

## بررسی پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با سقط مکرر در ژن MTHFR در استان خوزستان

افسانه کرم زاده<sup>۱</sup>، فاطمه بساق‌زاده<sup>۱\*</sup> و محمدرضا حجاری<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> ایران، دزفول، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد دزفول، گروه زیست‌شناسی

<sup>۲</sup> ایران، اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده علوم، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۳/۰۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۰/۰۷

### چکیده

سقط مکرر (RPL= Recurrent Pregnancy Loss) اختلالی چندعاملی می‌باشد که سبب ۱۵٪ از نارسایی‌های حاملگی است. اگرچه علل اصلی سقط مکرر ناشناخته است؛ اما تحقیقات نشان می‌دهد که متیل‌ترا هیدروفولات رودکتاز (MTHFR) چندشکلی از عوامل اصلی خطر ژنتیکی برای سقط مکرر است. بر این اساس، هدف از تحقیق پیش‌رو بررسی و مقایسه‌ی فراوانی جهش‌های مختلف در بین زنان مبتلا به سقط مکرر جنین است. در این جستار ۵۰ زن مبتلا به سقط مکرر با سابقه‌ی حداقل دو یا دفعات بیشتری از سقط مورد مطالعه قرار گرفتند و بررسی دو پلی‌مورفیسم ژن MTHFR توسط الکتروفورزموتیون و دستگاه ABI 3130XL انجام شد و نمودار فراوانی رسم گردید. از ۵۰ مورد زن مبتلا به سقط مکرر ۱۵ نفر معادل (۳۰٪) در هر دو جهش منفی، ۱۱ نفر (۲۲٪) در هر دو جهش برای A>C 1298 و C>T 677 هتروزیگوت، ۸ نفر (۱۶٪) هتروزیگوت، ۳ نفر (۶٪) هموزیگوت C>T 677 و ۱۲ نفر (۲۴٪) هتروزیگوت و ۱ نفر (۲٪) هموزیگوت A>C 1298 بودند. نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که جهش‌های C677T و A1298C در ژن متیل‌ترا هیدروفولات رودکتاز نقش بسزایی در ترومبوفیلی دارند که حاکی از فراوانی نسبی بالای جهش‌های فوق در زنان مبتلا به سقط‌جنین است.

واژه‌های کلیدی: سقط مکرر جنین، ترومبوفیلی، چرخه‌ی فولات، پلی‌مورفیسم ژن MTHFR، PCR.

\* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: Bossagh\_f\_1359@yahoo.com

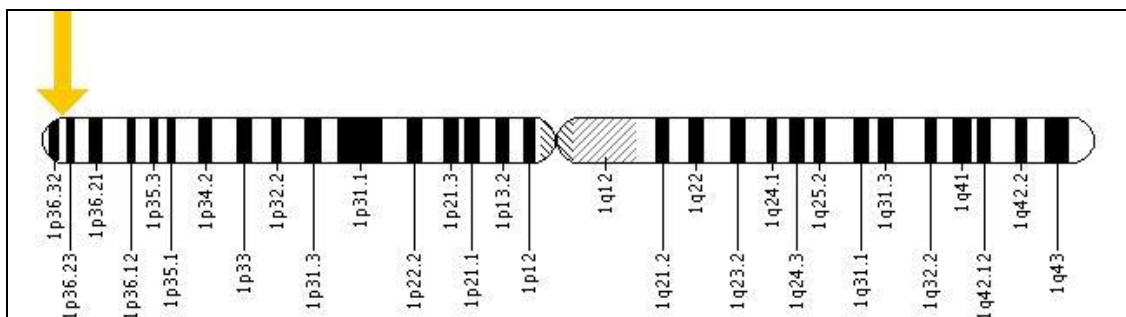
### مقدمه

تولید جنینی با وزن کمتر از ۵۰۰ گرم است. (۷) سقط خودبه‌خودی از لحاظ بالینی انواع مختلفی دارد که یکی از آن‌ها سقط مکرر است که اگر بیش از ۲ یا ۳ بار متوالی تکرار گردد جنبه‌ی پاتولوژیک پیدا نموده و سقط مکرر (RPL) نامیده می‌شود که نیازمند بررسی و درمان مناسب خواهد بود. (۱) حدود ۱ تا ۵ درصد خانم‌های باردار سقط مکرر را تجربه می‌کنند که ممکن است به دلیل نارسایی‌هایی همچون اختلالات ژنتیکی از جمله: ناهنجاری‌های کروموزومی و تک‌ژنی؛ و اختلالات اسپرم باشد. (۳) شواهد بسیاری وجود دارد که نشان می‌دهد ترومبوز در عروق باریک جفت می‌تواند دلیل بسیاری از

شایع‌ترین عارضه در سه ماهه‌ی اول و دوم حاملگی سقط جنین (Abortion) است. (۱) بر اساس گزارش‌های موجود تقریباً ۳-۵ درصد از زنان پیشینه‌ای از یک سقط دارند و تقریباً در ۵۰ درصد زوج‌های مبتلا به سقط، با وجود ارزیابی کامل اتیولوژی علت آن ناشناخته می‌ماند. به همین دلیل این افراد در گروه سقط‌هایی با دلایل ناشناخته طبقه‌بندی می‌شوند. تخمین زده شده است که این دسته از زوج‌ها می‌توانند بیش از ۷۵ درصد شانس حاملگی موفق داشته باشند. (۵) طبق تعریف ارائه شده از سوی سازمان بهداشت جهانی (WHO = World Health Organization) سقط‌جنین به معنای ختم حاملگی قبل از هفته‌ی ۲۰-۲۲ یا

