بررسی میزان بیان miR200a به‌عنوان یک بیومارکر در زنان مبتلا به زایمان زودرس

عفت سید هاشمی[۱]، دکتر رقیه درگاهی[۲]، دکتر ملیحه انتظاری[۳]، دکتر سید سعید حسینی اصل[۴*]

۱. کارشناس ارشد گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. استادیار گروه زنان و مامایی، فلوشیپ پریناتولوژی گروه زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.
۳. استادیار گروه ژنتیک، دانشکده علوم و فناوری‌های نوین، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴. دانشیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۱۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۰۷/۰۷

خلاصه

مقدمه: زایمان زودرس، یکی از مشکلات اصلی بهداشتی محسوب می‌شود و بعد از ناهنجاری‌های مادرزادی، اصلی‌ترین عامل ابتلاء به بیماری و مرگ‌ومیر نوزادان است. با توجه به نقش گسترده MicroRNAها به‌عنوان بیومارکر در تشخیص انواع بیماری‌ها، مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان بیان miR200a به‌عنوان یک بیومارکر در زنان مبتلا به زایمان زودرس در استان اردبیل انجام شد.

روش‌کار: این مطالعه مورد شاهدی از مهر ۱۳۹۶ تا آذر ۱۳۹۷ بر روی ۵۰ زن باردار نخست باردار سالم و ۵۰ زن نخست باردار که برای زایمان زودرس به بیمارستان علوی شهر اردبیل مراجعه کرده بودند، انجام شد. پس از استخراج MicroRNA از خون و سنتز cDNA به‌منظور بررسی میزان بیان miR200a از تکنیک Real Time PCR استفاده شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) و آزمون آنوا، وان وی و تی تست انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: میزان بیان miR200a در گروه نرمال ۰/۰۴±۰/۳۵ و در گروه زایمان زودرس ۰/۰۹±۰/۲۴ بود که نسبت به گروه نرمال بارداری، به میزان ۱۱٪ کاهش بیان داشت. همچنین اختصاصیت و حساسیت انجام این تست برای بررسی زایمان زودرس به‌ترتیب برابر ۵۳/۴٪ و ۷۴٪ بود که توسط منحنی ROC مورد بررسی قرار گرفت. این نتایج از نظر آماری معنادار بود ($p\leq ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: در این پژوهش میزان بیان microRNA200a مورد مطالعه در بین زنان با زایمان زودرس و طبیعی متفاوت بود و به‌نظر می‌رسد، بتوان از miR200a به‌عنوان یک بیومارکر جدید برای پیش‌بینی زایمان زودرس استفاده کرد.

کلمات کلیدی: بیومارکر، زایمان زودرس، microRNA

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر سید سعید حسینی اصل؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران. **تلفن:** ۰۴۵-۳۳۲۵۰۳۲۴؛ **پست الکترونیک:** saied.hosseiniasl@arums.ac.ir

مقدمه

تولد نوزادان زودتر از موعد طبیعی، یکی از مهم‌ترین دغدغه‌ها و نگرانی‌های زوجین به‌ویژه مادران است. بر اساس نتایج مطالعات، درصدی از نوزادان به‌جای تولد در زمان طبیعی، قبل از موعد طبیعی متولد می‌شوند (۱). این نوزادان که در گروه نوزادان زودرس قرار می‌گیرند در مقایسه با نوزادان دیگر در هفته اول تولد ۶ برابر و در سال اول تولدشان ۳ برابر نوزادان معمولی با خطر آسیب‌پذیری و مرگ روبه‌رو هستند. به‌طور کلی به تولد بین هفته‌های ۳۷-۲۲ بارداری، زایمان زودرس گفته می‌شود (۲). اگرچه علت دقیق آن هنوز مشخص نشده است، اما عواملی نظیر عفونت‌های واژینال به‌خصوص باکتریال، ناهنجاری‌های رحمی، مشکلات جفت مانند کندگی جفت، افزایش مایع آمنیوتیک و همچنین بیماری‌های متعددی مانند دیابت و لوپوس می‌توانند در بروز زایمان زودرس نقش داشته باشند (۳، ۴). گزارشات متعددی در رابطه با شیوع زایمان زودرس وجود دارد. نرخ تولد نوزادان نارس در کشورهای آمریکایی ۱۲-۹٪ و در سایر کشورهای اروپایی برابر با ۷-۵٪ می‌باشد (۵، ۶). همچنین گزارش شده است در کشورهای در حال توسعه و مناطق آسیایی، حدود ۹-۵٪ زنان دچار زایمان زودرس می‌شوند (۳، ۷). سابقه قبلی از زایمان زودرس، سن مادر (کمتر از ۱۸ سال یا بیشتر از ۳۵ سال)، کوتاهی قد مادر، مصرف دخانیات و الکل، استرس و اختلالات خواب و روانی و همچنین فاکتورهای ژنتیکی، از جمله مهم‌ترین ریسک فاکتورهای دخیل در زایمان زودرس می‌باشند (۸، ۹).

