010;17(4):331-8.
30.Agrawal D, Prakash S, Misra MK, Phadke SR, Agrawal S. Implication of HLA-G 5' upstream regulatory region polymorphisms in idiopathic recurrent spontaneous abortions. Reprod Biomed Online. 2015;30(1):82-91.
31.Hviid TVF, Rizzo R, Melchiorri L, Stignani M, Baricordi OR. Polymorphism in the 5′ Upstream Regulatory and 3′ Untranslated Regions of the HLA-G Gene in Relation to Soluble HLA-G and IL-10 Expression. Hum Immunol.2006; 67(1-2):53-62.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1399.22.1.23.5]
[DOI: 10.22088/jbums.22.1.175]