بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs2488457 ژن PTPN22 و سقط مکرر

فاطمه خانبراری[۱]، دکتر محمود وکیلی[۲]، دکتر مرتضی صمدی[۳،۴*]

۱. کارشناس ارشد ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۲. دانشیار گروه پزشکی اجتماعی، مرکز تحقیقات پایش سلامت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۳. دانشیار گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.
۴. مرکز تحقیقات ایمنی شناسی تولیدمثل، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۶/۱۳ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۶/۰۹/۰۴

خلاصه

مقدمه: سقط مکرر به ختم بارداری بیش از دو بار اطلاق می‌شود. عوامل متعددی در ایجاد سقط مکرر دخیل هستند، وجود اختلال در عملکرد سیستم ایمنی منجر به دفع جنین می‌شود. آنزیم پروتئین تیروزین فسفاتاز بافت لنفاوی (Lyp) که توسط ژن PTPN22 کد می‌شود، نقش حیاتی در تنظیم و تعادل پاسخ‌های ایمنی دارد؛ به‌تازگی پلی‌مورفیسم rs2488457 که در ناحیه پروموتر این ژن قرار دارد کشف شده است، محتمل است این پلی‌مورفیسم با تغییر در بیان ژن PTPN22 بالانس سیستم ایمنی را مختل نماید. از آنجایی که حفظ بالانس و تعادل سیستم ایمنی در بارداری نقش بسزایی دارد، مطالعه حاضر با هدف مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم rs2488457 بین دو گروه زنان مبتلا به سقط مکرر و زنان سالم انجام شد.

روش‌کار: این مطالعه تحلیلی از نوع مورد- شاهدی در سال ۱۳۹۴ بر روی ۲۰۰ نفر از افراد مبتلا به سقط مکرر و ۲۰۰ نفر از افراد سالم مراجعه کننده به مرکز ناباروری انجام شد. جهت بررسی ژنوتایپ افراد روش PCR-RFLP و در نهایت آزمون آماری کای‌دو جهت بررسی فراوانی پلی‌مورفیسم rs2488457 انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) و آزمون آماری کای دو انجام شد. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: فراوانی پلی‌مورفیسم rs2488457 در زنان مبتلا به سقط مکرر بیش‌تر از زنان سالم بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۱۶۲).

نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم rs2488457 ارتباطی با سقط مکرر ندارد.

کلمات کلیدی: سقط مکرر، Lyp، PTPN22

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر مرتضی صمدی؛ دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، یزد، ایران. **تلفن:** ۰۳۵-۳۸۲۰۳۴۱۰؛ **پست الکترونیک:** samadi.for@gmail.com

