بررسی ارتباط دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C در ژن MTHFR با سندرم سقط مکرر

امین خالق پرست[۱،*]، سعید مروتی[۲]، محمود جدی تهرانی[۳]، زهرا نورمحمدی[۴]

۱. کارشناسی ارشد ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران
۲. استادیار ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات ژنتیک انسانی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌اله(عج)
۳. دانشیار ایمونولوژی پژوهشکده آنتی‌بادی منوکلونال، پژوهشگاه فن آوری‌های نوین علوم زیستی جهاد دانشگاهی- ابن سینا
۴. استادیار ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات تهران

* **مسئول مکاتبات:** امین خالق پرست، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران تلفن: ۰۹۱۹۳۹۴۰۱۸۴، نشانی الکترونیکی: keyvan_1878@yahoo.com
محل انجام تحقیق: بیمارستان فوق تخصصی بقیه اله(عج) و مرکز ناباروری ابن سینا

تاریخ دریافت: ۸۹/۲/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۴/۲۷

چکیده

یکی از فاکتورهای مطرح در ایجاد ترومبوفیلی در زنان مبتلا به سقط مکرر، پلی‌مورفیسم‌های A1298C و C677T در ژن MTHFR است. هدف از این تحقیق، بررسی ارتباط این دو پلی‌مورفیسم با سندرم سقط مکرر به عنوان یکی از ریسک فاکتورهای ژنتیکی برای این سندرم بود. ۳۰ زن با سابقه سقط مکرر خودبه خودی با علت نامشخص به عنوان گروه بیماران و ۱۰ زن بدون سابقه سقط مکرر و دارای حداقل دو باروری موفق، به عنوان گروه شاهد از میان مراجعه کنندگان به بیمارستان فوق تخصصی بقیه اله (عج) و مرکز ناباروری ابن سینا انتخاب شدند. برای بررسی دو پلی‌مورفیسم ژن MTHFR، از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و هضم آنزیمی محصولات PCR با آنزیم‌های اندونوکلئاز محدودالاثر (PCR-RFLP) استفاده شد. نتایج بدست آمده از تعیین ژنوتیپ هر پلی‌مورفیسم با نرم‌افزار SPSS، سه آزمون χ^2، من‌ویتنی و همبستگی اسپیرمن، تجزیه و تحلیل شد. نتایج نشان داد که بین دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C ارتباط متقابل وجود دارد ($p<0.05$). ۱۷ نفر از زنان دچار سقط مکرر (۵۶/۶٪) و ۵ نفر از زنان گروه شاهد (۵۰٪) برای پلی‌مورفیسم C677T هتروزیگوت بودند. فراوانی الل موتانت T در زنان دچار سقط، بیشتر از زنان گروه شاهد بود. ۲۸/۴ درصد در میان زنان دچار سقط مکرر و ۲۵ درصد در زنان گروه شاهد، ($p\text{-value}<0.05$). فراوانی پلی‌مورفیسم A1298C در میان زنان دچار سقط مکرر و زنان گروه شاهد به ترتیب ۶۳/۳ و ۵۰ درصد بود. ۴۳/۳ درصد زنان دچار سقط مکرر و ۲۰ درصد زنان گروه کنترل، برای پلی‌مورفیسم A1298C هتروزیگوت و ۲۰ درصد زنان دچار سقط مکرر و ۳۰ درصد زنان گروه شاهد، برای این پلی‌مورفیسم هموزیگوت بودند. در این مطالعه با وجود این که شیوع پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C در زنان دچار سقط مکرر، بیشتر از گروه کنترل بود، این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. نتایج به دست‌آمده در این پژوهش نشان داد که هیچ‌کدام از دو پلی‌مورفیسم MTHFR نمی‌توانند توجیه کننده علت سقط مکرر در زنان مورد بررسی محسوب گردند.

