

Detection of *MTHFR* (A1298C) Gene Polymorphism in Women Suffer from Different Types of Abortion in Mosul City

Zahra J. Ramadan¹, Owayes M. Hamed^{2*}

^{1,2}Department of Biology, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq

E-mail: ¹Zahra.jasem2018@gmail.com, ^{2*}Owsbio31@uomosul.edu.iq

(Received April 13, 2020; Accepted May 16, 2020; Available online September 01, 2020)

DOI: [10.33899/edusj.2020.126923.1064](https://doi.org/10.33899/edusj.2020.126923.1064), © 2020, College of Education for Pure Science, University of Mosul.

This is an open access article under the CC BY 4.0 license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract:

Genetic basis of recurrent abortion is poorly understood, Single gene mutations, polygenic, and cytogenetic factors are all found to show association with recurrent abortion. The analysis of single nucleotide polymorphisms in the genes coding for enzymes which responsible for regulatory of metabolic pathways (e.g. methylene tetra hydrofolate reductase), clotting factors (Factor V leiden and prothrombin) and hormones and hormone receptors (progesterone receptor). This study included (85) pregnant women who suffer from problems during pregnancy and the age range was between (25-35) years. The samples were divided into four groups ,the first included pregnant women who suffer from recurrent spontaneous abortion , while the second included pregnant women with missed abortion , the third group included pregnant women with recurrent spontaneous abortion and positive TORCH examination and the final group was considered a control group.

The result of the study showed a relationship between cases of pregnancy disorder and genetic mutations of *MTHFR* gene at the (A1298C) site, the result of the study for a group of women with RSA showed that the distribution of the mutant genotype CC was the highest 40% and the repetitive alleles for this group was 57.5% for mutant allele C and 42.5% for normal allele A.

Also the group of missed abortion showed that the distribution of the mutant genotype CC was the highest 40% and the repetitive alleles for this group was 52.5% for mutant allele C and 47.5% for normal allele A.

Whereas the group of women with positive TORCH showed that the distribution of heterozygous genotype was the highest 50% and the repetitive alleles for this group was 32.2% for mutant allele C and 67.8% for normal allele A.

Key words: Abortion, *MTHFR* gene, gene polymorphism, Mutation.

تحديد التباين الوراثي للجين *MTHFR* في الموقع A1298C لدى النساء اللواتي يعانين من حالات الاجهاض المختلفة في مدينة الموصل

زهرة جاسم رمضان¹، اويس موفق حامد^{2*}

^{1,2}قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

إن الأساس الوراثي لحالات الاجهاض المتكرر يكون غير واضح جدا إذ ان الطفرات الجينية وحالات التعدد الجيني وعوامل الوراثة الخلوية جميعها وجدت مترابطة مع حالات الاجهاض المتكرر ولتفسير بعض حالات الاجهاض المتكرر فقد تم تحليل التباينات الوراثية SNP single nencleotied polymorphism في عدة عوامل منها الجينات المشفرة للإنزيمات التي تنضم الفعالية الايضية ومنها الجين المسؤول عن تكوين انزيم (MTHFR gene) وان الطفرات المؤثرة على عوامل التخثر مثل طفرات PT, FVL والطفرات المؤثرة على انتاج الهرمونات او المؤثرة على مستقبلات مثل مستقبلات بروجستيرون.

شملت الدراسة الحالية (85) امرأة من النساء الحوامل اللواتي يعانين من مشاكل اثناء الحمل وبفئة عمرية تتراوح بين (25-35) سنة وتم تقسيم العينات على اربع مجاميع، تتضمن المجموعة الاولى النساء الحوامل اللواتي يعانين من حالات اجهاض متكرر، والمجموعة الثانية تتضمن النساء الحوامل اللواتي يعانين من حالات اجهاض متكرر (الجنين الميت)، والثالثة تتضمن النساء اللواتي يعانين من حالات اجهاض متكرر تلقائي وبفحص TORCH موجب النتيجة اما المجموعة الرابعة من النساء فقد اعتبرت مجموعة سيطرة، تم سحب (5) مل من الدم الوريدي من النساء وتم تقسيمه على جزأين، الجزء الاول تم وضعه في انابيب تحتوي على مادة مانعة للتخثر EDTA والتي استخدمت في استخلاص الدنا المجيني للاختبارات الجزيئية والجزء الثاني تم وضعه في انابيب خالية من مانع التخثر لاجراء الاختبارات الكيموحيوية.

