مقاله تحقیقی

مطالعه همراهی چندشکلی‌های rs3024998 و rs3025000 در ژن VEGF با خطر بروز سقط مکرر جنین

شهره زارع کاریزی[1،*]، رضا میرفخرایی[2]

۱. دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین- پیشوا، گروه زیست شناسی، ورامین – پیشوا، ایران
۲. گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

* **نویسنده مسئول**: شهره زارع کاریزی، گروه زیست شناسی، واحد ورامین پیشوا، دانشگاه آزاد اسلامی، آدرس الکترونیکی: shohrehzare@yahoo.com

محل انجام تحقیق: آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران- دکتر اکبری، آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دانشگاه شهید بهشتی

تاریخ دریافت: ۹۵/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۰/۲۳

فصلنامه علمی پژوهشی دانش زیستی ایران
جلد ۱۰- شماره ۴- زمستان ۱۳۹۴

چکیده

سقط مکرر به عنوان دو یا بیش از دو مورد سقط پشت سرهم تا هفته ۲۰ حاملگی تعریف می‌شود. دلایل متنوعی برای بروز این بیماری شناخته شده است. پاتوژنز سقط مکرر جنین در انسان شامل عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی می‌باشد، با این حال هنوز علت ۵۰ ٪سقط مکررناشناخته است. پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های مختلفی در بروز سقط جنین موثر می‌باشند که یکی از این ژن‌ها، ژن فاکتور رشد اندوتلیالی عروقی (VEGF) می‌باشد. در این تحقیق به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن VEGF با سقط مکرر جنین پرداخته شده است. در این مطالعه ۲۰۰ زن مورد مطالعه قرار گرفتند که ۱۰۰ زن با تعداد دو یا بیشتر سقط به عنوان بیمار و ۱۰۰ نفر با حداقل دو تولد موفق به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. DNA ژنومی هر فرد از لوکوسیت‌های خون استخراج شد. جهت شناسایی پلی‌مورفیسم rs3024998 و rs3025000 ژن VEGF ازتکنیک PCR-RFLP استفاده شد. آنزیم محدودالاثر *MnlI* برای هضم آنزیمی استفاده شد. محصولات حاصل از هضم آنزیمی روی ژل آکریلامید ۱۲٪ برده شد. آنالیز توصیفی ژنوتیپ‌های هر جایگاه، فراوانی هموزیگوت و هتروزیگوت در دو گروه بیمار و شاهد مطالعه گردید. اختلاف بین فراوانی آللی بین افراد بیمار و کنترل با استفاده از آزمون مربع کای توسط نرم‌افزار SPSS ver.18 مورد مطالعه قرارگرفت. آنالیزهای آماری تفاوت معنی داری ($P<0.05$) بین فراوانی آللی جایگاه‌های مزبور در افراد بیمار و سالم نشان ندادند. نتایج این تحقیق نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های ژن VEGF و سقط مکرر جنین وجود نداشت که مطالعات بیشتر در این زمینه را می طلبد.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم، سقط مکرر جنین، ژن VEGF، آنزیم های محدودالاثر

مقدمه

سقط مکرر جنین ۱ تا ۲ درصد بارداری‌ها را شامل می‌شود و به از دست دادن ۲ یا تعداد بیشتری جنین قبل از هفته‌ی بیستم بارداری اطلاق می‌شود (۱،۲). دلایل شناخته شده این بیماری چند عاملی مشکلات آناتومیکی، مشکلات هورمونی، عوامل عفونی، مشکلات ایمونولوژیکی، ناهنجاری کروموزومی، عفونت‌های رحمی، دیابت، بیماری‌های تیروئیدی، ترومبوفیلی های ارثی- اکتسابی و فاکتور های

محیطی می باشد. با این وجود، همچنان علت نیمی از سقط‌ها نا شناخته باقی مانده است (۳-۵). از عوامل ژنتیکی سقط مکرر جنین می‌توان جابه‌جایی‌های متعادل کروموزومی در والدین، شکستگی‌های کروموزومی در جنین را نام برد (۶،۷).