مقدمه

تولید مثل به عنوان اصل بقای بشر و تداوم خانواده از اهمیت ویژه‌ای برخوردار می‌باشد. یکی از شایع‌ترین مشکلات بارداری سقط مکرر می‌باشد که تقریباً در ۱٪ از بارداری‌ها رخ می‌دهد. به ختم بارداری بیش از ۲ بار قبل از هفته بیستم حاملگی اطلاق می‌شود (۱، ۲). بر اساس مطالعات اپیدمیولوژیک، ۲-۱٪ زنان تجربه سقط مکرر را دارند. برای ۵۰٪ از سقط‌های مکرر دلایل مشخصی ارائه شده است که شامل ناهنجاری‌های کروموزومی، ناهنجاری‌های رحمی، بیماری‌های متابولیک، عفونت، افزایش استرس اکسیداتیو در جفت و سبک زندگی می‌باشد (۵-۳). در ۵۰٪ از موارد، علت سقط ناشناخته بوده که به آن ایدیوپاتیک می‌گویند. علت بخش عمده‌ای از سقط مکرر ایدیوپاتیک، رد ایمنولوژیکی جنین به‌وسیله مادر می‌باشد. از آنجایی که جنین نیمی از اطلاعات ژنتیک خود را از پدر به ارث می‌برد، می‌تواند موجب بروز پاسخ ایمنی در بدن مادر و دفع شدن جنین شود، مکانیسم‌های ایمونولوژیکی که جنین را از خطر دفع شدن حفاظت می‌کنند تاکنون به طور کامل شناخته نشده‌اند، بدین منظور امروزه مطالعات جهت بررسی نقش سیستم ایمنی در بروز سقط مکرر در حال افزایش است. به‌طور کلی حاملگی، حالتی هموستاتیک است که به موجب آن سیستم ایمنی مادر در تماس نزدیک با بافت‌های نیمه آلوژن جنین قرار می‌گیرد، ولی جنین به‌واسطه مکانیسم‌های ایمونولوژیک مادر دفع نمی‌گردد، در واقع حفظ تعادل و بالانس پاسخ‌های ایمنی در بارداری موفق، بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۸-۶). یکی از فرآیندهای تعدیل کننده حیاتی سلول‌ها، فسفریلاسیون پروتئین می‌باشد که به سلول اجازه می‌دهد تا با تغییرات ناگهانی و تدریجی محیط سازگار شود. با توجه به اهمیت فسفریلاسیون در تنظیم فعالیت‌های سلول، این فرآیند باید شدیداً تحت کنترل باشد. فسفریلاسیون جایگاه تیروزین واسطه‌گرهای سیگنالینگ، توسط آنزیم‌های پروتئین تیروزین فسفاتاز (PTP)[1] و پروتئین تیروزین کیناز (PTK)[2] کنترل می‌شوند. آنزیم پروتئین تیروزین فسفاتاز بافت لنفاوی (Lyp)[3] به عنوان پروتئین تیروزین فسفاتاز منحصر به سلول‌های ایمنی، نقش بسزایی در حفظ هموستاز سیستم ایمنی دارد (۹). Lyp با دفسفریله کردن واسطه‌های متعددی از مسیر سیگنالینگ گیرنده‌های سلول‌های ایمنی نظیر آنزیم LcK[4]، موجب مهار و کنترل سیگنالینگ می‌شود. این فسفاتاز توسط لوکوس PTPN22 بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱ (1p13.3–13.1) کد می‌شود. وجود پلی‌مورفیسم بر روی ژن PTPN22 بر روی فعالیت تنظیمی Lyp اثر می‌گذارد. اخیراً ارتباط بین واریانت‌های متعدد این ژن و بیماری‌های خودایمن کشف شده است؛ به‌طوری‌که تغییرات ژنتیکی در ژن PTPN22 به‌عنوان یکی از مهم‌ترین و قوی‌ترین ژن‌های مستعد کننده بیماری‌های خودایمن در خارج از لوکوس HLA[5] محسوب می‌شود (۱۰، ۱۱)؛ اما تاکنون هیچ مطالعه‌ای جهت بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های متعدد این ژن و سقط مکرر انجام نشده است، اما مطالعات نشان داده‌اند که بین وجود واریانت‌های عملکردی ژن مذکور و اندومتریوزیس ارتباط آماری وجود دارد. مطالعات انجام شده بر روی بیماران خودایمن و افراد سالم، حاکی از آن است که تغییرات به وجود آمده در پاسخ‌های ایمنی، در حضور پلی‌مورفیسم بر روی ژن PTPN22 می‌تواند منجر به سقط مکرر شود. برای مثال افزایش بیان و فعالیت پروتئین Lyp منجر به مهار بیش از اندازه سیگنالینگ سلول‌های ایمنی و افزایش آستانه تحریک‌پذیری گیرنده‌های ایمنی نظیر BCR[6] و TCR[7] می‌شود. افزایش آستانه تحریک سلول‌های ایمنی، موجب فرار سلول‌های خود واکنش‌گر از سازوکارهای تولرانس مرکزی می‌شود، علاوه بر این افزایش آستانه تحریک سلول‌های T تنظیمی (Treg)[8] موجب ایجاد اختلال در تولرانس محیطی شده و شکست تولرانس مرکزی و محیطی، منجر به حضور سلول‌های خود واکنش‌گر و در

[1] Protein tyrosine phosphatases
[2] Protein tyrosine kinase
[3] lymphoid protein tyrosine phosphatase
[4] lymphocyte-specific protein tyrosine kinase
[5] human leukocyte antigen
[6] B cell receptor
[7] T cell receotor
[8] regulatory T cells