واژه‌های کلیدی: سندرم سقط مکرر خودبخودی، ترومبوفیلی، پلی‌مورفیسم، MTHFR

مقدمه

شایع‌ترین عارضه در سه ماهه اول و دوم حاملگی، سقط جنین است. مفهوم سقط جنین به ختم بارداری پیش از هفته بیستم اطلاق می‌شود. در این میان، زنانی که بیش از دو بار سقط جنین پی‌درپی را تجربه می‌کنند دچار سقط مکرر هستند (۱). در سقط مکرر به عنوان یک بیماری چند عاملی، مسائل متعددی دخیل است و مسائل ژنتیکی به

خصوص فاکتورهای ترومبوفیلی (لخته دوستی) به عنوان یکی از دلایل سقط مکـــــرر می‌توانند مطرح باشند. سلامت جنین، ارتباط مستقیم با گردش خون مادر دارد. هر عاملی که باعث اختلال در این ارتباط شود برای جنین زیان‌آور است (۲). به نظر می‌رسد که ایجاد لخته نابجا یا ترومبوز می‌تواند در مویرگ‌های جفت، باعث اختلال در روند تبادلات مواد بین مادر و جنین شده و نهایتاً منجر به سقط گردد (۳). پلی‌مورفیسم‌های نوکلئوتیدهای منفرد در ژن‌های کد کننده آنزیم‌های تنظیم‌کننده مسیرهای مهم متابولیکی همانند متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) به عنوان یکی از فاکتورهای مطرح در ایجاد ترومبوفیلی در نظر گرفته می‌شوند. آنزیم MTHFR نقش محوری در متابولیسم فولات، متیونین و هموسیستئین دارد (۴). هموسیستئین پلاسما یک آمینواسید بالقوه سمی است (۵). افزایش هموسیستئین به علت اثرات پاتولوژیک منفی که بر روی آندوتلیوم عروق، آتروژنسیس و فعالیت فاکتورهای انعقادی V و VIII می‌گذارد، منجر به افزایش سطح ترومبین، تجمع پلاکت‌ها و در نتیجه ترومبوز وریدی می شود (۴). بنابراین، با تبدیل این اسیدآمینه به متیونین در بدن، اثرات سمی آن خنثی می‌شود. آنزیم MTHFR موجب تبدیل برگشت‌ناپذیر ۵ و ۱۰ متیلن تتراهیدروفولات به ۵ متیل تتراهیدروفولات می‌گردد که شکل غالب فولات موجود در گردش خون است. سپس هموسیستئین با اخذ یک گروه متیل از ۵-متیل تتراهیدروفولات، به متیونین تبدیل می‌شود. این واکنش توسط متیونین سنتاز کاتالیز می‌شود (۷-۵). کاهش در فعالیت آنزیم MTHFR منجر به کاهش در سوبسترا برای متیونین سنتاز می‌شود که به دنبال آن باعث توقف تشکیل هموسیستئین و در نتیجه افزایش سطح هموسیستئین می‌شود (۷). ژن کدکننده آنزیم کاتالتیک MTHFR در انتهای بازوی کوتاه کروموزوم یک (1p36.3) قرار داشته و دارای ۱۱ اگزون است (۸). دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C که به طور بارزی در فعالیت آنزیمی MTHFR تغییر ایجاد می‌کنند، در این ژن تشخیص داده شده است. تبدیل سیتوزین به تیمین در نتیجه یک جهش نقطه‌ای در نوکلئوتید ۶۷۷ در اگزون شماره ۴ ژن MTHFR منجر به جایگزینی والین به جای آلانین در اسیدآمینه شماره ۲۲۲ توالی پروتئین آنزیم MTHFR می‌شود. این جهش نقطه‌ای، منجر به ایجاد یک آنزیم MTHFR ناپایدار و حساس به حرارت با فعالیت کم می‌شود. به علت فعالیت آنزیمی کمتر MTHFR موتانت، میزان هموسیستئین سرمی افزایش می‌یابد. آنزیم MTHFR در افراد هوموزیگوت ۳۰ درصد عملکرد و در افراد هتروزیگوت ۶۵ درصد عملکرد را در مقایسه با افراد نرمال دارد. هوموزیگوت‌ها به شرط دریافت فولات کافی، دارای سطوح طبیعی هموسیستئین در خون هستند؛ ولی اگر فولات کافی دریافت نکنند، میزان هموسیستئین در آن‌ها افزایش می‌یابد (۱۱-۹). تبدیل آدنین به سیتوزین در نوکلئوتید ۱۲۹۸ در اگزون شماره ۷ در ژن MTHFR (A1298C) نیز منجر به جایگزینی آلانین به جای گلوتامین در اسیدآمینه شماره ۴۲۹ توالی پروتئینی آنزیم MTHFR می‌شود. مطالعات چندانی روی پلی‌مورفیسم A1298C انجام نگرفته، اما مشخص شده است که ژنوتیپ CC، عملکردی معادل ۶۰ درصد عملکرد ژنوتیپ AA را داراست. افراد هوموزیگوت برای الل A1298C سطوح بالای هموسیستئین سرمی را نشان نمی‌دهند. اما افراد دارای هتروزیگوتی ترکیبی پلی‌مورفیسم A1298C و C677T دارای مشخصات بیوشیمیایی مشابه هوموزیگوت‌های C677T، مانند سطوح افزایش یافته هموسیستئین و سطوح کاهش یافته فولات هستند (۱۱, ۱۲). با توجه به اهمیت و نقش MTHFR در هموستاز و اثرات پلی‌مورفیسم‌های آن در افزایش سطح هموسیستئین و ابتلا به ترومبوز وریدی و نیز ارتباط ترومبوز با افزایش احتمال سقط مکرر، در مطالعه حاضر ارتباط دو پلی‌مورفیسم A1298C و C677T در ژن MTHFR با سقط مکرر بررسی شده است.