بارداری موفق وابسته به ارتباط خونی مادر و جنین می‌باشد. بعد از مبادله مواد خونی بین جنین و مادر، خون دارای اکسیژن و مواد غذایی از طریق وریدها به ورید نافی و سیستم گردش خون جنین وارد می‌شود. جفت انسان سر شار از عروق خونی است و در پایان بارداری، به صورت یک شبکه مویرگی با طول 552 کیلومتر و سطحی برابر با ۲۵ سانتیمتر مربع گسترده شده است. عروق و رگزایی های بعدی نقش مهمی در تکوین جفت دارند. تنظیم نامناسب و یارگزایی ناکارامد موجب محدودیت رشد جنین شده و ممکن است موجب بروز سقط شود. مواد مغذی کافی و تأمین بستر مناسب برای رشد طبیعی داخل رحمی جنین، ضروری است. اختلال در جریان خون رحمی با عوارض پریناتال و مرگ و میر ناشی از زایمان زودرس، پره‌اکلامپسی و یا محدودیت رشد داخل رحم در ارتباط است. از آنجا که بیان ژن *VEGF* و وجود این عامل رشد در تشکیل عروق خونی نقش مهمی دارد می تواند در تشکیل جفت و رساندن مواد مغذی از مادر به جنین موثر باشد و در صورت عدم وجود این عامل رشد در تشکیل عروق جفت اختلال ایجاد می‌شود و موجب نارسایی جفت و در نهایت اختلال در انتقال مواد مغذی از مادر به جنین می‌شود و سقط جنین را به دنبال خواهد داشت (۸).

VEGF یک پروتئین نشانگر تر شحی است که علاوه بر نقش در تکثیر، مهاجرت و بقای سلول‌های اندوتلیال عروقی به عنوان یک عامل چند منظوره برای انواع مختلفی از سلول‌های غیراندوتلیالی در مهره‌داران عمل می کند. ژن کد کننده *VEGF*[1]انسانی روی کروموزوم 6p21.1 به طول ۱۶۳۰۴ جفت باز قرار دارد. این ژن در انسان دارای ۸ اگزون می‌باشد که با هفت اینترون جدا شده اند. *VEGF* باعث مجموعه ای از پاسخ ها درسلول‌های اندوتلیالی در *in vitro* از جمله تحریک تکثیر و مهاجرت سلول ها و القا بیان ژن‌های پیش التهابی می‌شود (۹). الگوهای بیان *VEGF* و گیرنده های انتخابی آن با دو عامل ارتباط دارد. یکی زمینه‌های رشد عروق در حال توسعه جنین و دیگری طول دوره بارداری زنان. مهمترین اثر فقدان *VEGF* و گیرنده های آن، کاهش رشد و نمو عروق و نقص عملکرد عروق می‌باشد (۱۰-۱۱). این نکته نیز قابل توجه است که ژن *VEGF* در حالت هتروزیگوت به صورت غیر فعال عمل می‌کند و منجر به اختلال شدید در گسترش رگ‌ها و مرگ جنین می‌شود که این مطلب نشان دهنده مهم بودن دوز مناسب *VEGF* برای تکامل و رشد عروق می‌باشد (۱۲). لذا در این مطالعه ارتباط دو چندشکلی rs3024998 و rs3025000 در ژن VEGF با سقط مکرر جنین در دو گروه شاهد و مورد با استفاده از روش PCR-RFLP بررسی شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۰۰ زن مبتلا به سقط مکرر با علت ناشناخته با میانگین و انحراف معیار سن (27.7±5.03) که حداقل ۲ سقط قبل از هفته‌ی بیستم بارداری داشته به عنوان مورد انتخاب شدند. گروه مورد به گونه‌ای انتخاب شدند که فاقد مشکلات آناتومیکی رحم، مشکلات سیتوژنتیکی، مشکلات هورمونی، مشکلات ایمونولوژیک و اختلالات اسپرم همسر باشند. به همین منظور به بیماران پیشنهاد انجام آزمایشات: تعیین کاریوتیپ خانم و آقا، Vaginal Ultrasound Scan، سنجش FBS, LH، PRL, TSH, T3, T4، ارزیابی فاکتورهای ترومبوفیلی (PT, PTT Antithrombin III, Protein C, Protein S)، Anti -dsDNA،TORCH Study، آزمایشات ایمونولوژی ANA,TPOAb, APA, ACA) TgAb) و آنالیز اسپرم Volume, pH, Sperm (Motility, Morphology, Count) داده شد. این زنان در طی سال‌های ۱۳۹۱-۱۳۸۹ از نقاط مختلف ایران به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران-دکتر اکبری مراجعه کرده