نهایت بروز پاسخ‌های اتوایمیون نظیر تولید اتوآنتی‌بادی در بدن می‌شود (۱۱، ۱۲). یکی از پلی‌مورفیسم‌هایی که به تازگی بر روی ژن PTPN22 کشف شده است، واریانت rs2488457 می‌باشد که در اثر جهش در نوکلئوتید ۱۱۲۳- موجود در ناحیه پروموتر ژن PTPN22 و جابه‌جایی سیتوزین و گوانین به‌وجود می‌آید. وجود این پلی‌مورفیسم با افزایش استعداد ابتلاء به بیماری‌های اتوایمیونی نظیر دیابت، آرتریت روماتوئید و کولیت اولسراتیو در ارتباط است، هرچند مکانیسم عمل این موتاسیون به وضوح مشخص نیست، یک مدل پیشنهادی، ایجاد تغییر در بیان Lyp در اثر این جهش می‌باشد (۱۳).

با توجه به نقش قطعی Lyp در تعدیل پاسخ‌های ایمنی و نقش عملکردی پلی‌مورفیسم rs2488457 در فعالیت این آنزیم، مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم rs2488457 در زنان مبتلا به سقط مکرر در مقایسه با زنان سالم انجام شد.

روش‌کار

این مطالعه تحلیلی از نوع مورد- شاهدی پس از کسب موافقت کمیته اخلاق (IR.SSU.MEDCINE.REC 1394.264) دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد، در سال ۱۳۹۴ در استان یزد انجام شد. ۲۰۰ نفر از افراد با سابقه سقط مکرر با علت ناشناخته مراجعه کننده به مرکز ناباروری یزد که حداقل ۳ ماه از زمان سقط آنها گذشته بود و فاقد اختلالات هورمونی، آناتومیکی و ژنتیکی بودند به عنوان گروه مورد و ۲۰۰ نفر از افراد بارور و غیر باردار که حداقل یک فرزند داشته و فاقد سابقه سقط بودند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. افراد مورد مطالعه از نظر سنی همسان بودند. برای انجام آزمایش، ابتدا از هر فرد پس از گرفتن رضایت‌نامه و پر کردن فرم اطلاعاتی، ۵ میلی‌لیتر خون گرفته شد و در داخل لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. برای بررسی مولکولی نمونه‌ها، DNA به روش دستی (salting out) استخراج شدند. نمونه‌های استخراج شده به ترتیب با استفاده از الکتروفورز ژل آگاروز و اسپکتروفتومتر از نظر کیفی و کمی بررسی شدند. جهت تعیین ژنوتایپ نمونه‌ها، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و چند شکلی طول قطعات محدود شونده (PCR-RFLP)[1] انجام شد، محلول واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر تهیه شد:

۲/۵ میکرولیتر از پرایمر فوروارد و ریورس، ۲ میکرولیتر از نمونه DNA استخراج شده، ۱۲/۵ میکرولیتر از مستر میکس (Amplicon, Denmark) که در نهایت با آب مقطر استریل به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد.

توالی پرایمر و برنامه حرارتی ترموسایکلر (ABI, America) به منظور تکثیر به ترتیب در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای استفاده شده جهت PCR پلی‌مورفیسم rs2488457