اظهرت نتائج الدراسة وجود علاقة بين حالات اضطرابات الحمل والطفرات الوراثية التي تصيب الجين MTHFR في الموقع A1298C إذ اظهرت نتائج الدراسة لمجموعة النساء اللواتي يعانين من الاجهاض المتكرر بان نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر CC كانت هي الاعلى 40% وقد كان التكرار الايلي لهذه المجموعة بان الاليل الطافر C فقد تكرر بنسبة 57.5% بينما الاليل الطبيعي A فقد تكرر بنسبة 42.5%. في حين اظهرت النسب لمجموعة النساء اللواتي يعانين من حالات الجنين الميت بان نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر CC ايضا كانت هي الاعلى 40% اما التكرار الايلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بان الاليل الطافر C تكرر بنسبة 52.5% بينما الاليل الطبيعي A فقد تكرر بنسبة 47.5%. اما بالنسبة لمجموعة النساء اللواتي يعانين من فحص TORCH الموجب بان نسبة توزيع الطراز الوراثي المتباين AC كانت هي الاعلى 50% وان التكرار الايلي لهذه المجموعة بين بان الاليل الطافر C فقد تكرر بنسبة 32.2% في حين أن الاليل الطبيعي A تكرر بنسبة 67.8%.

الكلمات المفتاحية: الاجهاض, الطفرات, التباين الوراثي, الجين MTHFR

المقدمة

تعاني النساء الحوامل من مشاكل واضطرابات كثيرة خلال فترة الحمل ويعتبر الاجهاض المشكلة الاكثر تعقيدا وشيوعا في الحمل إذ يؤثر على 15% من حالات الحمل المشخصة سريريا في المجتمع وتشير الاحصائيات الى ان عدد حالات الاجهاض في المجتمع تكون اكبر من عدد حالات الحمل الفعلي [1,2].

ان الاساس الوراثي لحالات الاجهاض المتكرر يكون غير واضح جدا حيث ان الطفرات الجينية وحالات التباين الوراثي وعوامل الوراثة الخلوية جميعها وجدت مترابطة مع حالات الاجهاض المتكرر ولتفسير هذه الحالات وان الطفرات المؤثرة على عوامل التخثر مثل الطفرات التي تصيب جينات عوامل التخثر ومنها Factor V Liden و جين Prothrombin والطفرات المؤثرة على انتاج الهرمونات او المؤثرة على مستقبلات الهرمونات مثل مستقبلات هرمون بروجستيرون [3].

يعتبر جين MTHFR المسؤول عن تكوين انزيم methylene tetra hydro folatereductase وهو انزيم أساس يحفز تحويل 5,10-methylen tetra hydrofolate الى 5-methylen tetra hydrofolate وهو الشكل المنتشر والسائد للفوليت ويشارك

في عملية مثيلة الهوموسستين (المعتمدة على فيتامين B₁₂) الى الميثونين الذي بدوره يتحول الى s-adenosyl-methionine والذي يعمل كواهب لمجموعة المثيل في عملية مثيلة ال DNA والبروتينات والنواقل العصبية والدهون المفسفرة وان التباين الجيني ل MTHFR يرتبط بشكل عام مع حالة فرط الهوموسستين hyper homocystinemia وفي النساء الحوامل يعد ذلك احد عوامل الخطورة لحدوث خلل وظيفي في الانبوب العصبي neural tube defect وحدث حالات الاجهاض المتكرر وان هناك عدة دراسات سجلت الترابط بين زيادة مستوى الهوموسستين مع حالات فقدان الحمل المبكر الاول ويوجد نوعان من التباين الوراثي في جين MTHFR والذي ينتج عنه تغيير الالين الى فالين في المسار التحفيزي لانزيم ال MTHFR وهذه الحالة تجعل الانزيم عرضة للتلف وتقلل من فعاليته [4,5,6,7].