[1]Vascular endothelialgrowth factor

بودند. در مقابل ۱۰۰ زن که حداقل ۲ تولد موفق داشته و فاقد سابقه سقط بودند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. میانگین و انحراف معیار سن این افراد 4.66±30 بود. پس از دادن آگاهی و تکمیل رضایت نامه، ۵ میلی لیتر خون محیطی از افراد مورد و شاهد در لوله‌های حاوی EDTA اخذ شد. نمونه‌ی DNA این افراد با روش نمک اشباع استخراج شد (۱۳).

تکثیر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای هر قطعه انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی چند شکلی‌های rs3024998 و rs3025000 ژن VEGF و طول محصولات PCR برای هر پرایمر در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱ - توالی پرایمر های مورد استفاده و طول محصولات PCR جهت بررسی چند شکلی rs3024998 و rs302500.

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)
rs3024998-F	۵′-CACCACACCATCACCATCGAC-3′	۲۵۱
rs3024998-R	۵′-TATGTGGGTGGGTGTGTCTACAG-3′	
rs3025000-F	۵′-GCGTGTCTCTGGACAGAGTTTC-3′	۱۴۵
rs3025000-R	۵′-ATATCAAATTCCAGCACCGAG-3′	

واکنش PCR برای هر دو چندشکلی در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۲/۵ میکرولیتر 10X PCR Buffer، ۰/۲۵ میلی مولار از هر dNTPs، ۱/۵ میلی مولار MgCl2، ۵-۷ پیکو مول از هر پرایمر و ۰/۵ واحد آنزیم *Taq* DNA polymerase (سیناژن، ایران) صورت گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل، دمای۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۳ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت۱ دقیقه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و طویل‌سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. جهت شناسایی چندشکلی‌های rs3024998 و rs3025000 محصول PCR مربوطه با استفاده از آنزیم محدودالاثر *MnlI* مورد هضم آنزیمی قرار گرفت.

محصول PCR جهت بررسی rs3024998 طولی معادل ۲۵۱ جفت باز خواهد داشت. آلل جهش یافته T برای آنزیم *MnlI* هیچ توالی قابل شناسایی ندارد و برشی ایجاد نمی‌کند، اما آلل C با آنزیم برش یافته و ایجاد دو قطعه ۱۰۵ و ۱۴۶ جفت بازی می‌کند.

در مورد چندشکلی rs3025000، محصول PCR طولی معادل ۱۴۵ جفت باز خواهد داشت که وجود آلل A فاقد جایگاه برش برای آنزیم *MnlI* است، در نتیجه یک قطعه ۱۴۵ جفت بازی ایجاد خواهد نمود و ژنوتیپ GG ایجاد دو قطعه ۱۲۲ و ۲۳ جفت بازی می کند.

محصولات PCR پس از هضم آنزیمی روی ژل آکریل آمید ۱۲٪ برده شد و پس از رنگ‌آمیزی با نیترات نقره نتایج حاصله آنالیز گردید.