مواد و روش ها

انتخاب گروه بیماران و گروه شاهد

طی یک مطالعه مورد- شاهدی، ۳۰ زن با سابقه سقط مکرر خودبخودی با علت نامشخص، به عنوان گروه بیماران و ۱۰ زن بدون سابقه سقط و دارای حداقل دو باروری موفق، به عنوان گروه شاهد از میان مراجعه کنندگان به بیمارســـتان فوق تخصصی بقیه‌اله (عج) و مرکز ناباروری ابن سینا در ماه‌های اردیبهشت تا اسفند سال ۱۳۸۸ با توجه به پرونده پزشکی بیماران و نظر متخصص زنان، انتخاب شدند. معیارهای خروج از مطالعه شامل سایر علل مطرح در سقط از جمله وجود ناهنجاری‌های کروموزومی در جنین، مشکلات آناتومیک در رحم، اختلالات هورمونی و عفونت‌های مرتبط با سقط بود. جهت ورود به مطالعه و انجام خون‌گیری، از تمامی افراد مورد مطالعه رضایت‌نامه آگاهانه اخذ گردید.

بررسی ژنوتیپ‌ها

DNA ژنومی از نمونه خون‌هایی که در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA اخذ شده بود، به روش استاندارد رسوب نمکی استخراج گردید. تعیین ژنوتیپ با استفاده از تکنیک PCR-RFLP صورت گرفت. پرایمرهای مناسب برای هر پلی‌مورفیسم طراحی شد و سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای هر جفت پرایمر، بهینه‌سازی شد (جدول ۱).

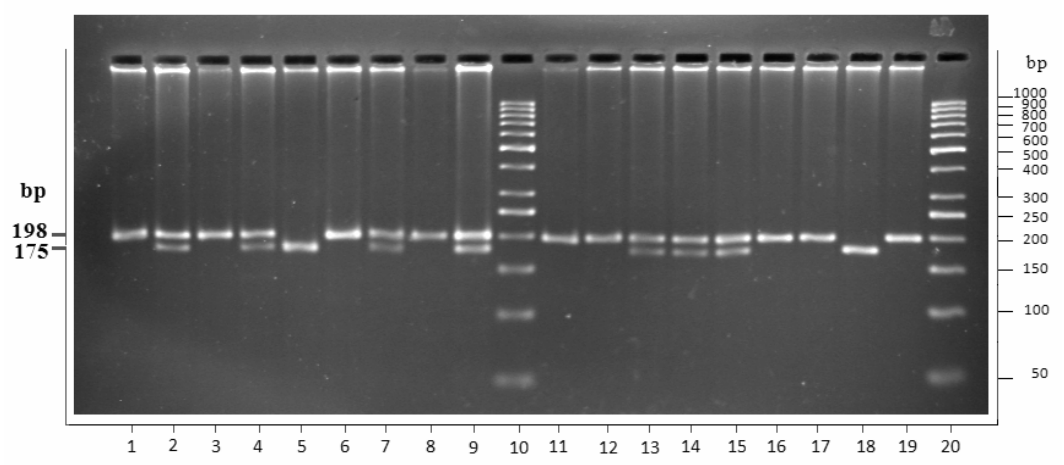
جدول ۱- توالی پرایمرها، آنزیم‌های محدودالاثر و محصولات PCR و RFLP دو پلی‌مورفیسم ژن MTHFR.