كذلك تعتبر متلازمة الاجسام المضادة للدهون المفسفرة من مسببات الاجهاض اذ تكون هذه المتلازمات كاضطراب في النظام المناعي يتميز بحدوث زيادة او فرط في تخثر الدم ومضاعفات اخرى لدى النساء الحوامل (اجهاض مبكر وولادة مبكرة وموت الجنين) و وجود اجسام مضادة لل antiphospholipid في الدم (مثل anti-cardiolipin و lupus anticoagulant وتشمل اضطرابات التخثر المرتبطة بمتلازمة الاجسام المضادة للفوسفوليبيد: الجلطة وجلطات الدم في عمق الساقين (تجلط الدم الوريدي العميق) والتجلطات في الرئتين (الانسداد الرئوي) وان المرضى الذين يعانون من هذه المتلازمة يحصل لديهم جلطات دموية وايضا لديهم اعداد فوسفوليبيد قابلة للكشف عن طريق فحص الدم وايضا تسمى هذه المتلازمة بـ phospholipid antibody syndrome وايضا متلازمة الاجسام المضادة للكارديوليبيد cardioliipin antibody syndrome [8,9].

وتهدف هذه الدراسة الى تحليل التباينات الوراثية single nucleotide polymorphism SNP في الجين methylenetetrahydrofolatereductase (MTHFR) gene وهو الجين المسؤول عن تكوين انزيم (MTHFR methylenetetrahydrofolatereductase)

المواد وطرائق العمل

شملت الدراسة الحالية (85) امرأة من النساء الحوامل اللواتي يعانين من مشاكل اضطرابات الحمل وبنفس الفئة العمرية تتراوح بين (25-35) سنة من المراجعات الى مستشفى الخنساء التعليمي في فترة زمنية تراوحت من شهر تموز الى شهر تشرين الاول من عام 2019، وتم الاعتماد على تشخيص الطبيب المقيم في المستشفى والذي اعتبر كمشرف ميداني لحالات الاسقاط في اختيار العينات ، وتم تقسيم العينات على اربع مجاميع :

المجموعة الاولى: تتضمن هذه المجموعة 21 امرأة من النساء الحوامل اللواتي يعانين من حالات اجهاض متكرر تلقائي، **المجموعة الثانية:** تتضمن هذه المجموعة 30 امرأة من النساء الحوامل اللواتي يعانين من حالات اجهاض متكرر (الجنين الميت)، **المجموعة الثالثة:** تتضمن هذه المجموعة 14 امرأة النساء اللواتي يعانين من حالات اجهاض متكرر تلقائي وبفحص TORCH موجب النتيجة، **المجموعة الرابعة:** تتضمن هذه المجموعة 20 امرأة من النساء الحوامل اللواتي لا يعانين من اي مشاكل اثناء الحمل وتم اعتمادها كمجموعة سيطرة.

جمع وحفظ نماذج الدم Collection of Blood sample

تم سحب (5) مل من الدم الوريدي من النساء وتم تقسيمه على جزأين، الجزء الاول من الدم وحفظ بانابيب خالية من مانع التخثر لاجراء اختبارات متلازمة الاجسام المضادة للفوسفوليبيد Phospholipid Screen Cardioliipin Ab بالاعتماد على تقنية ELISA.

وجزه اخر وضع في انابيب تحتوي على مادة مانعة للتخثر EDTA والتي استخدمت في استخلاص ال DNA بالاعتماد على طريقة Iranpur, and Esmailzadeh [10]. واجريت الاختبارات الجزيئية بالاعتماد على تقنية ال Amplification

refractory mutation system (ARMS-PCR) وقد حددت تركيز عينة الـ DNA (25ng/μic) باستخدام جهاز النانودروب، وكشف عن وجود الطفرة **A 1298 C** بإضافة 4 مايكروليتر وبتركيز (100) نانوغرام من الدنا القالب و 1 مايكروليتر بتركيز (10) بيكومول من كل بادئ خاص بالطفرة A1298C المجهد من قبل شركة macrogen الكورية الى محتويات الـ Master mix.[11].