مشاهدات وارد نرم افزار spss-version18 شد و توزیع ژنوتیپ‌های هر جهش، فراوانی هموزیگوت و هتروزیگوت‌ها در دو گروه بیمار و شاهد با استفاده از مربع کای پیرسون و تست دقیق فیشر مورد سنجش قرار گرفت. p-value کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. p-value و میزان خطر نسبی محاسبه گردید.

نتایج

در این تحقیق چندشکلی rs3024998 و rs3025000 در 100 زن که حداقل ۲ تولد موفق داشتند و ۱۰۰ زن مبتلا به سقط مکرر با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت.

فراوانی ژنوتیپی و آللی برای چند شکلی rs3025000 در جدول ۲ ارائه شده است. فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در گروه های مورد مطالعه از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت می کند. فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده برای این چند شکلی در

بین گروه زنان مبتلا به سقط مکرر و گروه شاهد ارتباط معنی داری نشان نداد و به ترتیب بدین قرار است: 56 درصد مقابل 66 درصد هموزیگوت CC، 4 درصد مقابل 7 درصد هموزیگوت TT و 4 درصد مقابل 27 درصد هتروزیگوت CT. در جدول ۳ نیز ارتباط ژنوتیپ های rs3025000 با سقط مکرر جنین مشاهده می شود.

فراوانی ژنوتیپی و آللی برای چند شکلی rs3024998 در جدول ۴ ارائه شده است. فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در گروه های مورد مطالعه از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت می کند. فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده برای این چند شکلی در بین گروه زنان مبتلا به سقط مکرر و گروه شاهد به ترتیب بدین قرار است: ۰/۴۱ درصد مقابل ۰/۳۶ درصد هموزیگوت CC، 20 درصد مقابل 17 درصد هموزیگوت TT و 39 درصد مقابل 48 درصد هتروزیگوت CT. در جدول ۵ نیز نتایج بررسی ارتباط ژنوتیپ های rs3024998 با سقط مکرر جنین ارائه شده است. همان طور که ملاحظه می شود ارتباط معنی داری بین این چند شکلی با سقط مکرر جنین مشاهده نشد.

نتایج آنالیز آماری آزمون مربع کای با p values نشان داد که ژنوتیپ های مشاهده شده از لحاظ آماری معنادار نیست. همچنین odds- ratios برای همه تست های مرتبط نزدیک بود که بیانگر این مسئله است که چند شکلی ها rs3024998 و rs3025000 دارای پراکنش مشابه در دو گروه می باشد.

بحث

برقراری یک حاملگی موفق،مستلزم تنظیم تعامل اجزای مختلفی است که در ارتباط میان مادر و جنین مشارکت می کنند. پاتوژنز سقط مکرر جنین پیچیده است و از آن جمله می توان به مشکلات آناتومیکی رحم، اختلالات اندوکرین، جابه‌جایی‌های کروموزومی، بیماری‌های خودایمنی و فاکتورهای ترومبوفیلیایی، نواقص آنتی‌ترومبین، پروتئین C، پروتئین S که به عنوان ریسک فاکتور شناخته شدند، اشاره داشت. تشکیل جفت نیز به تعامل میان محصولات ژنی و فعالیت سلولی مادر و جنین نیازمند است. التهاب، رشد سلول و تکثیر، آپوپتوز و تمایز، تهاجم سلول، رگ زایی، آزاد شدن سیتوکین های مختلف، هورمون ها و عوامل رشد، تنظیم پاسخ های ایمنی ذاتی و اکتسابی مادر از جمله فعالیت های برجسته ای است که در خلال تشکیل جفت صورت می پذیرد. بدیهی است که این حوادث متعدد به هم پیوسته، نیاز به تنظیم مناسب هزاران ژن دارد(۱۴-۱۵). ژن فاکتور *VEGF* ۸ اگزون و ۶ ایزوفرم دارد که در بسیاری از سلول‌های مختلف بدن مانند فولیکول های تخمدان، جسم زرد، سلول‌های آلوئول ریه، گلومرول کلیه، سلول‌های اپیتلیال احشایی، سلول‌های توبولی پروگزیمال کلیه، تمام سلول‌های قشر آدرنال، سلول‌های لیدیگ، ماکروفاژهای فعال، فیبروبلاست های اطراف شریان، سلول‌های اپی‌تلیال برونشیال و شبکه کوروئیدو هپاتوسیت‌ها تولید می‌شود. *VEGF* برای یک حاملگی موفق، مهم است. مطالعات نشان داده که *VEGF* نقش مهمی در مراحل اولیه بارداری در طول فرآیند آنژیوژنز ایفا می کند (۱۶).