پلی مورفیسم	توالی پرایمرها	محصول PCR (bp)	آنزیم محدودالاثر	محصول RFLP (bp)
MTHFR A1298C	F: 5′- CTTCTACCTGAAGAGCAAGTC -3′ R: 5′- CATGTCCACAGCATGGAG -3′	256	Mbo II	(176, 30, 28, 22)* (204, 30, 22)**
MTHFR C677T	F: 5′- TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA -3′ R: 5′- AGGACGGTGCGGTGAGAGTG -3′	198	Hinf I	(198)* (175, 23)**

* الل نرمال **الل موتانت

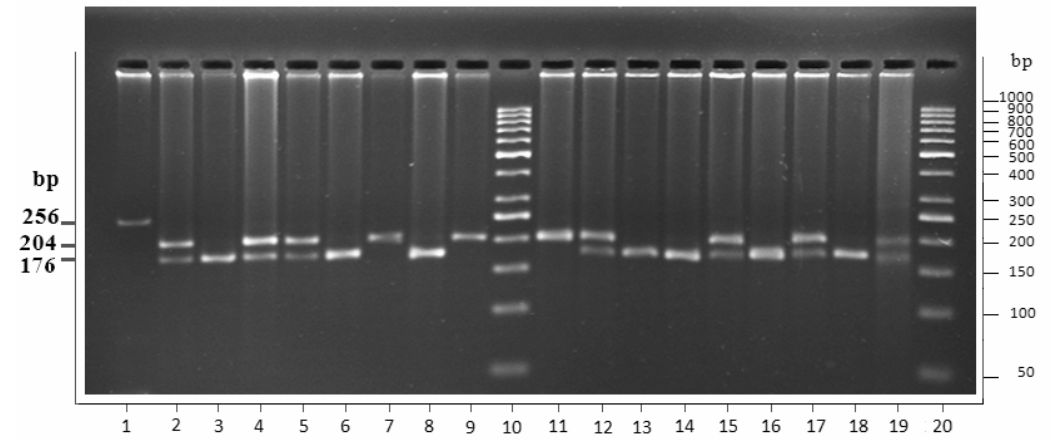
مواد لازم برای واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر، شامل ۴۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۲ میلی‌مول $MgCl_2$، ۰/۲۵ میلی‌مول dNTPs، ۰/۴ میلی‌مول از هر جفت پرایمر و ۱ واحد آنزیم Taq پلیمراز بود. مراحل انجام روش PCR به ترتیب ذیل بر روی نمونه‌های DNA از دو گروه بیمار و شاهد انجام شد. پس از دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، قطعات DNA برای پلی‌مورفیسم C677T در ۳۵ سیکل (95^oC به مدت ۱ دقیقه، 61^oC به مدت ۱ دقیقه، 72^oC به مدت ۱ دقیقه) و برای پلی‌مورفیسم MTHFR A1298C در ۳۰ سیکل (95^oC به مدت ۱ دقیقه، 63^oC به مدت ۱ دقیقه، 72^oC به مدت ۲ دقیقه) تکثیر یافتند و به دنبال آن، مرحله طویل‌سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. صحت انجام PCR با انجام الکتروفورز محصولات PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد تأیید شد. RFLP بر روی محصولات PCR برای دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C به ترتیب توسط آنزیم‌های محدودالاثر Hinf I و Mbo II و مطابق دستورالعمل شرکت تولید کننده آنزیم انجام شد. سپس قطعات حاصل از RFLP بر روی ژل آگاروز ۳ درصد الکتروفورز شد و طول قطعات حاصل از هضم آنزیمی مشاهده گردید. محصول PCR برای پلی‌مورفیسم C677T، ۱۹۸ bp طول دارد. الل نرمال برای آنزیم Hinf I هیچ توالی قابل شناسایی ندارد، اما در الل جهش یافته، به علت جهش رخ داده، یک جایگاه شناسایی برای آنزیم ایجاد می‌شود. حاصل این تغییر، ایجاد دو قطعه ۱۷۵ bp و ۲۳ bp پس از هضم آنزیمی است. باند ۲۳ bp به علت کوچکی اندازه در ژل آگاروز ۳ درصد مشاهده