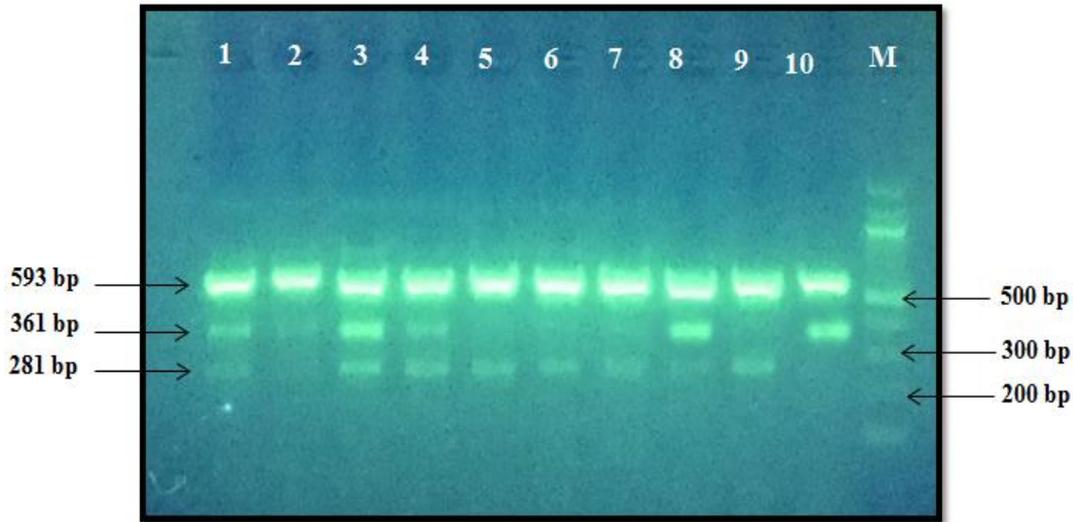
primer	Sequence	tm	Band size
F-outer	GAAGAAGTTTGCATGCTTGTGGTTG	64.0	593 bp
R-outer	CAGGCAAGTCACCTGGGAGAGA	66.0	
F-inner	GGCAAAGAACGAGACTTCAAAGACACATT	67.0	281 bp
R-inner	GAGGAGCTGACCAGTGATGC	62.0	361 bp

بعدها تم ادخال انابيب التفاعل في جهاز المبلمر الحراري Thermocycler لإجراء التفاعل التضاعفي وباستخدام البرنامج الخاص للتفاعل اذ تم اضافة جميع البادئات الى التفاعل وكما موضح[11].

No.	Stage	Temperature	Time	Cycle number
1.	Initial denaturation	95	5 min.	1
2.	denaturation	95	45 sec.	35
3.	Annealing	61	1 min.	
4.	Extension	72	1 min.	
5.	Final extension	72	7 min.	1
6.	Stop reaction	4	5 min	1

النتائج والمناقشة

اظهرت نتائج الدراسة كما هو موضح في الشكل (1و2) وجود علاقة بين حالات الاجهاض المتكرر والطفرة الوراثية التي تصيب الجين *MTHFR* في الموقع A1298C اذ يتبين عند ملاحظة الشكل ناتج تفاعل الـ PCR الذي يكون بحجم 593 , 361 , 281 bp والتي تدل على ظهور التباين الوراثي للجين وبجميع الطرز الوراثية AA,AC,CC وينسب مئوية مختلفة كما هو موضح في الجدول (1):