جدول ۲ - فراوانی ژنوتیپی و آللی rs3024998 در بیماران دارای سقط مکرر جنین.

شاهد	مورد	
درصد	درصد	آلل
۸	۷۶	C
۲	۲۴	T
		ژنوتیپ
۶۶	۵۶	C/C
۲۷	۴	C/T
۰۷	۰/۴	T/T

جدول ۳ - ارتباط ژنوتیپ های rs3025000 با سقط مکرر جنین.

چند شکلی	مورد (درصد)	شاهد (درصد)	OR(95% CI)	P-value
CC	۵۶/۱	۶۶	۱/۰۰	
CT	۴۰/۲	۲۷/۲	۰/۵۷ (۰/۳۲ -۱/۰۴)	۰/۱۱
TT	۳/۷	۶/۸	۱/۵۴ (۰/۵-۴۳/۵۳)	

جدول ۴ - فراوانی ژنوتیپی و آللی rs3024998 در بیماران دارای سقط مکرر جنین.

	مورد	شاهد
آلل	درصد	درصد
C	۶۱	۶
T	۳۹	۴
ژنوتیپ		
CC	۴۱	۳۶
CT	۳۹	۴۸
TT	۲۰	۱۷

جدول ۵ - ارتباط ژنوتیپ های rs3024998 با سقط مکرر جنین.

چند شکلی	مورد (درصد)	شاهد (درصد)	OR(95% CI)	P-value
C/C	۴۱/۱	۳۵/۹	۱/۰۰	
C/T	۳۹/۲	۴۷/۶	۱/۳۹ (۰/۷۶ -۲/۵۳)	۰/۴۷
T/T	۱۹/۶	۱۶/۵	۰/۹۶ (۰/۲-۴۴/۰۹)	

در اوایل حاملگی افزایش قابل توجهی در غلظت VEGF مشاهده شده است (۱۷). نارسایی جفتی مسئول برخی از موارد غیر قابل توضیح سقط مکرر است (۱۸). VEGF نقش مهمی را در این فرآیند با شرکت در رگزایی و نفوذ پذیری عروق و تهاجم فیبروبلاست برای لانه گزینی ایفا می‌کند. هر گونه اختلال و کاهش بیان ژن می‌تواند منجر به شکست لانه گزینی رویان شود. ژن *VEGF* بسیار چندشکل است و در جمعیت های مختلف متفاوت می‌باشد و بر اثر این اختلاف می‌تواند بیماری‌های متفاوتی را ایجاد کند. حدود ۳۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی مرتبط با کاهش بیان پروتئین *VEGF*وجود دارد (۱۹-۲۰).