نمی‌شود، بنابراین، ملاک بررسی برای تعیین ژنوتیپ C677T، باند bp ۱۷۵ است (تصویر ۱).



تصویر ۱- نتایج الکتروفورز محصولات PCR پس از RFLP برای پلی مورفیسم C677T. ۱: نمونه محصولات PCR قبل از RFLP. ۱۹، ۱۷، ۱۶، ۱۲، ۱۱، ۸، ۶، ۳: نرمال. ۱۸ ،۵: هموزیگوت (کنترل مثبت). ۱۵، ۱۴، ۱۳، ۹، ۷، ۴، ۲: هتروزیگوت. ۲۰، ۱۰: DNA Ladder (50bp).

محصول PCR برای پلی‌مورفیسم A1298C نیز bp ۲۵۶ طول دارد که پس از هضم با آنزیم MboII در الل نرمال چهار قطعه و در الل جهش یافته ۳ قطعه حاصل می‌شود. قطعات ۳۰، ۲۸ و ۲۲ جفت بازی، به علت کوچکی اندازه، در ژل مشاهده نمی‌شوند. بنابراین، ملاک بررسی برای تشخیص الل C، مشاهده قطعه bp ۲۰۴ و برای الل A ، مشاهده قطعه bp ۱۷۶ در ژل آگاروز ۳ درصد است(تصویر ۲).



تصویر ۲- نتایج الکتروفورز محصولات PCR پس از RFLP برای پلی‌مورفیسم A1298C. ۱: نمونه محصولات PCR قبل از RFLP. ۱۸، ۱۶، ۱۴، ۱۳، ۸، ۶، ۳: نرمال. ۱۹، ۱۷، ۱۵، ۱۲، ۵، ۴، ۲: هتروزیگوت. ۱۱، ۹، ۷: هموزیگوت. ۲۰، ۱۰: DNALadder (50bp).

آنالیز آماری

نتایج به دست آمده از تعیین ژنوتیپ هر پلی‌مورفیسم برای سه حالت نرمال، هتروزیگوت و هموزیگوت در دو گروه بیمار و شاهد با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Ver:16) و دو آزمون χ^2 و من‌ویتنی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. آزمون همبستگی اسپیرمن نیز برای بررسی امکان وجود ارتباط متقابل بین این دو پلی‌مورفیسم انجام شد.

نتایج برای این سه آزمون با p-value <0.05 معنی-دار تلقی گردیدند.

نتایج

با توجه به نتایج مشاهده شده در الکتروفورز محصول RFLP ژنوتیپ هر فرد برای هر پلی‌مورفیسم مشخص شد. بین دو پلی‌مورفیسم C677T و A1298C ارتباط متقابل وجود داشت (p-value<0.05). فراوانی الل موتانت T در زنان دچار سقط، بیشتر از زنان گروه شاهد بود. ۲۸/۴ درصد در میان زنان دچار سقط مکرر و ۲۵ درصد در زنان گروه شاهد، (p-value<0.05). ۱۷ نفر از زنان دچار سقط مکرر (۵۶/۶٪) و ۵ نفر از زنان گروه شاهد (۵۰٪) برای پلی‌مورفیسم C677T هتروزیگوت بودند، اما هیچ هوموزیگوتی در بین زنان دچار سقط مکرر و زنان گروه شاهد مشاهده نشد (جدول ۲).