تلاش‌های بسیاری برای توسعه غربالگری در این زمینه به‌منظور کاهش نرخ مرگ‌ومیر نوزادان ناشی از زایمان زودرس در سال‌های اخیر انجام شده است. یکی از جدیدترین روش‌های ژنتیک مولکولی، تحقیقات در زمینه miRNA[1] می‌باشد (۱۰، ۱۱). این RNAهای کوچک با اتصال به ناحیه 3'UTR در mRNA ژن هدف خود، بیان آنها را تنظیم می‌کنند. مشخص شده است که بیان ۳۰٪ کل ژن‌های کدکننده پروتئین‌ها به‌وسیله miRNAها کنترل می‌شود. miRNA ابتدا به‌صورت pri-miRNA نسخه‌برداری شده و سپس به‌وسیله آنزیمی به‌نام Drosha تبدیل به pre-miRNA می‌شود. سپس pre-miRNA توسط فاکتور صادر کننده هسته‌ای Exportin-5 و فاکتور کمکی Ran-GTP به سیتوپلاسم منتقل می‌شود. در سیتوپلاسم، RNAseIII دیگری به‌نام Dicer منجر به پردازش نهایی microRNA می‌شود (۱۳-۱۱).

microRNAها نقش بسیار اساسی در طیف گسترده‌ای از واکنش‌ها در دوران بارداری برعهده دارند؛ اعم از آماده‌سازی آندومتر برای لانه‌گزینی، توسعه جفت، آنژیوژنز و تنظیم ژن‌هایی که با سیستم ایمنی مادر در ارتباط هستند (۱۴، ۱۵). فعالیت زیاد و یا کاهش‌یافته microRNA می‌تواند مسبب برخی از پیامدهای دوران بارداری شود. مطالعات نشان داده‌اند تأثیر mir200 در دوران بارداری، کاهش بیان ژن‌هایی است که باعث انقباض رحمی می‌گردند؛ به‌عنوان مثال بیان ژن‌های XN-43[2]، OXTR[3] و COX-2[4] کاهش می‌یابد و در نتیجه از فرآیند التهابی در رحم ممانعت می‌شود (۱۵، ۱۶). تحقیقات قبلی در میومتر موش‌ها نشان داده‌اند که miR200a درگیر در فعالیت‌های میومتر است. ویلیامز و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که miR200a با تأثیر بر روی گیرنده‌های پروژسترون، باعث تسهیل فرآیند زایمان و گاهی باعث زایمان زودرس می‌شود (۱۵). با توجه به اهمیت miR200a در میزان بیان ژن‌های انقباضی رحم و تأثیر این miR200a در روی گیرنده پروژسترون، احتمالاً نقش به‌سزایی در زایمان زودرس خواهد داشت و می‌توان از miR200a به‌عنوان یک بیومارکر جدید برای پیش‌بینی زایمان زودرس استفاده کرد. از این رو مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان بیان miRNA200a در زنان با سابقه زایمان زودرس انجام شد.