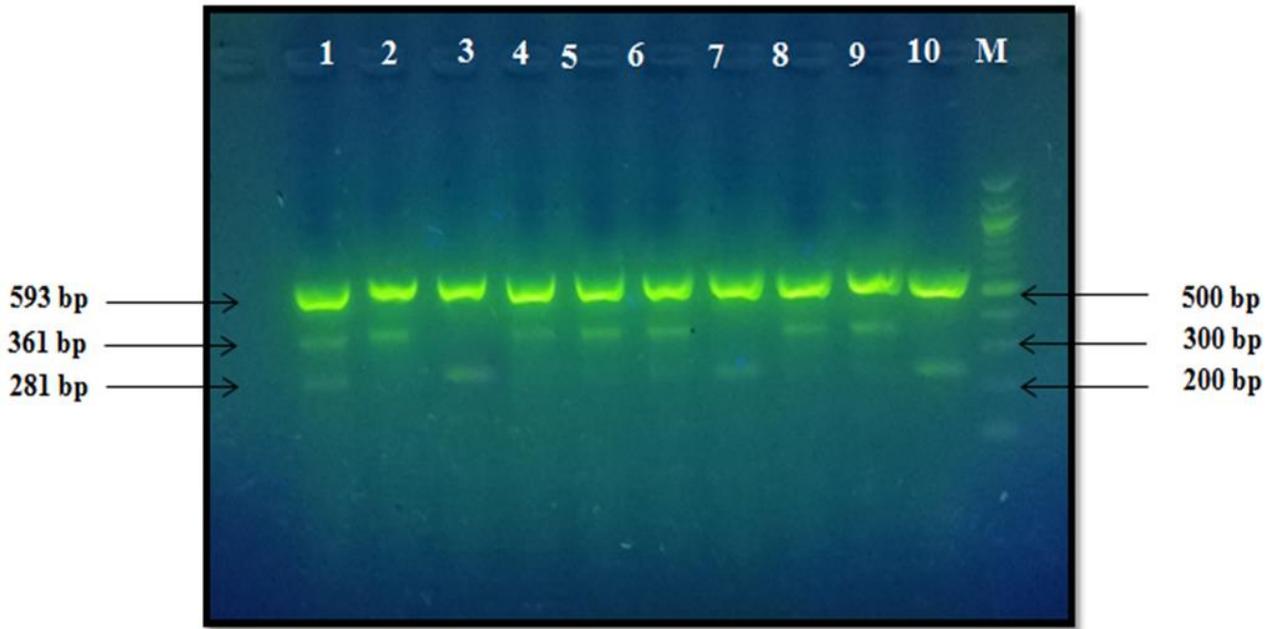
الشكل (1): تبين ناتج تفاعل الـ PCR الخاص بالتباين الوراثي للجين *MTHFR* (A1298C) في مجموعة النساء ذوات الجهاز المتكرر إذ إن M تمثل الدليل الحجمي والعينات (1,3,4,8) تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي المتباين (AC) بناتج التفاعل يحوي ثلاثة حزم بحجم 593 bp للجين الرئيسي والحزمة 281 bp تمثل الاليل الطبيعي اما الحزمة 361 bp تمثل الاليل الطافر , اما العينات (5,6,7,9) فهي تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي الطبيعي والحزمة 281 bp, 593 bp تفاعل (AA) بناتج تفاعل (2,10), والعينات (2,10) فهي تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي الطافر (CC) بناتج تفاعل 361 bp, 593 bp والتي تم ترحيلها في هلام الاكاروز بتركيز 2%.

جدول (1): توزيع النمط الوراثي ومستوى المشاهدة الاليلي للجين *MTHFR* في الموقع (A1298C) بين مجموعة السيطرة والنساء اللواتي يعانون من حالات الاسقاط التلقائي المتكرر.

Genotypes	Patients No. (20)		Control No. (20)		P value	OR	(95 % CI)
	No.	%	No.	%			
AA	5	25	14	70	0.1204	Ref	0.7333 to 14.5514
AC	7	35	6	30		3.2667	
CC	8	40	0	0		9.6000	
Alleles	No.	%	No.	%	P value	OR	(95 % CI)
A	17	42.5	34	85	0.0002	7.6667	2.6281 to 22.3654
C	23	57.5	6	15			

يبين الجدول (1) مستوى المشاهدة الاليلي والنمط الوراثي للجين *MTHFR* في الموقع A1298C علما بان الاليل A هو الاليل الطبيعي والاليل C هو الاليل الطافر اذ اظهرت نتائج الدراسة لمجموعة النساء اللواتي يعانون من الاسقاط المتكرر بان نسبة توزع الطراز الوراثي الطافر CC كانت هي الاعلى 40% في حين نسبة الطراز الوراثي الطبيعي AA كانت هي الاقل 25% اما بالنسبة للطراز الوراثي المتباين AC فقد تواجد بنسبة 35% مقارنة مع مجموعة السيطرة، والتي كانت فيها نسب الطرز مختلفة اذ كانت نسبة تواجد الطراز الوراثي الطبيعي AA هي الاعلى 70% في حين كانت نسبة الطراز الوراثي المتباين AC وهي 30% بينما لم تسجل اي ظهور للنمط الوراثي الطافر CC في مجموعة السيطرة. اما بالنسبة لمستوى المشاهدة الاليلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بان الاليل الطافر C كان مستوى المشاهدة الاليلي 57.5% بينما الاليل الطبيعي A كان مستوى المشاهدة الاليلي