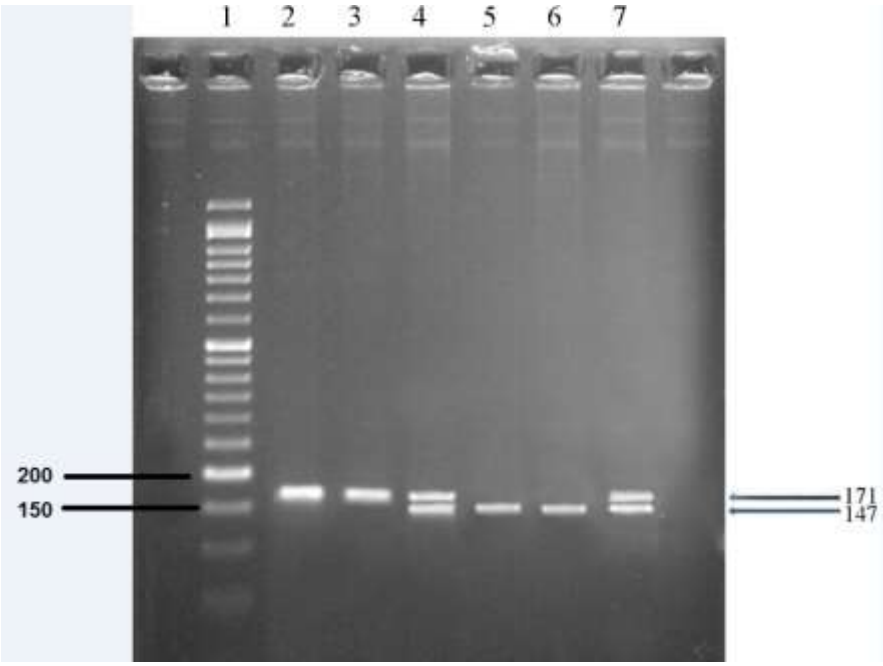
پرایمر فوروارد	AGAAAGCCTGAAGAACTG
پرایمر ریورس	ACCCATTGAGAGGTTATGCGAGCT

جدول ۲- برنامه حرارتی ترموسایکلر به منظور تکثیر پلی‌مورفیسم rs2488457

مرحله Denaturation ابتدایی	دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (۱ سیکل)
مرحله Denaturation	دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه (۳۵ سیکل)
مرحلهAnnealing	دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه (۳۵ سیکل)
مرحلهExtension	دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه (۳۵ سیکل)
مرحلهExtension نهایی	دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه (۱ سیکل)

[1]Polymerase chain reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism

محصول PCR قطعه‌ای به طول ۱۷۱ جفت باز بود که توسط ژل آگارز ۱٪ مورد الکتروفورز و بررسی قرار گرفت، سپس جهت RFLP، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم SacI (NEB, England)، ۲ میکرولیتر بافر آنزیم و ۷/۸ میکرولیتر آب مقطر استریل مخلوط و در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به‌صورت اورنایت انکوبه شدند. محصولات RFLP در ژل آگارز ۲/۵٪ الکتروفورز شدند؛ واریانت rs2488457 (آلل C) در مجاورت آنزیم محدود کننده به صورت دست نخورده و کامل (۱۷۱جفت باز) باقی ماند، اما هاپلوتایپ سالم (آلل G) به قطعه ۱۴۷ جفت باز شکسته شد (شکل ۱). داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۱۹) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. جهت مقایسه فراوانی ژنوتیپ‌ها بین دو گروه از آزمون آماری کای دو استفاده شد، میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.



شکل ۱- نتایج حاصل از RFLP پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی rs2488457

چاهک ۲ و ۳ محصول PCR (۱۷۱جفت باز)، چاهک ۴ و ۷ هتروزیگوت (CG) و چاهک ۵ و ۶ هموزیگوت (GG) را نشان می‌دهد

یافته‌ها

بر اساس نتایج مطالعه، بین دو گروه مورد و شاهد از نظر میانگین سنی اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (p=۰/۵۵) و میانگین سنی در گروه مورد ۵/۱۲۹±۳۵/۱۵ سال و در گروه شاهد ۲/۱۴۴±۳۴/۹۲ سال بود. هیچ یک از افراد مورد مطالعه سابقه عفونت و یا بیماری نداشتند، ۱۶۰ نفر (۸۰٪) از افراد گروه مورد، درد و خونریزی حین سقط داشتند و ۴۰ نفر (۲۰٪) از افراد درد و خونریزی نداشتند؛ بیش از نیمی از افراد گروه مورد تجربه ۳ بار سقط داشتند و بیش‌تر سقط‌ها در سه ماهه اول بارداری رخ داده بود. اطلاعات مربوط به خصوصیات بالینی گروه مورد در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳- خصوصیات بالینی افراد سقط مکرر