[1] microRNA

[2] Conneexin-43
[3] Xytocin receptor
[4] Cyclooygenase-2

روش‌کار

این مطالعه مورد- شاهدی طی بازه زمانی مهر ۱۳۹۶ تا آذر ۱۳۹۷ بر روی ۵۰ زن سالم باردار بیشتر از ۳۶ هفته و ۶ روز طبیعی و ۵۰ زن باردار کمتر از ۳۶ هفته و ۶ روز که برای زایمان زودرس به بیمارستان علوی شهر اردبیل مراجعه کرده بودند، انجام شد. حجم نمونه با استفاده از نرم‌افزار Gpower و با در نظر گرفتن α=۰/۰۵، β=۰/۱، شاخص اندازه اثر ۰/۵۲ (که یک اندازه اثر متوسط رو به بالا می‌باشد) و مقدار λ برابر ۱۶/۲۹، در مجموع ۶۰ نمونه و در هر گروه ۳۰ نفر محاسبه شد که برای دقت بیشتر در نتایج، تعداد افراد در هر گروه ۵۰ نفر در نظر گرفته شد تا با اطمینان بیشتری بتوان نتایج را گزارش کرد. همسان کردن گروه مورد با شاهد به‌صورت فردی و بر اساس سن، جنس و تابعیت ایرانی انجام گردید. رعایت تمام معیارهای ورود و خروج برای تمام افراد مطالعه (۱۰۰ نفر) و همچنین عدم همکاری و رضایت افراد مراجعه‌کننده به‌خصوص گروه مورد، از دلایل طولانی شدن زمان نمونه‌گیری بود. در این مطالعه تمامی افراد آگاهانه و با پر کردن رضایت‌نامه و پرسش‌نامه وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود به مطالعه شامل زنان باردار شکم اول سالم، فاقد هرگونه بیماری خاص که دچار علائم زایمان زودرس شده‌اند و نداشتن هیچ‌گونه فاکتور آسیب‌رسان جفت مانند پره‌اکلامپسی و یا بیماری‌های دیابت بارداری، عفونت‌های تناسلی و خونریزی سه ماهه اول بود. همچنین زنان بارداری که در گروه مورد تحت درمان قرار گرفته شده بودند و فرآیند زایمان در آنها متوقف شده بود و در گروه کنترل نیز هر بارداری که زیر ۳۷ هفته دچار زایمان شد، از مطالعه خارج شدند. تعیین سن حاملگی با سونوگرافی‌های سه ماهه اول انجام شد. نمونه‌گیری از خون قبل از زایمان، بعد از شروع انقباضات و زمانی که دیلاتاسیون حدود ۴ سانتی‌متر بود، صورت گرفت. از هر فرد ۵ سی‌سی خون در لوله‌های CBC حاوی ماده ضدانعقاد EDTA گرفته و پلاسمای آنها جداسازی گردید.

استخراج miRNA و سنتز cDNA: به‌منظور استخراج miRNA از پلاسما از کیت MN (Mecherery-Nagel co.) استفاده شد. با این روش RNAهای کوچک با طولی کمتر از ۲۰۰ جفت باز که در میان آنها ریز RNAها نیز وجود دارند، استخراج شدند. سپس غلظت miRNAها و کیفیت استخراج آنها توسط دستگاه نانودراپ[1] مورد بررسی قرار گرفت. بلافاصله پس از استخراج miRNA، جهت ساخت cDNA مربوط به mir200a با استفاده از کیت سنتز کننده cDNA (Thermo Fisher Scientific, USA) توسط روش stem-loop با استفاده از پرایمر معکوس رونویسی اختصاصی MicroRNA (جدول ۱)، تحت رونویسی معکوس قرار گرفت. برای انجام این مرحله ابتدا ۵ میکرولیتر از MicroRNA استخراج شده به ۱/۵ میکرولیتر پرایمر Stem-loop (۲۰ پیکومول) و ۴ میکرولیتر آب مقطر در درون یک میکروتیوب ۰/۲ عاری از نوکلئازها اضافه شد. سپس مخلوط واکنش در داخل دستگاه هات‌بلاک در دمای ۷۰ درجه به مدت ۱۵ دقیقه قرار داده شد. بعد از آن به‌مدت ۵ دقیقه تیوب روی یخ قرار داده شد و به آن به‌ترتیب ۴ میکرولیتر بافر ۵X، ۲ میکرولیتر مخلوط dNTP (۱۰ میلی‌مول)، ۱ میکرولیتر آنزیم ریبولاک (۲۰ میکرولیتر) و ۱ میکرولیتر آنزیم RT (۵۰ میکرولیتر) اضافه گردید. سپس تیوب واکنش به‌مدت ۱ ساعت در دمای ۴۲ درجه و سپس ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه به‌منظور غیرفعال شدن آنزیم پلیمراز در دستگاه هات بلاک انکوبه شد. جهت ادامه کار cDNAهای سنتز شده در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