غذایی و ویتامین B کمپلکس مانند فولات B6 و B12 منجر به افزایش سطح هموسیستین پلاسما می‌شود. (۸) علاوه بر این، کاهش غلظت اسیدفولیک و ویتامین B12 باعث افزایش هموسیستین و به تبع آسیب عروق می‌گردد. (۱۶) نیاز روزانه اسیدفولیک در زنان باردار ۵۰-۱۰۰ میکروگرم است که می‌تواند در سنتز متابولیسم‌های مختلف بدن حضوری فعال داشته باشد. (۱۳) تغییرات سطح هموسیستین در هر دوره‌ی سه ماهه از بارداری نشان داده است که بیشترین کاهش را در حاملگی در هفته‌های ۲۰-۲۸ و در حدود ۴/۳ میکرومول در لیتر و بالاترین سطح را در حدود ۵/۵ میکرومول در لیتر در هفته‌های ۳۶-۴۲ داشته است. (۱۶) دامنه‌ی نرمال هموسیستین در سرم خون ۳/۵۴-۲/۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر است و در صورتی‌که این مقدار افزایش یابد برای زنان باردار بسیار خطرناک است. هموسیستین اسیدآمینهای غیر پروتئینی است که از اسیدآمینهای متیونین ایجاد می‌شود، در چنین شرایطی متیونین عامل متیل خود را در واکنش بیوشیمیایی از دست می‌دهد و تبدیل به هموسیستین می‌شود (۴). MTHFR آنزیمی مهم که تنظیم‌کننده‌ی متابولیسم هموسیستین (HCY) است و باعث کاتالیزور MTHFR ۵،۱۰ به MTHFR ۵ می‌شود. ژن کدکننده‌ی آنزیم کاتالیک MTHFR در انتهای بازوی کوتاه کروموزوم (1p36.3) قرار داشته و با ۱۱ اگزون در طول CDNA2220 قرار گرفته است. (۷)

سقطها با علتی نامشخص باشد. (۲۰) وجود تعادل بین انعقاد و فیبرینولیزیک، امری حیاتی در اوایل بارداری است؛ فرض ما بر این است که ترومبوفیلی به‌عنوان عاملی در پاتوفیزیولوژی RPL نقش دارد. (۱۲) در بارداری، با افزایش عوامل پیشگیری‌کننده‌ی ضد انعقاد، در سطح ضد انعقاد، کاهش به وجود می‌آید که منجر به انعقادی بیش از حد می‌گردد. ترومبوفیلی ارثی، با عوارض مختلفی در زنان و زایمان آنان از قبیل: RPL، مرده‌زایی، محدود شدن رشد جنین، پره‌اکلامپسی و قطع جفت همراه است (۱۱). مستعد بودن بدن از لحاظ ژنتیکی در شکل‌گیری ترومبوز وریدی و افزایش ارتفاع سطح هموسیستین (THCY) به‌عنوان عوامل مؤثر در پاتوفیزیولوژی RPL توصیف شده‌اند؛ اولین فرض ما در تشخیص علت این اتفاق، پلی-مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی اختصاصی C(CNP) در ژن‌های کدکننده‌ی عامل انعقاد از جمله عامل V-Lehden در پروتئین 62020LOA است. حال آنکه دومین فرض ما شکل‌گیری جهش در متیل ترا هیدروفولات رودکتاز (MTHFR) است. (۱۴) یکی از علل ترومبوفیلی، نقص در چرخه‌ی متابولیسم هموسیستین و افزایش میزان هموسیستین در پلاسما است. (۶) برخی عادات غذایی مانند: مصرف کافئین و چای بر تولید مثل مردان هم از نظر میزان لقاح و باروری و هم از نظر سقط‌جنین تأثیر در همسرانشان تأثیر می‌گذارد. (۱۰) پس می‌توان اذعان داشت که دریافت رژیم غذایی مناسب در اثربخشی متابولیسم هموسیستین نقشی تعیین‌کننده دارد و کاهش مصرف مواد



شکل ۱- جایگاه ژن MTHFR بر روی کروموزوم ۱ (۷)

CC، عملکردی معادل ۶۰ درصد عملکرد ژنوتیپ AA را داراست. افراد هموزیگوت برابر آلل A1298C، سطوح بالای هموسیستئین سرمی را نشان نمی‌دهند؛ اما افراد دارای هتروزیگوت با ترکیبی از پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C دارای مشخصات بیوشیمیایی مشابه هموزیگوت‌های C677T، با سطوح افزایش‌یافته‌ی هموسیستئین و سطوح کاهش‌یافته‌ی فولات یکسان هستند. (۲) در جدول (۱) مقایسه‌ی پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C ژن MTHFR نشان داده‌شده است.