جدول ۲- مقایسه ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم C677T ژن MTHFR در زنان دچار سقط مکرر و زنان نرمال.

	نمونه (n=۳۰)		شاهد (n= ۱۰)	
ژنوتیپ				
TT – CT	۱۷	(٪ ۵۶/۶)	۵	(٪ ۵۰)
TT	۰	(٪ ۰)	۰	(٪ ۰)
CT	۱۷	(٪ ۵۶/۶)	۵	(٪ ۵۰)
CC	۱۳	(٪ ۴۳/۳)	۵	(٪ ۵۰)
الل				
T	۱۷	(٪ ۲۸/۴)	۵	(٪ ۲۵)
C	۴۳	(٪ ۷۱/۶)	۱۵	(٪ ۷۵)

فراوانی پلی‌مورفیسم A1298C در میان زنان دچار سقط مکرر و زنان گروه شاهد به ترتیب ۶۳/۳ و ۵۰ درصد بود. ۴۳/۳ درصد زنان دچار سقط مکرر و ۲۰ درصد زنان گروه کنترل، برای پلی‌مورفیسم A1298C هتروزیگوت و ۲۰ درصد زنان دچار سقط مکرر و ۳۰ درصد زنان گروه شاهد، برای این پلی‌مورفیسم هوموزیگوت بودند. فراوانی الل موتانت C در زنان دچار سقط مکرر ۴۱/۷ درصد و در زنان گروه شاهد ۴۰ درصد بود، اما این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳). ۳ نفر از ۳۰ زن دچار سقط مکرر (۱۰٪) و ۱ نفر از ۱۰ زن گروه شاهد (۱۰٪) فاقد پلی‌مورفیسم در ژن MTHFR بودند. تعداد افرادی که دو پلی‌مورفیسم MTHFR را به طور هم‌زمان داشتند در گروه بیماران، ۹ نفر (۳۰٪) و در گروه شاهد، ۱ نفر (۱۰٪) بود.

بحث

بررسی‌هایی که در جمعیت‌های مختلف صورت گرفته، نتایج متفاوتی را برای ارتباط میان پلی‌مورفیسم‌های ژن MTHFR با سندرم سقط مکرر نشان داده است. برخی مطالعات نشان داده که کمبود فولات، هایپرهموسیستئنمیا و هموزیگوتی برای پلی‌مورفیسم‌های ژن MTHFR عامل خطر برای سقط خودبخودی و تخریب جفت هستند. در حالی که مطالعات دیگر ارتباط میان این پلی‌مورفیسم‌ها و سقط مکرر را نفی کرده‌اند (۱۴، ۱۳، ۵). Wang و همکاران در چین، شیوع پلی‌مورفیسم‌های MTHFR را در میان زنان بررسی کردند و در سال ۲۰۰۴ گزارش کردند که اختلاف معنی‌داری برای پلی‌مورفیسم C677T بین زنان دچار سقط مکرر خودبه‌خودی با علت نامشخص و

زنان گروه شاهد وجود دارد و نیز با وجود این‌که اختلاف معنی‌داری برای پلی‌مورفیسم A1298C بین دو گروه وجود ندارد، اما فراوانی ژنوتیپ 677CC/1298AA در میان زنان دچار سقط مکرر، به طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل است (۱۵). Mtiraoui و همکاران نیز بر مبنای آنالیز ژنتیکی دو گروه از زنان تونسی برای پلی‌مورفیسم‌های MTHFR در سال ۲۰۰۶ گزارش دادند که فراوانی ژنوتیپ‌های 1298AA و 677CC در زنان دچار سقط مکرر، به طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل است (۱۶).

جدول ۳- مقایسه ژنوتیپ ها و آلل‌های پلی مورفیسم A1298C ژن MTHFR در زنان دچار سقط مکرر و زنان بدون سقط.