واکنش Real Time PCR: با استفاده از پرایمرهای طراحی شده (جدول ۱)، واکنش Real time PCR به‌منظور بررسی میزان بیان miRNA200a صورت گرفت. در این مرحله ترکیبات مورد نظر شامل ۲ میکرولیتر از cDNA، ۱ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای رفت و برگشت،۱۰ میکرولیتر مستر سایبرگرین (Master mix, Sybeer green Real Time, Amplicon corporation) و ۶ میکرولیتر آب دوبار تقطیر تهیه گردید. سپس واکنش

[1] Nanodrop BioTek Epoch

تحت شرایط دمایی و زمانی ۱ سیکل در دمای ۹۵ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه، ۴۰ سیکل در دمای ۹۵ درجه به‌مدت ۱۵ ثانیه و ۴۰ سیکل در دمای ۶۰ درجه به‌مدت ۴۰ ثانیه انجام گرفت. برای نرمالیزه کردن بیان، از ژن RNU6B که یک ژن خانه‌دار است، استفاده شد.

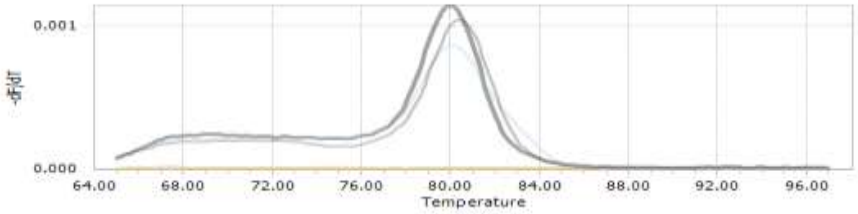
داده‌ها پس از گردآوری با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۰) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. به‌منظور ارزیابی تفاوت بین داده‌ها در گروه‌های مورد مطالعه از آزمون آنووا، وان وی و تی تست استفاده شد. به‌منظور تعیین اختصاصیت و حساسیت miRNA200a منحنی ROC رسم گردید. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد نیاز برای بررسی میزان بیان miRNA200a

طول محصول (bp)	توالی پرایمرها در جهت '۵ به '۳	نام توالی
۱۰۴	GTCGTATCCAGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACTGGA TACGACACATCG	Mir200 stem loop
	CACGCATAACACTGTCTGGTA	Mir200 forward
۹۶	CTCGCTTCGGCAGCACA	U6 forward
	AACGCTTCACGAATTTGCGT	U6 reverse

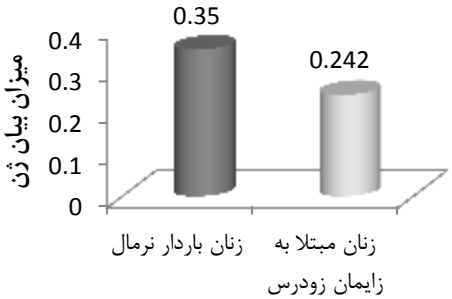
یافته‌ها

بررسی mir200a به‌روش Real Time PCR و با استفاده از رنگ سایبرگرین برای ۵۰ بیمار دچار زایمان زودرس و ۵۰ فرد سالم به‌عنوان کنترل انجام شد. میانگین سنی افراد برابر با ۶/۵±۲۷ سال بود. همچنین میانگین هفته بارداری برای گروه مورد ۳/۳۶±۳۴/۹۴ و برای گروه شاهد ۲/۶۱±۳۸/۵۸ محاسبه گردید. منحنی ذوب برای mir200a و RNA-U6 به‌عنوان ژن کنترل داخلی به‌صورت تک قله‌ای به‌دست آمد که این بیانگر اختصاصیت عملکرد پرایمرهای طراحی شده می‌باشد (شکل ۱).