جهش ژن MTHFR منجر به کاهش فعالیت آنزیم و افزایش بیش از حد هموسیستئین می‌شود که به تبع با افزایش تجمع پلاکتی و ایجاد آسیب اکسیداتیو اندوتلیال همراه می‌گردد. (۱۱) اخیراً ۳۴ موتاسیون نادر و ۹ واریانت معمولی در این ژن شناسایی شده است (۱۹) که شامل جهش‌های C677T و A1298C دو جهش شایع در ژن MTHFR می‌باشند. (۱۱) بویژه باید یادآور گشت که SNP MTHFR C677T در متابولیسم هموسیستئین نقشی بسیار مهم دارند. (۱۴) مطالعات چندانی روی پلی‌مورفیسم A1298C انجام نگرفته اما مشخص شده است که ژنوتیپ

جدول ۱- مقایسه‌ی پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C ژن MTHFR (۷)

پلی‌مورفیسم A1298C	پلی‌مورفیسم C677T
MTHFR/۳۲	MTHFR/۷۰
جهش نقطه‌ای	جهش اشتباه (جابه‌جا)
در آگزون شماره‌ی ۷ این ژن رخ می‌دهد.	در آگزون شماره‌ی ۴ این ژن رخ می‌دهد.
باعث جابه‌جایی گلوتامات به آلانین	آلانین را به یک کدون والین تبدیل می‌کند
در کدون ۴۲۹ در حوزه‌ی کنترل پروتئین C-terminal	جهش در کدون ۲۲۲ در بخش N-terminal قلمرو کاتالیتیکی پروتئین
بدون تغییر دما	جهش به پروتئین حرارتی منجر می‌شود
فعالیت آنزیمی را کاهش می‌دهد.	فعالیت آنزیمی را کاهش می‌دهد از دست دادن فعالیت ۵۰ تا ۷۰ درصد در هموزیگوت C677T و ۳۰ درصد از دست دادن هتروزیگوت‌های C677T

بیشتری، سقط قبل از هفته‌ی بیستم بارداری را در پرونده خود داشتند برای بررسی و پژوهش حاضر انتخاب شدند. ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از افراد انتخاب‌شده در لوله‌های حاوی EDTA گرفته شد و به روش استاندارد رسوب نمکی استخراج و برای تعیین ژنوتیپ افراد مورد بررسی از روش PCR استفاده شد. برای بررسی ژنوتیپ از کیت دیوایزر (Devyser Thrombophilia Art. No.: 8-Ao35) استفاده و برای تأیید نتایج بطور تصادفی از روش تعیین توالی توسط تکثیر قطعات مورد نظر روی برخی ژن‌ها استفاده گردید. مشخصات پرایمرهای استفاده‌شده در جدول ۲ ارائه شده است.

هدف از تحقیق حاضر، بررسی و مقایسه‌ی فراوانی جهش‌های مختلف در بین زنان مبتلا به سقط مکرر جنین است.

## مواد و روشها

**بررسی ژنوتیپ:** در تحقیق پیش‌رو ۵۰ زن مبتلا به سقط مکرر جنین از میان مراجعه‌کنندگان به آزمایشگاه ژنتیک نورژن اهواز در برهه زمانی بهمن ماه ۱۳۹۷ تا شهریور ماه ۱۳۹۸ با توجه به پرونده‌ی پزشکی بیماران و نظر متخصص زنان، با میانگین و انحراف معیار سن  $(27.7 \pm 5.03)$  و فاقد مشکلات آناتومی رحم، سیتوژنتیکی، هورمونی، ایمنولوژیک و اختلال اسپرم که حداقل ۲ یا دفعات

جدول ۲- مشخصات توالی پرایمرهای نشانه‌دار پلی مورفیسم‌های ۶۷۷ و ۱۲۹۸ ژن MTHFR

۱۶۳bp	F: 5'-CTTTGGGGAGCTGAAGGACTACTA-3'	24mer	MTHFR 1298
	R: 5'-CACTTTGTGACCATTCCGGTTTG-3'	۲۳mer	
498 bp	F: 5'-CTGGGGTCAGAAGCATATCAG-3'	۲۱mer	MTHFR 677
	R: 5'-CTGGGAAGAACTCAGCGAAC-3'	20mer	

آگاروز ۱/۵ درصد انجام شد و نمودار فراوانی رسم گردید.

(۲)