	نمونه (n= ۳۰)	شاهد (n=۱۰)
ژنوتیپ		
CC – AC	۱۹ (٪ ۶۳/۳)	۵ (٪ ۵۰)
CC	۶ (٪ ۲۰)	۳ (٪ ۳۰)
AC	۱۳ (٪ ۴۳/۳)	۲ (٪ ۲۰)
AA	۱۱ (٪ ۳۶/۷)	۵ (٪ ۵۰)
الل		
C	۳۵ (٪ ۴۱/۷)	۸ (٪ ۴۰)
A	۲۵ (٪ ۴۸/۳)	۱۲ (٪۶۰)

مشاهدات در سایر نقاط جهان، کاملاً متفاوت از این یافته‌ها است. Carp و همکاران، ارتباط میان فاکتورهای ترومبوفیلی را با سقط مکرر مورد بررسی قرار دادند و در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند با وجود این‌که شیوع پلی‌مورفیسم C677T در زنان دچار سقط مکرر، بیشتر از گروه کنترل است، اما این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (۱۷). Morales-Machin و همکاران در ونزوئلا نیز پس از بررسی ارتباط میان پلی‌مورفیسم C677T با سقط مکرر، در سال ۲۰۰۹ گزارش می‌کنند که اختلاف معناداری را در فراوانی اللی میان زنان دچار سقط مکرر و گروه کنترل مشاهده نکردند (۱۸). Unfried و همکاران در استرالیا در یک مطالعه گسترده پس از بررسی ۱۴۵ زن با سابقه سقط مکرر و ۱۰۱ زن بدون سابقه سقط و دارای حداقل دو باروری موفق، در سال ۲۰۰۳ گزارش دادند که هیچ رابطه معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C با سقط مکرر وجود ندارد (۱۹). در مطالعه حاضر نیز با وجود این که شیوع پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C در زنان دچار سقط مکرر، بیشتر از گروه کنترل است، این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نیست. نتایج متفاوتی که در این مطالعات به دست آمده می‌تواند به علت تعریف متفاوت از سقط مکرر، تفاوت در معیارهای انتخاب نمونه و توزیع جغرافیایی باشد. بایستی این موضوع را در نظر گرفت که سطح هموسیستئین می‌تواند متأثر از پلی‌مورفیسم C677T در ژن MTHFR و نیز کوفاکتورهای مسیر هموسیستئین- متیونین همانند فولیک اسید، ویتامین B_{12} و ویتامین B_6 باشد (۷). کمبود این عوامل نیز می‌تواند باعث هایپرهموسیستئینمیا شود، اما افراد دارای پلی‌مورفیسم C677T که مکمل فولیک اسید یا سایر ویتامین‌های B را دریافت می‌کنند، می‌توانند از این خطر دور بمانند (۲۰، ۱۰).

نتیجه‌گیری

در این مطالعه با وجود این‌که شیوع پلی‌مورفیسم‌های C677T و A1298C در زنان دچار سقط مکرر، بیشتر از گروه کنترل است، این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نیست. نتایج به دست آمده در این پژوهش نشان داد که هیچ کدام از دو پلی‌مورفیسم ژن MTHFR نمی‌توانند علت سقط مکرر در زنان مورد بررسی محسوب گردند.

تشکر و قدردانی

از کارشناسان محترم دانشگاه و بیمارستان بقیه‌اله (عج) به ویژه آقای دکتر مهران آزاده و خانم‌ها زهرا سفیری، فاطمه پورعلی و عذرا باقری که در انجام این مطالعه ما را یاری کردند کمال تشکر و امتنان را داریم.