VEGF نقش مهمی را در پاتوژنز پره اکلامپسی و تنظیم و بازسازی عروق جفت بازی می کند. از این رو در سال ۲۰۰۶ تحقیقی در مجارستان در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم‌هایG+405C و C–2578A ژن *VEGF* روی ۸۴ زن با پره اکلامپسی شدید و ۹۶ نفر شاهد با حاملگی اول بدون عارضه انجام شد.روش RFLP استفاده شد. G+405C استعداد ابتلا به پره اکلامپسی را کاهش می‌دهد. وجود آلل C–2578A موجب تغییر پیشرفت پره اکلامپسی می‌شود (۲۱). *VEGF* در بیماری‌های آترواسکلروز مانند بیماری‌های عروق مغزی و بیماری‌های قلبی و عروقی در ارتباط است با این حال اثر پلی‌مورفیسم‌های C>T-936،

-634G>C،-1154G>A،2578C>A در استعداد ابتلا به سکته مغزی و انفارکتوس مغزی گزارش نشده است. به این منظور kim و همکاران در سال ۲۰۱۱ در این مورد روی ۶۱۵ بیمار مبتلا به سکته ایسکمیک و ۳۷۶ نفر مبتلا به سکته مغزی و ۴۹۴ نفر به عنوان شاهد را مورد مطالعه قرار دادند. در نهایت مشاهده کردند که پلی‌مورفیسم‌های 634G>C- و 936C>T با سطح هموسیستئین بیماران و انسداد یک یا چند واحد عروقی کوچک ارتباط دارد (۲۲).

شهبازی و همکاران نیز در سال ۲۰۰۲ در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم‌های *VEGF* با بیماری رد پیوند کلیه تحقیقی را انجام دادند. ۱۷۳ فرد دریافت کننده پیوند که پیوندشان رد شده بود را در نظر گرفتند و پس از بررسی مشاهده کردند که آلل های G ۱۱۵۴- و C ۲۵۷۸- ارتباط معنی داری با تولید *VEGF* و رد پیوند داشت (۲۳).

در این تحقیق چندشکلی rs3024998 و rs3025000 در 100 زن مبتلا به سقط مکرر و ۱۰۰ زن نرمال مورد بررسی قرار گرفت. هر دو چند شکلی فاقد ارتباط معنی دار با سقط مکرر جنین بودند.

Li و همکاران (۲۰۱۳) به بررسی ارتباط چند شکلی rs3024998 در ۲۲۷ زن دارای سقط مکرر و ۲۳۲ زن نرمال در جمعیت چین پرداختند. در این مطالعه ژنوتیپ CC فراوانی ۳۳ و ۳۴ درصد، ژنوتیپ TT فراوانی ۱۰ و ۱۴ درصد و ژنوتیپ CT فراوانی ۵۷ و ۵۲ درصد به ترتیب در گروه مورد و شاهد مشاهده شد. به این ترتیب ارتباط معنی داری بین سقط مکرر با چند شکلی rs3024998 در جمعیت مورد مطالعه دیده نشد (p=0.24). در همین جمعیت چند شکلی rs3025000 نیز بررسی شد. فراوانی ژنوتیپ CC در گروه مورد و شاهد به ترتیب ۷۴ و ۷۵ درصد، ژنوتیپ TT فراوانی ۱۰ و ۱۴ درصد و ژنوتیپ CT فراوانی ۵۷ و ۵۳ درصد در گروه مورد و شاهد داشت. این چند شکلی نیز فاقد ارتباط معنی دار (p=0.14) با سقط مکرر جنین بود. فراوانی آلل C و T در چندشکلی های rs3024998 و rs3025000 در هردو گروه مورد و شاهد برابر (فراوانی آلل C ۶۰ درصد و فراوانی آللT تقریبا ۴۰ درصد در گروه مورد و شاهد بود) (۲۴).

با توجه به مطالعات محدود انجام شده در چین و مقایسه آنها با مطالعه کنونی می توان علت اختلاف نتایج در نمونه های مورد بررسی مواردی باشد که ذیل توضیح داده شده است.