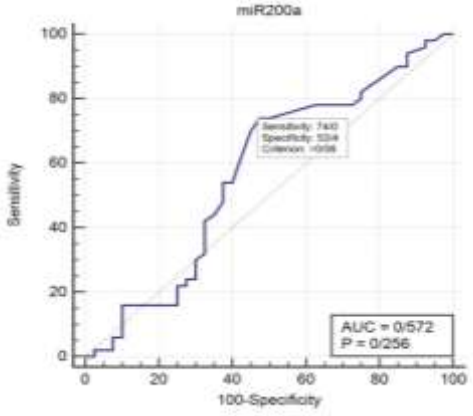
شکل ۱- منحنی ذوب برای سه نمونه بیمار برای پرایمر mir200a به‌همراه نمونه‌های Ntc (نمودار نارنجی)
***محور افقی دما بر حسب سانتی‌گراد و محور عمودی میزان فلورسانت است.**

علاوه بر این محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ حجمی/ وزنی قرار گرفت و بعد از الکتروفورز مشاهده گردید که در هر یک از واکنش‌های انجام شده با پرایمرهای mir200a و RNA-U6، تنها یک باند اختصاصی وجود دارد که این امر نیز اختصاصی بودن محصول PCR در نمونه‌های مورد بررسی را تأیید کرد. برای تمام نمونه‌های مورد بررسی از منحنی تکثیر Ct و سپس از طریق فرمول دلتا Ct و $۲^{-\Delta\Delta Ct}$ استفاده شد. بر این اساس میانگین بیان mir200a در گروه سالم برابر با ۰/۰۴±۰/۳۵ و در گروه زایمان زودرس برابر با ۰/۰۹±۰/۲۴ بود (شکل ۲) که نسبت به گروه کنترل کاهش بیان را نشان می‌داد و این کاهش از نظر آماری معنادار بود (p=۰/۰۲).



شکل ۲- میانگین تغییر بیان mir200a در گروه‌های مورد مطالعه

حساسیت و اختصاصیت microRNA200a در منحنی ROC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (شکل ۳). بر این اساس بررسی میزان بیان microRNA200a برای زایمان زودرس به‌ترتیب دارای میزان حساسیت و اختصاصیت برابر با ۷۴٪ و ۵۳/۴ بود. مساحت زیر منحنی (AUC) برابر با ۰/۵۷۲ بود که بزرگ‌تر بودن این عدد از ۱، نشان‌دهنده توانایی این تست برای تشخیص زایمان زودرس می‌باشد.



شکل ۳- ROC curve و مساحت زیر منحنی (AUC) مربوط به microRNA200a و ارتباط آن با زایمان زودرس

بحث

بر اساس نتایج مطالعات متعدد، زایمان زودرس به‌عنوان شایع‌ترین علت مرگ‌ومیر نوزادان محسوب می‌شود که شناسایی عوامل ایجاد آن می‌تواند در جهت کاهش زایمان‌های زودرس تأثیرگذار باشد (۱۷). امروزه اگرچه پیشرفت علم در حیطه پزشکی و مراقبت‌های اطفال باعث افزایش عمر نوزادان زودرس متولد شده است، اما همچنان در میزان نرخ تولدهای زودرس، تغییر قابل ملاحظه‌ای نداشته است (۳)، لذا این مسئله، یکی از نگرانی‌های حوزه بهداشت و سلامت می‌باشد. با توجه به اینکه زایمان زودرس یک پدیده چندعاملی است، شناسایی عوامل خطر و به‌تبع آن غربالگری و شناسایی مادران باردار دارای ریسک فاکتورهای زایمان زودرس می‌تواند در جلب مشارکت مادران باردار در خصوص رعایت متغیرهای اثرگذار و پیش‌بینی‌های لازم برای زایمان ایمن تأثیرگذار باشد. فرآیند زایمان زودرس همراه با تغییرات فیزیولوژیکی در بدن مادر همراه می‌باشد. برخی از این فرآیندها مانند کاهش سیستم ایمنی مادر در قبال پذیرفتن جنین، پرخونی شدن و حفظ ثبات رحم در بدن مادر رخ می‌دهد. برای تغییرات فیزیولوژیک، تغییرات بیان برخی از ژن‌ها لازم می‌باشد (۱۸). microRNAها، RNAهای غیر کدشونده هستند که می‌توانند تغییرات بیان ژن‌ها را در فرآیند بارداری ایجاد کنند. بدیهی است که کم یا زیاد شدن بیان microRNAها می‌تواند باعث ایجاد برخی از عارضه‌ها مثل زایمان زودرس گردد (۱۹).