منابع مورد استفاده

1. Aruna, M., Reddy, B. M., 2006. Recurrent spontaneous abortions: An overview of the Genetic and Non-Genetic backgrounds. Int J Hum Genet 6: 109-117.
2. James, A. H., 2009. Venous thromboembolism in pregnancy Arterioscler Thromb Vasc Biol 29: 326-331.
3. Kupferminc, M. J., 2003. Thrombophilia and pregnancy. Reprod Biol Endocrinol 1: 1-23.
4. Kurzawińska, G., Seremak-Mrozikiewicz, A., Drews, K., Barlik, M., Mrozikiewicz, P. M., 2009. Genetic conditioned changes in activity of 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and recurrent miscarriages. Ginekol Pol 80: 762-767.
5. Spiroski, I., Kedev, S., Antov, S., Arsov, T., Krstevska, M., Dzhekova-Stojkova, S., Bosilkova, G., Kostovska, S., Trajkov, D., Petlichkovski, A., Strezova, A., Efinska-Mladenovska, O., Spiroski, M., 2008. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR-677 and MTHFR-1298) genotypes and haplotypes and plasma homocysteine levels in patients with occlusive artery disease and deep venous thrombosis. Acta Biochim Pol 55: 587-594.
6. Oliveira, K. C., Bianco, B., Verreschi, I. T., Guedes, A. D., Galera, B. B., Galera, M. F., Barbosa, C. P., Lipay, M. V., 2008. Prevalence of the polymorphism MTHFR A1298C and not MTHFR C677T is related to chromosomal aneuploidy in Brazilian Turner Syndrome patients. Arq Bras Endocrinol Metabol 52: 1374-1381.
7. Van der Put, N. M., van der Molen, E. F., Kluijtmans, L. A., Heil, S. G., Trijbels, J. M., Eskes, T. K., Van Oppenraaij-Emmerzaal, D., Banerjee, R., Blom, H. J., 1997. Sequence analysis of the coding region of human methionine synthase: relevance to hyperhomocysteinaemia in neural-tube defects and vascular disease. QJM 90: 511-517.
8. Goyette, P., Pai, A., Milos, R., Frosst, P., Tran, P., Chen, Z., Chan, M., Rozen, R., 1998. Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR). Mamm Genome 9: 652-660.
9. Bailey, L. B., Gregory, J. F., 1999. Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and other enzymes: metabolic significance, risks and impact on folate requirement. J Nutr 129: 919-922.
10. Nishio, K., Goto, Y., Kondo, T., Ito, S., Ishida, Y., Kawai, S., Naito, M., Wakai, K., Hamajima, N., 2008. Serum folate and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism adjusted for folate intake. J Epidemiol 18: 125-131.
11. Robien, K., Ulrich, C. M., 2003. 5,10-Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE minireview. Am J Epidemiol 157: 571-582.
12. Etienne, M. C., Ilc, K., Formento, J. L., Laurent-Puig, P., Formento, P., Cheradame, S., Fischel, J. L., Milano, G., 2004. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms: relationships with 5-fluorouracil sensitivity. Br J Cancer 90: 526-534.
13. Bakker, R. C., Brandjes, D. P., 1997. Hyperhomocysteinaemia and associated disease. Pharm World Sci 19: 126-132.
14. Freitas, A. I., Mendonça, I., Guerra, G., Brión, M., Reis, R. P., Carracedo, A., Brehm, A., 2008. Methylenetetrahydrofolate reductase gene, homocysteine and coronary artery disease: the A1298C polymorphism does matter. Inferences from a case study (Madeira, Portugal). Thromb Res 122: 648-656.

15. Wang, X. P., Lin, Q. D., Ma, Z. W., Zhao, A. M., 2004. C677T and A1298C mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase gene in unexplained recurrent spontaneous abortion. J Mol Bio 39: 238-241.
16. Mtiraoui, N., Zammiti, W., Ghazouani, L., Braham, N. J., Saidi, S., Finan, R. R., Almawi, W. Y., Mahjoub, T., 2006. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. Reproduction 131: 395-401.
17. Carp, H., Salomon, O., Seidman, D., Dardik, R., Rosenberg, N., Inbal, A., 2002. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss. Hum Reprod 17: 1633-1637.
18. Morales-Machin, A., Borjas-Fajardo, L., Quintero, J. M., Zabala, W., Alvarez, F., Delgado, W., Hernández, M. L., Solis-Añez, E., Sánchez, Y., Butrón, Z., 2009. C677T polymorphism of the methylentetrahydrofolate reductase gene as risk factor in women with recurrent abortion. Invest Clin 50: 327-333.
19. Unfried, G., Hohlagschwandtner, M., Heinze, G., Huber, J. C., Nagele, F., Tempfer, C., 2003. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage. Fertil Steril 79: 1141-1148.
20. Esfahani, S. T., Cogger, E. A., Caudill, M. A., 2003. Heterogeneity in the prevalence of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphisms in women of different ethnic groups. J Am Diet Assoc 103: 200-207.