خصوصیات بالینی	متغیر	تعداد (درصد)
تعداد سقط مکرر	۲	۲۰ (۱۰)
	۳	۱۰۸ (۵۴)
	۴	۵۵ (۲۷/۵)
	۵	۱۷ (۸/۵)
زمان سقط (هفته بارداری)	۱-۵	۱۰۲ (۵۱)
	۶-۱۰	۸۰ (۴۰)
	۱۱-۱۵	۱۷ (۸/۵)
	۱۶-۲۰	۱ (۰/۵)

مقایسه فراوانی ژنوتیپی و آللی در دو گروه مورد و شاهد اختلاف آماری معنی‌داری را بین این دو گروه نشان نداد، اگرچه فراوانی آلل C (جهش) در گروه مورد بیش از گروه شاهد بود؛ اما این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود (p=۰/۱۶). فراوانی ژنوتیپی و آللی گروه مورد و شاهد در جدول ۴ نشان داده شده است.

جدول ۴- توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم rs2488457 در گروه سقط مکرر و شاهد

ژنوتایپ/آلل	گروه مورد	گروه شاهد	سطح معنی‌داری	سطح اطمینان ۹۵٪	OR
GG	۱۷۲ (۸۶)	۱۸۱ (۹۰/۵)	۰/۱۶۲	۰/۳۳ - ۱/۲۵	۰/۶۴
GC	۲۸ (۱۴)	۱۹ (۹/۵)	۰/۱۶۲	۰/۸۰ – ۳/۰۱	۱/۵۵
مجموع	۲۰۰ (۱۰۰)	۲۰۰ (۱۰۰)			
G	۳۷۲ (۹۳)	۳۸۱ (۹۵/۲۵)	۰/۱۷۶	۰/۳۵ - ۱/۲۵	۰/۶۶
C	۲۸ (۷)	۱۹ (۴/۷۵)	۰/۱۷۶	۰/۸۰ – ۲/۸۷	۱/۵۱
مجموع	۴۰۰ (۱۰۰)	۴۰۰ (۱۰۰)			

بحث

یکی از شایع‌ترین مشکلات زنان باردار، سقط‌های مکرر خود به خود می‌باشد. از این رو مطالعات زیادی جهت کشف اتیولوژی و روش‌های درمان این مشکل در حال انجام است. بر اساس مطالعات انجام شده، عوامل ایمونولوژیک در بروز سقط مکرر نقش عمده‌ای دارند (۱۴). عدم تعادل سیستم ایمنی مادر در پاسخ به جنین آلوگرافت و وجود اتوآنتی‌بادی‌ها در بدن می‌تواند موجب بروز سقط مکرر شود (۱۵). Lyp به عنوان پروتئین تیروزین فسفاتاز منحصر به بافت ایمنی، نقش حیاتی در حفظ بالانس پاسخ‌های سیستم ایمنی دارد؛ به‌طوری‌که مطالعات نشان می‌دهند ایجاد تغییر در فعالیت و بیان این فسفاتاز، تعادل سیستم ایمنی را مختل می‌سازد. افزایش فعالیت Lyp، موجب کاهش سیگنالینگ سلول‌های T و B و در نهایت افزایش آستانه تحریک این سلول‌ها می‌شود. افزایش آستانه تحریک سلول‌های ایمنی، تولرانس مرکزی و محیطی را مختل کرده و زمینه‌ساز پاسخ‌های اتوایمیون می‌شود (۹، ۱۶). وجود پلی‌مورفیسم بر روی ژن کد کننده این پروتئین (PTPN22)، با ایجاد تغییر در فعالیت Lyp منجر به ایجاد تغییر در پاسخ‌های سیستم ایمنی می‌شود. بررسی مطالعات انجام شده نشان می‌دهد تغییرات به‌وجود آمده در پاسخ‌های ایمنی در حضور موتاسیون بر ژن PTPN22 در راستای بروز سقط مکرر می‌باشد. به عنوان مثال نتایج مطالعه پلوسکی و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که بین وجود موتاسیون بر روی ژن PTPN22 و حضور دو اتوآنتی‌بادی، آنتی‌بادی علیه هسته (ANA)[1] و آنتی‌بادی علیه کاردیولیپین (ACA)[2] ارتباط آماری وجود دارد (۱۷). بر اساس مطالعات انجام شده، نقش دو اتوآنتی‌بادی ذکر شده در بروز سقط تأیید شده است، در واقع می‌توان استنباط نمود که موتاسیون بر روی ژن PTPN22 می‌تواند با افزایش تولید اتوآنتی‌بادی، منجر به افزایش احتمال بروز