زایمان زودرس بدون علائم بالینی می‌باشد، اما ممکن است بتوان از microRNAها به‌عنوان بیومارکر جدید

برای تشخیص زایمان زودرس استفاده کرد (۲۰، ۲۱). تشخیص زودهنگام زایمان زودرس برای پزشک این فرصت را فراهم می‌آورد که از عواقب زایمان زودرس برای مادر و جنین جلوگیری کند. از آنجا که درمان زایمان زودرس با موفقیت کمتری همراه بوده است، امروزه تحقیقات زیادی بر روی پیش‌بینی زایمان زودرس متمرکز شده است. استفاده از بیومارکرهای غیرتهاجمی برای تشخیص بیماری‌ها به‌خصوص برای زنان باردار، دارای ارزش فراوانی است. به‌دلیل اینکه روش‌های تهاجمی ممکن است باعث سقط جنین شوند. با توجه به نقش بسیار مهم microRNAها در تنظیم بیان ژن‌های مختلف دخیل در بارداری موفق، شاید بتوان عنوان کرد microRNAها می‌توانند یکی از مارکرهای غیرتهاجمی و مؤثر در پیش‌بینی بارداری موفق باشند (۲۲). در بسیاری از مطالعات، نقش microRNAها در فرآیند حاملگی زایمان و تکوین جنینی اثبات شده است. نقش اصلی microRNAها در دوران بارداری، حفظ ثبات رحمی می‌باشد. همچنین نقش‌های مهمی اعم از تکوین سلول‌های جفتی آنژیوزنز جنین و تکامل قلب جنین را می‌توان نام برد (۲۳).

در مطالعه حاضر، از نمونه‌های خون مادران باردار سالم و مادران بارداری که برای زایمان زودرس مراجعه کرده بودند، به بررسی میزان بیان microRNA200a پرداخته شد. خانواده miR-200 می‌تواند با ژن‌های ZEB1- ZEB2 (Zinc Finger E-box genes) تعامل داشته باشد و با داشتن فعالیت شبیه به تنظیم کننده‌های پروژسترون (P4)، در انقباض رحم در طول دوران زایمان و آرامش و سکون رحم در دوران بارداری نقش دارد (۲۴). این رویداد با کاهش بیان STAT5b و افزایش سطح آنزیم متابولیزه کننده (P4) یعنی (20a-HSD) اتفاق می‌افتد (۲۵). با استفاده از آنالیز میکرو آرایه بافت رحم مشخص گردید خانواده miR200 در طول بارداری در موش و انسان به‌طور متناسب باعث تحریک پروتئین زینک فینگر متصل به ZEB1,ZEB2 می‌شود (۲۶). ZEB1 و ZEB2 باعث مهار بیان ژن‌های انقباض رحم در طول دوران بارداری می‌شوند. می‌توان گفت که خانواده miR-200 و اهدافش (ZEB1,ZEB2)، واسطه‌های تنظیم‌کننده (p4) هستند که باعث می‌شوند زایمان در زمان طبیعی خود اتفاق بیفتد (۲۷).

در مطالعه حاضر میزان بیان miR200a در گروه نرمال از نظر بارداری برابر با ۰/۳۵ و در زنانی که برای زایمان زودرس اقدام کرده بودند، ۰/۲۴۲ بود که نسبت به گروه سالم حدود ۱/۴۴ برابر کاهش بیان را نشان داد که از نظر آماری معنادار بود. در مطالعه گسترده آنالیزی وانگ و همکاران (۲۰۱۶)، از بین ۵۶۴۰ MicroRNA مورد بررسی، miR887، miR665، miR4695-5p و miR200a بین زنان با زایمان زودرس و زنان باردار با زایمان نرمال مقادیر متفاوتی را نشان دادند (۲۸). همچنین در مطالعه حیوانی سام می پارک و همکاران (۲۰۰۷)، بیان miR200 در میومتر موش باردار در مقابل میومتر موش غیرباردار، به‌طور قابل توجهی بالا رفته بود، ولی بیان ژن‌های هدف این microRNA یعنی ZEB1 و ZEB2 کاهش پیدا کرده بود (۲۹) که مطالعه گیلبرت و همکاران (۲۰۰۸) نیز همین نتایج را تأیید کرد (۳۰). به‌نظر می‌رسد احتمالاً افزایش میزان بیان miRNA200a در زنان باردار، کاهش بیان ژن‌های هدف آن را به‌دنبال خواهد داشت که به این دلیل با انقباضات پی‌درپی رحمی قبل از تاریخ موعود، باعث زایمان زودرس می‌شود. مطالعه ویلیامز و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که mir200a و mir200b در اواخر بارداری و هفته ۳۶ افزایش بیان پیدا می‌کند و ژن ZEB1/2،STAT5 از اهداف اصلی این میرها هستند که می‌تواند منجر به زایمان زودرس و پیش از موقع شود (۱۵).