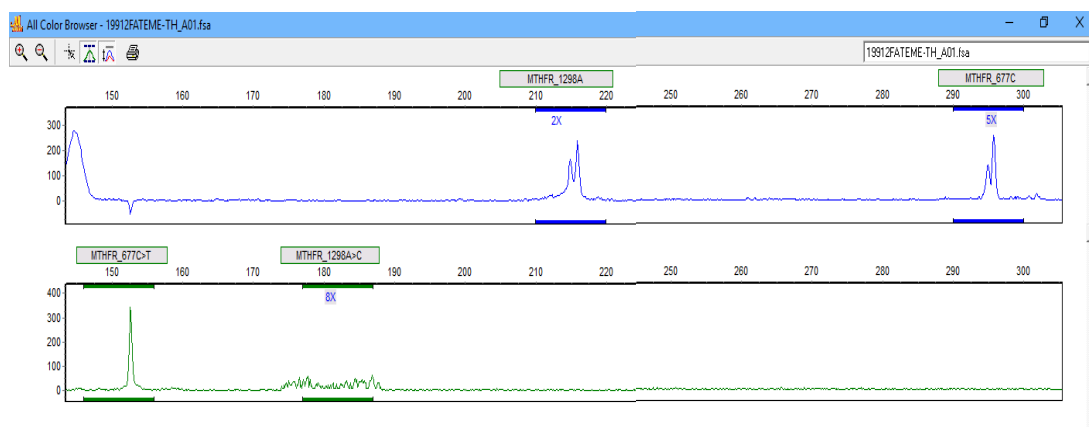
### نتایج

آنالیز قطعات حاصله توسط دستگاه تعیین توالی: بعد از PCR، محصولات برای بررسی، مورد آنالیز توسط کاپیلاری الکتروفورز قرار گرفتند و نتایج تعیین توالی در شکل‌های ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ نشان داده شده‌اند.

بررسی فراوانی پلی مورفیسم‌ها: با توجه به نتایج مشاهده شده در الکتروفورز، ژنوتیپ هر فرد برای هر پلی مورفیسم مشخص شد. نتایج حاصل از فراوانی چندشکلی C677T و A1298C و فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در زنان دچار سقط مکرر در جدول ۳ نشان داده شده است.

مواد لازم برای واکنش PCR در حجم نهایی  $20\mu\text{l}$  شامل: Tag master Mix RED  $10\mu\text{l}$  (۲X)،  $10\mu\text{l}$  دی استیل واتر (DW)،  $21\mu\text{l}$  الگو (ژنومی) ( $100\text{gr}/\mu\text{l}$ ) و  $1\mu\text{l}$  از هر جفت پرایمر MTHFR ( $15\mu\text{M}$ ) بود. مراحل انجام روش PCR به ترتیب ذیل بر روی نمونه DNA از گروه بیمار و کنترل انجام شد. پس از دناتوراسیون اولیه در دمای  $95^\circ\text{C}$  به مدت ۵ دقیقه، قطعات DNA برای پلی-مورفیسم  $1298$ ،  $677$  در  $30^\circ\text{C}$  سیکل ( $95^\circ\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه،  $60^\circ\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه،  $72^\circ\text{C}$  به مدت ۳۰ ثانیه) تکثیر یافتند و به دنبال آن مرحله طولیل سازی نهایی در دمای  $4^\circ\text{C}$  انجام شد؛ سپس محصول PCR با استفاده از دستگاه الکتروفورز موئینه ABI3130XL بر روی ژل

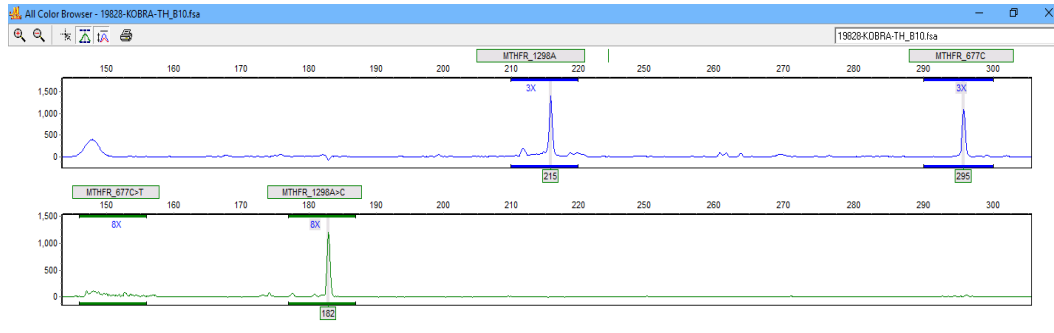
### رابطه‌ی پلی مورفیسم‌های MTHFR با سقط مکرر



19912

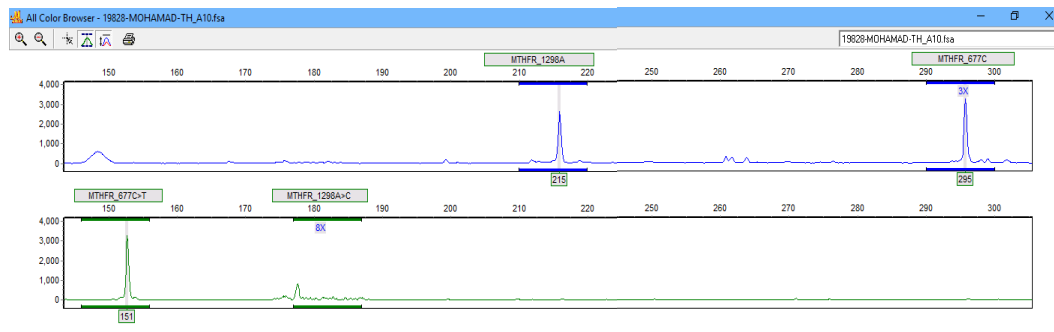
شکل ۲- تغییر  $C.677C>T$  بصورت هتروزیگوت مشاهده شد.