[1] Anti-nuclear antibody
[2] Anti-cardiolipin antibody

سقط مکرر شود (۱۸). در مطالعه چن و همکاران (۲۰۱۳) ارتباط آماری بین rs2488457 و کولیت اولسراتیو مشاهده شد. همچنین شدت بیماری در افراد دارنده آلل ذکر شده بیش‌تر بود (۱۳). مطالعات دیگر ارتباط بین این پلی‌مورفیسم و بیماری‌های خودایمن نظیر آرتریت روماتوئید و دیابت نوع ۱ را نشان دادند (۲۳-۱۹). تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی نقش پلی‌مورفیسم‌های عملکردی موجود بر این ژن در سقط مکرر انجام نشده است، اما مطالعاتی جهت بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم عملکردی PTPN22، با اندومتریوزیس به عنوان یکی از اختلالات شایع در زمینه باروری انجام شده است، برای مثال مطالعه آمندولا و همکاران (۲۰۰۸) که در جمعیت ایتالیا صورت گرفت، نشان داد که فراوانی پلی‌مورفیسم بر روی ژن PTPN22 در بیماران مبتلا به آندومتریوزیس بیش از افراد سالم می‌باشد (۲۴). همچنین مطالعه گومز و همکاران (۲۰۱۰) در جمعیت برزیل نشان داد بین حضور پلی‌مورفیسم در PTPN22 و بیماری آندومتریوزیس ارتباط آماری وجود دارد (۲۵). با توجه به این نکته که تغییرات ژنتیکی موجود بر ژن PTPN22 موجب بروز مکانیسم‌های ایمونولوژیک در راستای بروز سقط مکرر می‌شوند، مطالعه حاضر به بررسی و مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم rs2488457 بین زنان مبتلا به سقط مکرر و افراد سالم پرداخت.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، فراوانی واریانت ذکر شده در افراد مبتلا به سقط بیش‌تر از افراد سالم بود، اما این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. با توجه به عدم وجود مطالعه‌ای جهت بررسی فراوانی پلی‌مورفیسم rs2488457 در ایران، اطلاعات به‌دست آمده از این مطالعه می‌تواند در تقویت اطلاعات ساختاری ژنتیکی جمعیت ایران مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد و مرکز تحقیقاتی و درمانی ناباروری یزد جهت پیشبرد این مطالعه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Farhangi H, Badiei Z. Report of some cases of recurrent pregnancy loss due to congenital deficiency of factor XIII. Iran J Obstet Gynecol Infertil 2015; 17(138):18-21. (Persian .(
2. 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.
3. Janan A, Honarmand H, Amirmozafari N, Asgharnia M, Janan A. Distribution of cytomegalovirus infection in spontaneous abortion. Iran J Obstet Gyneocol Infertil 2014; 17(102):12-9. (Persian.(
4. Ford HB, Schust DJ. Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy. Rev Obstet Gynecol 2009; 2(2):76-83.
5. Christiansen OB, Steffensen R, Nielsen HS, Varming K. Multifactorial etiology of recurrent miscarriage and its scientific and clinical implications. Gynecol Obstet Invest 2008; 66(4):257-67 .
6. Matthiesen L, Kalkunte S, Sharma S. Multiple pregnancy failures: an immunological paradigm. Am J Reprod Immunol 2012; 67(4):334-40 .
7. Larsen EC, Christiansen OB, Kolte AM, Macklon N. New insights into mechanisms behind miscarriage. BMC Med 2013; 11:154 .
8. Dawood F, Quenby S, Farquharson R. Recurrent miscarriage: an overview. Rev Gynaecol Pract 2003; 3(1):46-50.
9. Burn GL, Svensson L, Sanchez-Blanco C, Saini M, Cope AP. Why is PTPN22 a good candidate susceptibility gene for autoimmune disease? FEBS Lett 2011; 585(23):3689-98 .
10. Lee YH, Rho YH, Choi SJ, Ji JD, Song GG, Nath SK, et al. The PTPN22 C1858T functional polymorphism and autoimmune diseases--a meta-analysis. Rheumatology (Oxford) 2007; 46(1):49-56 .
11. Rieck M, Arechiga A, Onengut-Gumuscu S, Greenbaum C, Concannon P, Buckner JH. Genetic variation in PTPN22 corresponds to altered function of T and B lymphocytes. J Immunol 2007; 179(7):4704-10.
12. Pierer M, Kaltenhauser S, Arnold S, Wahle M, Baerwald C, Hantzschel H, et al. Association of PTPN22 1858 single-nucleotide polymorphism with rheumatoid arthritis in a German cohort: higher frequency of the risk allele in male compared to female patients. Arthritis Res Ther 2006; 8(3):R75 .