نتایج مطالعه حاضر نیز در جامعه ایرانی و زنان استان اردبیل مؤید نتایج سایر مطالعات است. از طرفی اندازه‌گیری ژن‌های هدف mir200a برای تأیید قطعیت نقش آنها ضروری به‌نظر می‌رسد. همچنین پیشنهاد می‌شود این مطالعه در یک جامعه وسیع‌تر نیز انجام گردد تا بتوان به‌عنوان یک بیومارکر در پیش‌بینی زایمان زودرس معرفی شود.

نتیجه‌گیری

اگرچه زایمان زودرس عامل اصلی مرگ‌ومیر نوزادان در کشورهای پیشرفته است، اما مکانیسم‌ها و سیگنال‌هایی که باعث افزایش انقباض رحمی و زایمان زودرس می‌شوند، هنوز به‌صورت قطعی مشخص نشده است. با توجه به مطالعات گسترده بر نقش MicroRNAها در روند بارداری و زایمان، به‌نظر می‌رسد با کاهش بیان ژن های انقباضی در دوران بارداری، باعث حفظ بارداری و در زمان زایمان با افزایش بیان ژن‌های انقباضی باعث تسهیل در فرآیند زایمان می‌شود. در صورت اختلال MicroRNAها در بیان ژن‌های هدف خود می‌توانند باعث ناباروری، سقط و یا زایمان زودرس شوند. از این رو امید است به‌عنوان یک بیومارکر بتوان در پیش‌آگاهی از زایمان‌های زودرس مورد استفاده قرار گیرند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از تمامی همکاران و پرسنل بیمارستان امام خمینی و بیمارستان علوی استان اردبیل که ما را در انجام این پژوهش یاری کردند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Roberts D, Brown J, Medley N, Dalziel SR. Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. Cochrane Database Syst Rev 2017; 3:CD004454.
2. Cunningham L, Bloom H, Rouse S. Williams obstetrics. Trans: Voladan M, Razzaghi S, Ghorbani MH. Tehran: Arjmand Press; 2010. (Persian).
3. Sohrabi D, Ghanbari Gorgani M. Study of risk factors during pregnancy on preterm birth in women-ValiAsr Hospital Zanjan-2007. J Urmia Nurs Midwifery Sch 2011; 9(2):93. (Persian).
4. Sharma AJ, Vesco KK, Bulkley J, Callaghan WM, Bruce FC, Staab J, et al. Rate of second and third trimester weight gain and preterm delivery among underweight and normal weight women. Matern Child Health J 2016; 20(10):2030-6.
5. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. Lancet 2008; 371(9606):75-84.
6. Shoja M, Shoja E, Gharaei M. Prevalence and affecting factors on preterm birth in pregnant women Referred to Bentolhoda hospital-Bojnurd. J North Khorasan Univ Med Sci 2016; 7(4):855-63. (Persian).
7. Davari Tanha F, Valadan M, Kave M, Bagher Zadeh Jalilvands HM. Prevalence and risk factors of recurrent preterm delivery in three hospitals of Tehran University. J Tehran Univ Med Sci 2007; 65(2):34-9. (Persian).
8. Najar S, Sharafi F, Afshari P, Haghighizadeh MH. The relationship between sleep disorders during pregnancy and premature labor and low birth weight. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2017; 20(7):44-9. (Persian).
9. Rieder TN. Saving or creating: which are we doing when we resuscitate extremely preterm infants? Am J Bioeth 2017; 17(8):4-12.
10. Elovitz MA, Brown AG, Anton L, Gilstrop M, Heiser L, Bastek J. Distinct cervical microRNA profiles are present in women destined to have a preterm birth. Am J Obstet Gynecol 2014; 210(3):221.e1-11.
11. Lucas K, Raikhel AS. Insect microRNAs: biogenesis, expression profiling and biological functions. Insect Biochem Mol Biol 2013; 43(1):29-38.
12. Dargahi D, Shahbazzadegan S, Naghizadeh-Baghi A, Sefati Kooyakhi S. Expression levels of drosha and dicer enzymes and DGCR8 protein in pre-eclamptic patients. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2018; 20(12):40-9. (Persian).
13. Nagy Z, Igaz P. Introduction to microRNAs: biogenesis, action, relevance of tissue micrornas in disease pathogenesis, diagnosis and therapy-the concept of circulating microRNAs. Exp Suppl 2015; 106:3-30.
14. Pineles BL, Romero R, Montenegro D, Tarca AL, Han YM, Kim YM, et al. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol 2007; 196(3):261.e1-6.
15. Williams KC, Renthal NE, Condon JC, Gerard RD, Mendelson CR. MicroRNA-200a serves a key role in the decline of progesterone receptor function leading to term and preterm labor. Proc Natl Acad Sci 2012; 109(19):7529-34.
16. Ming J, Zhou Y, Du J, Fan S, Pan B, Wang Y, et al. Identification of miR-200a as a novel suppressor of connexin 43 in breast cancer cells. Biosci Rep 2015; 35(5):e00251.
17. Brind J, Condly SJ, Lanfranci A, Rooney B. Induced abortion as an independent risk factor for breast cancer: a systematic review and meta-analysis of studies on south asian women. Issues Law Med 2018; 33(1):33-54.
18. Hassan SS, Romero R, Pineles B, Tarca AL, Montenegro D, Erez O, et al. MicroRNA expression profiling of the human uterine cervix after term labor and delivery. Am J Obstet Gynecol 2010; 202(1):80.e1-8.
19. Sanders AP, Burris HH, Just AC, Motta V, Svensson K, Mercado-Garcia A, et al. microRNA expression in the cervix during pregnancy is associated with length of gestation. Epigenetics 2015; 10(3):221-8.