19928



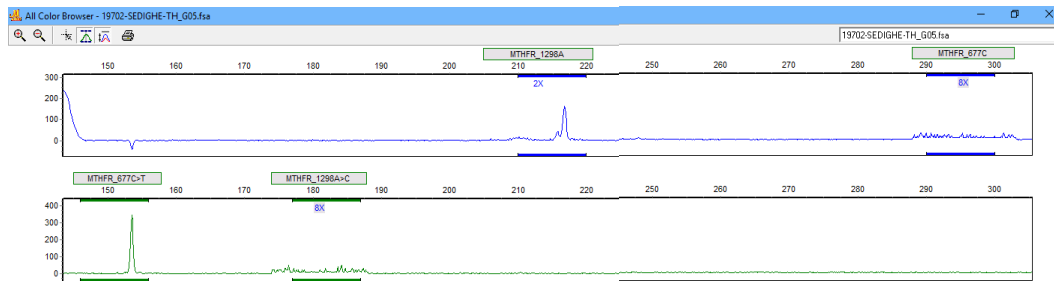
شکل ۳- تغییر c.A1298TC بصورت هتروزیگوت مشاهده شد.

19928



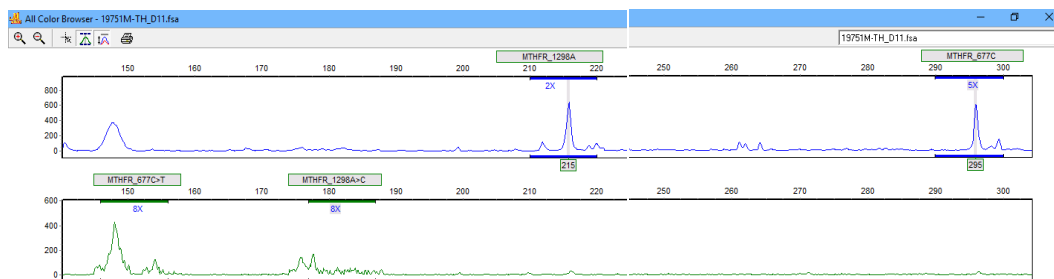
شکل ۴- تغییر c.677C>T به صورت هتروزیگوت مشاهده شد.

19702



شکل ۵- تغییر C677T: C بصورت هموزیگوت مشاهده شد.

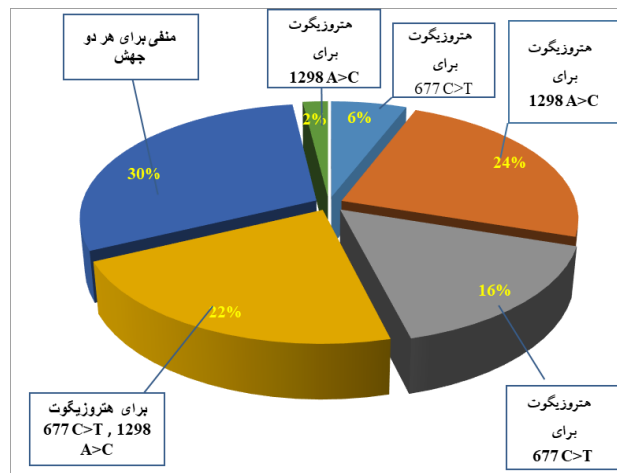
19751



شکل ۶- هیچ جهشی مشاهده نشد.

جدول ۳- مقایسه‌ی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم 677 و 1298 در ژن MTHFR در زنان دچار سقط مکرر

پلی‌مورفیسم‌ها	آلل‌ها	هر دو جهش نرمال	هر دو جهش هتروزیگوت	جهش 677 هتروزیگوت	جهش 1298 هتروزیگوت	جهش 677 هموزیگوت	جهش 1298 هموزیگوت
677	CC	۱۵	-	-	-	-	-
	CT	-	۱۱	۸	-	-	-
	TT	-	-	-	-	۳	-
1298	AA	۱۵	-	-	-	-	-
	AC	-	۱۱	-	۱۲	-	-
	CC	-	-	-	-	-	-
فراوانی نمونه‌ها	-	۱۵	۱۱	۸	۱۲	۳	۱
درصد فراوانی	-	۳۰٪	۲۲٪	۱۶٪	۲۴٪	۶٪	۲٪



نمودار ۱- نمودار بیماران جهش‌یافته در دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C در ژن MTHFR

## بحث

است؛ بنابراین مطالعه‌ی عامل و ارتباط آن با سقط مکرر جنین، همچنان یکی از موضوعات موردعلاقه‌ی پژوهشگران است (۶). در مطالعه‌ی حاضر، با توجه به نتایج بدست آمده نشان داده شد که جهش‌های C677T و A1298C ژن MTHFR نقش مؤثری در ترومبوفیلی دارند و مشابه با نتایج مطالعات اسکندری و همکاران در سال ۲۰۱۳ ارتباط معنی‌داری بین چندشکلی‌های A1298C و C677T ژن MTHFR و RPL وجود داشت (۱۹)؛ همچنین رودریگوئز و همکاران در سال

مطالعات انجام‌شده بر روی جوامع مختلف، عوامل مختلفی را برای سندرم سقط مکرر معرفی نموده‌اند. (۴) در برخی از این مطالعات نشان داده شده است که کمبود فولات، هایپر-هموسیستئین و هموزیگوتی برای پلی‌مورفیسم‌های ژن MTHFR عامل خطر برای سقط خود به خودی و تخریب جفت هستند. درحالی‌که مطالعات دیگر ارتباط میان این پلی‌مورفیسم‌ها و سقط مکرر را رد کرده‌اند. (۲) از آنجایی‌که نتایج واحدی از این مطالعات حاصل نشده