13. Chen Z, Zhang H, Xia B, Wang P, Jiang T, Song M, et al. Association of PTPN22 gene (rs2488457) polymorphism with ulcerative colitis and high levels of PTPN22 mRNA in ulcerative colitis. Int J Colorectal Dis 2013; 28(10):1351-8 .
14. Pandey MK, Rani R, Agrawal S. An update in recurrent spontaneous abortion. Arch Gynecol Obstet 2005; 272(2):95-108 .
15. Bansal AS, Bajardeen B, Shehata H, Thum MY. Recurrent miscarriage and autoimmunity. Expert Rev Clin Immunol 2011; 7(1):37-44 .
16. Habib T, Funk A, Rieck M, Brahmandam A, Dai X, Panigrahi AK, et al. Altered B cell homeostasis is associated with type I diabetes and carriers of the PTPN22 allelic variant. J Immunol 2011; 188(1):487-96.
17. Ploski R, Dziunycz P, Kostrzewa G, Roszkowski PI, Barcz E, Zabek J, et al. PTPN22/LYP 1858C>T gene polymorphism and susceptibility to endometriosis in a Polish population. J Reprod Immunol 2009; 79(2):196-200 .
18. Yamada H, Atsumi T, Kato EH, Shimada S, Morikawa M, Minakami H. Prevalence of diverse antiphospholipid antibodies in women with recurrent spontaneous abortion. Fertil Steril 2003; 80(5):1276-8.
19. Feng X, Li YZ, Zhang Y, Bao SM, Tong DW, Zhang SL, et al. Association of the PTPN22 gene (-1123G > C) polymorphism with rheumatoid arthritis in Chinese patients. Tissue Antigens 2010; 76(4):297-300 .
20. Huang JJ, Qiu YR, Li HX, Sun DH, Yang J, Yang CL. A PTPN22 promoter polymorphism -1123G>C is associated with RA pathogenesis in Chinese. Rheumatol Int 2012; 32(3):767-71 .
21. Viken MK, Olsson M, Flam ST, Forre O, Kvien TK, Thorsby E, et al. The PTPN22 promoter polymorphism -1123G>C association cannot be distinguished from the 1858C>T association in a Norwegian rheumatoid arthritis material. Tissue Antigens 2007; 70(3):190-7 .
22. Kawasaki E, Awata T, Ikegami H, Kobayashi T, Maruyama T, Nakanishi K, et al. Systematic search for single nucleotide polymorphisms in a lymphoid tyrosine phosphatase gene (PTPN22): association between a promoter polymorphism and type 1 diabetes in Asian populations. Am J Med Genet A 2006; 140(6):586-93 .
23. Liu F, Liu J, Zheng TS, Li Q, Wang C, Pan XP, et al. The -1123G>C variant of PTPN22 gene promoter is associated with latent autoimmune diabetes in adult Chinese Hans. Cell Biochem Biophys 2012; 62(2):273-9 .
24. Ammendola M, Bottini N, Pietropolli A, Saccucci P, Gloria-Bottini F. Association between PTPN22 and endometriosis. Fertil Steril 2008; 89(4):993-4 .
25. Gomes FM, Bianco B, Teles JS, Christofolini DM, de Souza AM, Guedes AD, et al. PTPN22 C1858T polymorphism in women with endometriosis. Am J Reprod Immunol 2010; 63(3):227-32.