با توجه به شیوع پایین برخی از آلل ها در جمعیت مورد مطالعه، احتمال یافتن ژنوتیپ هموزیگوت موتانت نیز کاهش می یابد. علت این امر می‌تواند کوچک بودن حجم نمونه مورد بررسی باشد. مطالعات انجام شده در مناطق مختلف جهان تناقضاتی را در زمینه سطح معنی داری پلی‌مورفیسم‌ها با سقط مکرر نشان دادند. این تفاوت در نتایج مطالعات کشورهای مختلف می‌تواند به دلیل ارتباط رخداد پلی‌مورفیسم‌ها در جمعیت های مختلف باشد. از طرف دیگر پراکندگی(توزیع) SNPها در جوامع مختلف متفاوت است. در نهایت، اثرات فنوتیپی چندشکلی‌های ژنی به وسیله سایر عوامل ژنتیکی یا زمینه ژنتیکی فرد، تاثیر ژن های مختلف برهم و عوامل محیطی متاثر می‌گردد که بهترین مثال از برهمکنش ژن- محیط در ایجاد یک فنوتیپ است. از اینرو این امر محتمل است که چندشکلی‌ها تنها در ارتباط با پیش زمینه ژنتیکی خاص و یا همراه با عوامل محیطی می‌توانند منجر به بروز اختلال شوند (۲۵-۲۶).

ایران کشوری است که علاوه بر جمعیت زیاد، اقوام مختلفی را هم در خود جای داده است و هر قوم می‌تواند فراوانی آللی مخصوصی را داشته باشد. بنابراین نادیده‌گرفتن این موضوع می‌تواند گاها نتایج خلاف واقعی را نشان دهد. بنابراین در صورتی که بتوان حجم نمونه زیادی را با درنظر گرفتن این عوامل مورد بررسی قرار داد، می‌توان با اطمینان بیشتری در مورد معنی‌دار بودن یا نبودن این پلی‌مورفیسم‌ها با سقط مکرر در بیماران ایرانی بحث نمود.

تقدیر و تشکر

این مقاله ماحاصل طرح تحقیقاتی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ورامین -پیشوا می باشد.

منابع مورد استفاده

۱. کانینگهام اف گری. ۱۳۹۰ ، بارداری و زایمان ویلیامز. چاپ دوم، ولدان مهرناز، تهران انتشارات کتاب ارجمند.