پژوهشی به تجزیه و تحلیل پلی‌مورفیسم‌های MTHFR در حاملگی و سقط مکرر به این نتیجه رسیدند که مطالعات بیشتر نشان می‌دهد غربالگری پدران به اندازه‌ی غربالگری مادران در تشخیص اولیه‌ی سقط مکرر حائز اهمیت است (۵). رای در سال ۲۰۱۶ به مطالعه‌ی آنالیز پلی‌مورفیسم MTHFR C677T و خطر سقط مکرر در جمعیت‌های آسیایی پرداخت و اذعان داشت که آنالیزها نشان می‌دهد ارتباط قوی بین MTHFR C677T و RPL در جمعیت آسیا و افزایش اهمیت استفاده از فولات در درمان پیشگیری از آن را نشان می‌دهد (۱۷). نایر و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ی آنالیز ارتباط پلی‌مورفیسم A1298C ژن MTHFR در درمان و سقط‌جنین در جمعیت هند به بررسی ارتباط ژنتیکی میان MTHFR با پلی‌مورفیسم A1298C و سقط مکرر پرداختند، نتایج آن‌ها نشان داد که چندشکلی MTHFR A1298C عاملی ژنتیکی در سقط جنین است (۱۵). خالق‌پرست و همکاران در سال ۲۰۱۱ در مطالعه‌ای به بررسی ارتباط میان دو پلی-مورفیسم C677T و A1298C در ژن MTHFR با سندرم سقط مکرر پرداختند و نتایج بدست آمده در این پژوهش نیز نشان داد هیچ یک از دو پلی‌مورفیسم MTHFR نمی‌توانند توجیه‌کننده علت سقط مکرر در زنان مورد بررسی گردند (۲). هوانگ و همکاران در سال ۲۰۱۷ در پژوهشی به بررسی MTHFR با خطر سقط مکرر در جمعیت کره پرداختند و بیان داشتند جهش MTHFR ژن C677T و A1298C با سقط مکرر ایدوپاتیک در زنان کره‌ای ارتباطی ندارد و این اتفاق نشان‌دهنده آن است که این افراد ممکن است به آلل حساس نباشند و با آسیب سقط مکرر مواجه نشوند (۱۰). فابیول و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای جهش‌های ترومبوفیلی و چندشکلی، به‌تهایی یا در حالتی ترکیبی را، در سقط مکرر خودبه‌خودی بررسی کرده و بیان داشتند که هیچ ارتباطی میان پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه بر روی RSA دیده نشده است (۱۲). لیو و همکاران در سال ۲۰۲۰ در

۲۰۰۹ دریافتند در افرادی که دارای ژن MTHFR C677T و A1298C هستند، افزایش خطر سقط خودبه‌خودی در آنها بیشتر مشاهده می‌گردد؛ پس در هنگام مصرف نامناسب یا عدم مصرف ویتامین B<sub>۱۲</sub> - پلی‌مورفیسم MTHFR را می‌توان یکی از عوامل خطرناک برای سقط خودبه‌خودی به شمار آورد. (۱۸) در مطالعاتی دیگر کالجان و همکاران در سال ۲۰۰۷ در مقاله‌ای با عنوان ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم C677T و A1298C ژن MTHFR به بررسی از دست دادن جنین به شیوه خودبه‌خودی در انسان پرداختند و به این نتیجه رسیدند که زنده ماندن جنین به‌طور مستقیم به ژنوتیپ CC عامل محافظت‌کننده جنین ارتباطی ویژه دارد. اگرچه به نظر می‌رسد ژنوتیپ MTHFR سه جهش، عاملی تعیین‌کننده در مرگ جنین و SA است. (۹) تایواری و همکاران در سال ۲۰۱۵ جهش ژن پلی‌مورفیسم MTHFR را به‌عنوان عاملی ژنتیکی در زایمان زودرس و مرگ جنین با وزن کم هنگام تولد، در جمعیت شمال شرقی هند بررسی کردند. یافته‌های آن‌ها نشان داد جهش ژن پلی‌مورفیسم MTHFR C677T خطر زایمان زودرس را افزایش می‌دهد و ممکن است به‌عنوان نشانگری تشخیصی در حاملگی‌هایی که مستعد زایمان زودرس باشند، استفاده گردد؛ بنابراین بدین‌گونه خطرات مرتبط به زایمان زودرس قابل کنترل است (۲۰). در منطقه‌ی کولار واقع در جنوب غربی هند، وانیلا و همکاران در سال ۲۰۱۵ پژوهشی با عنوان شواهدی مبنی بر دخیل بودن عوامل خطر از سوی پدر برای نوزاد را بر پلی-مورفیسم C677T ژن MTHFR ۵،۱۰ در زوجینی که دارای سقط مکرر RSAS هستند را نشان داد که پس از بررسی درنهایت مشاهده گردید که بسامد بالایی به‌طور خالص آلل T ژن MTHFR مربوط به پدر عامل سقط مکرر است؛ بنابراین، مطالعه‌ی حاضر تأثیر پلی‌مورفیسم C677T ژن MTHFR از سوی پدر نوزاد در غربالگری زوجینی که دچار سقط مکرر می‌شوند را نشان می‌دهد (۲۱). بالاسوبرامانیام و همکاران در سال ۲۰۱۷ در