20. Zhao Z, Moley KH, Gronowski AM. Diagnostic potential for miRNAs as biomarkers for pregnancy-specific diseases. Clin Biochem 2013; 46(10-11):953-60.
21. Winger EE, Reed JL, Ji X. Early first trimester peripheral blood cell microRNA predicts risk of preterm delivery in pregnant women: proof of concept. PloS One 2017; 12(7):e0180124.
22. Pan Q, Luo X, Toloubeydokhti T, Chegini N. The expression profile of micro-RNA in endometrium and endometriosis and the influence of ovarian steroids on their expression. Mol Hum Reprod 2007; 13(11):797-806.
23. Murphy MS, Casselman RC, Tayade C, Smith GN. Differential expression of plasma microRNA in preeclamptic patients at delivery and 1 year postpartum. Am J Obstet Gynecol 2015; 213(3):367.e1-9.
24. Liu Y, Sánchez-Tilló E, Lu X, Huang L, Clem B, Telang S, et al. The ZEB1 transcription factor acts in a negative feedback loop with miR200 downstream of Ras and Rb1 to regulate Bmi1 expression. J Biol Chem 2014; 289(7):4116-25.
25. Williams Kr. Antagonistic roles of miR-199a-3p/miR-214 and the miR-200 family in the regulation of uterine contractility during pregnancy and labor. Texas: UT Southwestern Graduate School of Biomedical Sciences; 2014.
26. Renthal NE, Chen CC, Williams KC, Gerard RD, Prange-Kiel J, Mendelson CR. miR-200 family and targets, ZEB1 and ZEB2, modulate uterine quiescence and contractility during pregnancy and labor. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107(48):20828-33.
27. Milunsky A, Baldwin C, Milunsky J. Molecular genetics and prenatal diagnosis. genetic disorders and the fetus. New Jersey: Wiley-Blackwell; 2015. P. 380-418.
28. Wang Y, Yang X, Yang Y, Wang W, Zhao M, Liu H, et al. High-throughput deep screening and identification of four peripheral leucocyte microRNAs as novel potential combination biomarkers for preeclampsia. J Perinatol 2016; 36(4):263-7.
29. Giarratano G. Genetic influences on preterm birth. MCN Am J Matern Child Nurs 2006; 31(3):169-75.
30. Gilbert JS, Nijland MJ, Knoblich P. Placental ischemia and cardiovascular dysfunction in preeclampsia and beyond: making the connections. Expert Rev Cardiovasc Ther 2008; 6(10):1367-77.