2. Beauchamp, N. J., Daly, M. E., Hampton, K. K., 1994. High prevalence of a mutation in the factor V gene within the UK population: Relationship to activated protein C resistance and familial thrombosis. Hypertension 88: 219-222.
3. Ridker, P. M., Miletich J. P., Hennekens, C. H., 1997. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women. Implications for venous thromboembolism screening. The Journal of American Medical Association 277: 1305-1307.
4. Bagheri, M., Rad, A. I., Nanbakhsh, F., 2011. Factor V leiden G1691A and factor II G20210A point mutation and pregnancy in north-west of Iran. Obstetrics and Gynecology Journal 284: 1311-1315.
5. Torabi, R., Zarei, S., Zeraati, H., Zarnani, A. H., Akhondi, M. M., Hadavi, R., 2012. Combination of thrombophilic gene polymorphisms as a cause of increased the risk of recurrent pregnancy loss. Journal of Reproduction Infertility 13: 89-94.
6. Rahimi, Z., Vaisi-Raygani, A., Mozafari, H., Rezaei, M., Nagel, R. L., 2012. Prevalence of factor V leiden (G1691A) and prothrombin (G20210A) among Kurdish population from Western Iran. Genetic Testing and Molecular Biomarkers Journal 16: 806-811.
7. Behjati, R., Modarressi, M. H., Jeddi-Tehrani, M., Dokoohaki, P., Ghasemi, J., Zarnani, A. H., 2006. Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility and recurrent spontaneous abortion. Annals of Hematology 85: 268-271.
8. Burton, G. J., Yung, H. W., Cindrova-Davies, T., Charnock-Jones, D. S., 2009. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. Placenta 30: 43-48.
9. Traver, D., Zon, L. I. 2002. Walking the walk: migration and other common themes in blood and vascular development. Cell 108(6): 731-734.
10. Breier, G., Albrecht, U., Sterrer, S., Risau, W., 1992. Expression of vascular endothelial growth factor during embryonic angiogenesis and endothelial cell differentiation. Development 114(2): 521-532.
11. Ferrara, N., Gerber, H. P., LeCouter, J. 2003. The biology of VEGF and its receptors. Nature medicine 9(6): 669-676.
12. Miquerol, L., Langille, B. L., Nagy, A. 2000. Embryonic development is disrupted by modest increases in vascular endothelial growth factor gene expression. Development 127(18): 3941-3946.
13. Miller, S. A, Dykes, D. D, Polesky, H. F., 1998. A simple salting out procedure foe extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research Journal 16: 1215.
14. Walker, I. D., 2000. Thrombophilia in pregnancy. Journal of clinical pathology 53(8): 573-580.
15. Gris, J. C., Quéré, I., Sanmarco, M., Boutiere, B., Mercier, E., Amiral, J., Mares, P., 2000. Antiphospholipid and antiprotein syndromes in non-thrombotic, non-autoimmune women with unexplained recurrent primary early foetal loss-the Nimes Obstetricians and Haematologists Study. Thromb Haemost 82(2): 634-640.
16. Rowe, A. J., Wulff, C., Fraser, H. M., 2003. Localization of mRNA for vascular endothelial growth factor (VEGF), angiopoietins and their receptors during the peri-implantation period and early pregnancy in marmosets (Callithrix jacchus). Reproduction 126(2): 227-238.
17. Molskness, T. A., Stouffer, R. L., Burry, K. A., Gorrill, M. J., Lee, D. M., Patton, P. E., 2004. Circulating levels of free and total vascular endothelial growth factor (VEGF)-A, soluble VEGF receptors-1 and-2, and angiogenin during ovarian stimulation in non-human primates and women. Human Reproduction 19(4): 822-830.
18. Norwitz, E. R., 2006. Defective implantation and placentation: laying the blueprint for pregnancy complications. Reproductive Biomedicine Online 13(4): 591-599.
19. Mohammadi, M., Ollier, W. E., Hutchinson, I. V., 2003. A functional association study of VEGF gene promoter polymorphisms with VEGF expression by stimulated pbm cells. Human Immunology 64(10): S125.
20. Papazoglou, D., Galazios, G., Papatheodorou, K., Liberis, V., Papanas, N., Maltezos, E., Maroulis, G. B., 2005. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and idiopathic recurrent pregnancy loss. Fertility and Sterility 83(4): 959-963.
21. Bányász, I., Szabó, S., Bokodi, G., Vannay, Á., Vásárhelyi, B., Szabó, A., Rigó, J. 2006. Genetic polymorphisms of vascular endothelial growth factor in severe pre-eclampsia. Molecular Human Reproduction 12(4): 233-236.
22. Kim, O. J., Hong, S. H., Kim, T. G., Min, K. T., Kim, N. K., 2011. Association between VEGF polymorphisms and homocysteine levels in patients with ischemic stroke and silent brain infarction. Stroke 42(9): 2393-2402.
23. Shahbazi, M., Fryer, A. A., Pravica, V., Brogan, I. J., Ramsay, H. M., Hutchinson, I. V., Harden,

P. N., 2002. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. Journal of the American Society of Nephrology 13(1): 260-264.
24. Li, L., Donghong, L., Shuguang, W., Hongbo, Z., Jing, Z., Shengbin, L. 2012. Polymorphisms in the vascular endothelial growth factor gene associated with recurrent spontaneous miscarriage. The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine 26(7): 686-690.
25. Yenicesu, G. I., Cetin, M., Ozdemir, O. A., 2010. Prospective case control study analyzes 12 thrombophilic gene mutations in Turkish couples with recurrent pregnancy loss. American Journal of Reproductive Immunology 63: 126-136.
26. Brenner, B., 1999. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. Journal of Thrombosis and Haemostasis 82: 634-640.