## نتیجه‌گیری

نتایج بدست آمده در این پژوهش نشان داد که جهش‌های C677T و A1298C ژن MTHFR نقشی مؤثر در ترومبوفیلی دارند و بررسی‌ها حاکی از فراوانی نسبی بالای جهش‌های فوق در زنان مبتلا به سقط‌جنین را داشت. بر اساس مقالات گزارش‌شده غربالگری پدران همانند غربالگری مادران از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. جهش در پلی‌مورفیسم C677T نسبت به A1298C بیشتر بوده و نیاز است در زمینه‌ی پلی‌مورفیسم A1298C مطالعات ویژه‌ای صورت پذیرد.

## تشکر و قدردانی

کمال تشکر از سرکار خانم دکتر فاطمه بساق‌زاده و آقای دکتر محمدرضا حجاری و کارشناس آزمایشگاه نورژن اهواز آقای محمدحسین ماسبی و همکاران ایشان که در انجام این پژوهش یاری کردند ابراز می‌دارم.

پژوهشی به بررسی ارتباط بین نقایص مادرزادی هنگام تولد و چندشکلی ژن آنزیم متابولیک فولات در کودکان پرداختند و بیان داشتند که پلی‌مورفیسم فولات می‌تواند به‌طور مستقیم در نقص تولد نوزاد دخیل باشد و تقویت پلی‌مورفیسم آنزیم متابولیک فولات تعیین HCY با توجه به توانایی استفاده از اسیدفولیک، بروز نقایص هنگام تولد را در نوزاد کاهش می‌دهد (۱۳). بیلا و همکاران در سال ۲۰۱۲ بیان کردند که آلل C677T ژن MTHFR با کم شدن فولات ارتباطی مستقیم دارد (۲۲). سنبلستان و همکاران در سال ۲۰۱۸ در بررسی پلی‌مورفیسم C677T ژن MTHFR با میزان هموسیستین در زنان مبتلا به ناباروری اولیه و ثانویه در استان اصفهان به این نتیجه رسیدند که وجود پلی‌مورفیسم C677T ژن MTHFR می‌تواند با افزایش سطح هموسیستین و کاهش سطح اسیدفولیک و ویتامین موجب ایجاد سندرم سقط مکرر جنین گردد (۴).

## منابع

- اسکندری، فاطمه؛ اکبری، محمدتقی؛ زارع‌کاریزی، شهره (۲۰۱۳) «بررسی ارتباط چندشکلی‌های C677T و A1298C ژن MTHFR با سقط مکرر جنین» نشریه پژوهنده، (۴) ۱۸، ۱۶۷-۱۷۳.
- اشکان، سیدامین؛ ذاکرستان‌آباد، سعید؛ میرزااحمدی، سینا (۱۳۹۷) «بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن‌های دستگاه (DROSHA) EXPORTIN5) miRNA & سقط مکرر خودبه‌خودی در شهر تهران» مجله تازه‌های بیوتکنولوژی سلولی-مولکولی ۸، ۳۰، ۴۵-۵۲.
- خالق‌پرست، امین؛ مروتی، سعید؛ نورمحمدی، زهرا (۱۳۹۰) «ارتباط دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C در ژن MTHFR با سندروم سقط مکرر» ۸۸-۹۵.
- polymorphisms of the folate pathway in Brazilian women with history of recurrent abortion. Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia, 37, 71-76.
- Callejon, G., Mayor-Olea, A., Jimenez, A. J., Gaitán, M. J., Palomares, A. R., Martínez, F., ... & Reyes-Engel, A. (2007). Genotypes of the
- زارع‌کاریزی، شهره و میرفخرایی (۱۳۹۷): «مطالعه همراهی چندشکلی‌های rs3024998 و rs699947 در ژن VEGF با خطر بروز سقط مکرر جنین.» دانش زیستی ایران ۱۲، ۴: ۸-۱.
- سنبلستان، الهام‌سادات؛ سازگار، حسین؛ ضیاء‌جهرمی، نوشا؛ محمدی‌فارسانی، فرزانه (۱۳۹۷) «ارتباط پلی‌مورفیسم C677T ژن متیلن‌تتراهیدروفولات ردوکتاز با میزان هموسیستین در زنان مبتلا به ناباروری اولیه و ثانویه در استان اصفهان» مجله دانشگاه علوم پزشکی فسا ۸۱، ۶۴۷-۶۵۶.
- ولیان بروجنی و صادق (۱۳۹۳) «ارزیابی سقط مکرر و اهمیت عوامل ژنتیکی» آزمایشگاه و تشخیص ۳۶، ۶: ۴۱-۳۶.
- Balasubramaniam, A. Kotalawala, S. & Amarasekara, R. (2017). Analysis of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) Polymorphisms (C677t & A1298c) in recurrent pregnancy loss (RPL). J Gynecol, 1(4), 1-5.
- Boas, W. V. Gonçalves, R. O., Costa, O. L. N., & Goncalves, M. S. (2015). Metabolism and gene

- C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene as a cause of human spontaneous embryo loss. *Human reproduction*, 22(12), 3249-3254.
- 10- Franzago, M., Santurbano, D., Vitacolonna, E., & Stuppia, L. (2020). Genes and diet in the prevention of chronic diseases in future generations. *International journal of molecular sciences*, 21(7), 2633.
  - 11- Hwang, K. R., Choi, Y. M., Kim, J. J., Lee, S. K., Yang, K. M., Paik, E. C., ... & Hong, M. A. (2017). Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and risk of recurrent pregnancy loss: a case-control study. *Journal of Korean medical science*, 32(12), 2029-2034.
  - 12- Lino, F. L., Traina, É., Barreto, J. A., Moron, A. F., & Mattar, R. (2015). Thrombophilic mutations and polymorphisms, alone or in combination, and recurrent spontaneous abortion. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 21(4), 365-372.
  - 13- Liu, J. (2020). Association Analysis between Birth Defects and Folate Metabolic Enzyme Gene Polymorphism in Children. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 70 (1).
  - 14- Mtiraoui, N., Zammiti, W., Ghazouani, L., Braham, N. J., Saidi, S., Finan, R. R., ... & Mahjoub, T. (2006). Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. *Reproduction*, 131(2), 395-401.
  - 15- Nair, R. R., Khanna, A., Singh, R., & Singh, K. (2013). Association of maternal and fetal MTHFR A1298C polymorphism with the risk of pregnancy loss: a study of an Indian population and a meta-analysis. *Fertility and sterility*, 99(5), 1311-1318.
  - 16- Noori, N., Najafian, A., Saberi, S., & Ghasemi, M. (2020). Measurement of Homocysteine Levels in Pregnant Women with and Without Preeclampsia. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 74- 80.
  - 17- Rai, V. (2016). Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss risk in Asian population: a meta-analysis. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 31(4), 402-413.
  - 18- Rodríguez-Guillén, M. D. R., Torres-Sánchez, L., Chen, J., Galván-Portillo, M., Blanco-Muñoz, J., Anaya, M. A., ... & López-Carrillo, L. (2009). Maternal MTHFR polymorphisms and risk of spontaneous abortion. *Salud Pública de México*, 51, 19-25.
  - 19- Santos, W. V. B., Gonçalves, R. O., Costa, O. L. N., & Gonçalves, M. D. S. (2015). Metabolism and gene polymorphisms of the folate pathway in Brazilian women with history of recurrent abortion.
  - 20- Tiwari, D., Bose, P. D., Das, S., Das, C. R., Datta, R., & Bose, S. (2015). MTHFR (C677T) polymorphism and PR (PROGINS) mutation as genetic factors for preterm delivery, fetal death and low birth weight: A Northeast Indian population based study. *Meta Gene*, 3, 31-42.
  - 21- Vanilla, S., Dayanand, C. D., Kotur, P. F., Kutty, M. A., & Vegi, P. K. (2015). Evidence of paternal N5, N10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T gene polymorphism in couples with recurrent spontaneous abortions (RSAs) in Kolar district-A south west of India. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 9(2), BC15.
  - 22- Yila, T. A., Sasaki, S., Miyashita, C., Braimoh, T. S., Kashino, I., Kobayashi, S., ... & Kishi, R. (2012). Effects of maternal 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C Polymorphisms and tobacco smoking on infant birth weight in a Japanese population. *Journal of epidemiology*, 22(2), 91-102.

## Evaluation of polymorphisms associated with recurrent miscarriage in MTHFR gene in Khuzestan province

Karamzadeh A.<sup>1</sup>, Bossaghzadeh F.<sup>1\*</sup> and Hajjari M.R.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Biology, Dezful Branch, Islamic Azad University, Dezful, I.R. of Iran.

<sup>2</sup> Dept. of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, I.R. of Iran.

### Abstract

Background and purpose; Recurrent Pregnancy Loss (RPL) is a multifactorial disorder responsible for 15% of miscarriages. The fundamental causes of recurrent miscarriage are unknown. Research shows that MTHFR polymorphism is a main genetic risk factor for recurrent miscarriage. Accordingly, this study aimed to investigate and compare the frequency of different mutations among women with recurrent miscarriages. Cases and Methods; In this study, 50 women with recurrent miscarriages who had at least two or more miscarriages; were studied, and Two polymorphisms of the MTHFR gene were by electrophoresis, and the ABI 3130XL device were studied; after that, a related abundance chart has drawn. Results show that Out of 50 women with recurrent miscarriage, fifteen (30%) were negative for both mutations, and 11 (22%) were both heterozygous for A> C 1298 and C> T> 677. eight patients (16%) were heterozygous, three of them (6%) were homozygous C> T 677, twelve (24%) were heterozygous, and just one of them (2%) were homozygous A> C 1298. Conclusion: The results showed that mutations C677T and A1298C of the MTHFR gene have a drastic role in thrombophilia and deliver a high relative frequency of these mutations in women with miscarriage.

**Key words:** Recurrent Pregnancy loss, Thrombophilia, Folate cycle, MTHFR gene polymorphism, PCR.