42.5% مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ كان مستوى المشاهدة الايلي للاليل الطبيعي 85% والاليل الطافر بنسبة 15%. وقد اظهرت دراسات سابقة بان هذه الطفرة تعتبر من المسببات الوراثية للاجهاض المتكرر اذ تلعب دورا مهما في زيادة مستوى الهوموسستين في الدم مما يؤدي الى حدوث حالة Hyper-homocystenemia والتي تؤدي الى خلل في ايض الفوليك وفرط التخثر في المشيمة وبالتالي حدوث حالة الاجهاض، كذلك اظهرت نتائج الدراسة بان قيمة الـ O.R هي (9.6000) بالنسبة للطراز الوراثي الطافر CC وهذا يعتبر عامل خطورة وحدث اضطرابات الحمل الناتجة عن خلل في عمل الجين *MTHFR*. [4,5,6,8]. وعند اجراء اختبار هاردي وينمبرغ تبين بان قيمة P Value تساوي 0.204233 وهي اقل من 0.5 وهذا يدل بان هذه المجموعة غير متزنة ولا تخضع لقانون HWE بسبب الطفرة التي اصابت الجين *MTHFR*. اظهرت نتائج الدراسة كما هو موضح في الشكل (2) وجود التباين الوراثي للجين *MTHFR* في الموقع A1298C وبجميع الطرز الوراثية AA,AC,CC لدى النساء اللواتي يعانين من حالات الجنين الميت.



الشكل (2): تبين ناتج تفاعل الـ PCR الخاص بالتباين الوراثي للجين *MTHFR* (A1298C) في مجموعة النساء ذوات الجنين الميت إذ إن M تمثل الدليل أحجمي والعينات (3,7,10) تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي الطبيعي (AA) بناتج التفاعل يحوي ثلاثة حزم بحجم 593 bp للجين الرئيسي والحزمة 281 bp تمثل الاليل الطبيعي اما الحزمة 361 bp تمثل الاليل الطافر , اما العينات (2,4,5,8,9) فهي تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي الطافر (CC) بناتج تفاعل 361 bp و 593 bp, والعينات (1,6) فهي تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي المتباين (AC) بناتج تفاعل 281bp,361 bp, 593bp والتي تم ترحيلها في هلام الاكاروز بتركيز 2%.

كما يبين الجدول (2) توزيع النمط الوراثي للجين *MTHFR* في الموقع A1298C اذ اظهرت نتائج الدراسة لمجموعة النساء اللواتي يعانين من حالات الجنين الميت بان نسبة توزيع الطراز الوراثي الطافر CC كانت هي الاعلى 40% في حين ان نسبة الطراز الوراثي المتباين AC كانت هي الاقل 25% اما بالنسبة للطراز الوراثي الطبيعي AA فقد تواجد بنسبة 35% مقارنة مع مجموعة السيطرة، والتي كانت فيها نسب الطرز مختلفة اذ كانت نسبة تواجد الطراز الوراثي الطبيعي AA هي الاعلى 70% في حين كانت نسبة الطراز الوراثي المتباين AC وهي 30% في حين لم تسجل اي ظهور للنمط الوراثي الطافر CC في مجموعة السيطرة. اما بالنسبة لمستوى المشاهدة الايلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بان الاليل الطافر C فقد كان مستوى المشاهدة

الاييلي 52.5% في حين ان الاليل الطبيعي A فقد كان مستوى المشاهدة الاليلي 47.5% مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ كان مستوى المشاهدة الاليلي للاليل الطبيعي 85% والاليل الطافر بنسبة 15%. كذلك اظهرت نتائج الدراسة بان قيمة ال O.R هي (6.8571) بالنسبة للطراز الوراثي الطافر CC وهذا يعتبر عامل خطورة وحدثت اضطرابات الحمل الناتجة عن خلل في عمل الجين *MTHFR*. وعند اجراء اختبار هاردي وينبرغ تبين بان قيمة P Value تساوي 0.025717 وهي اقل من 0.5 وهذا يدل بان هذه المجموعة غير متزنة ولا تخضع لقانون HWE بسبب الطفرة التي اصابت الجين *MTHFR*.

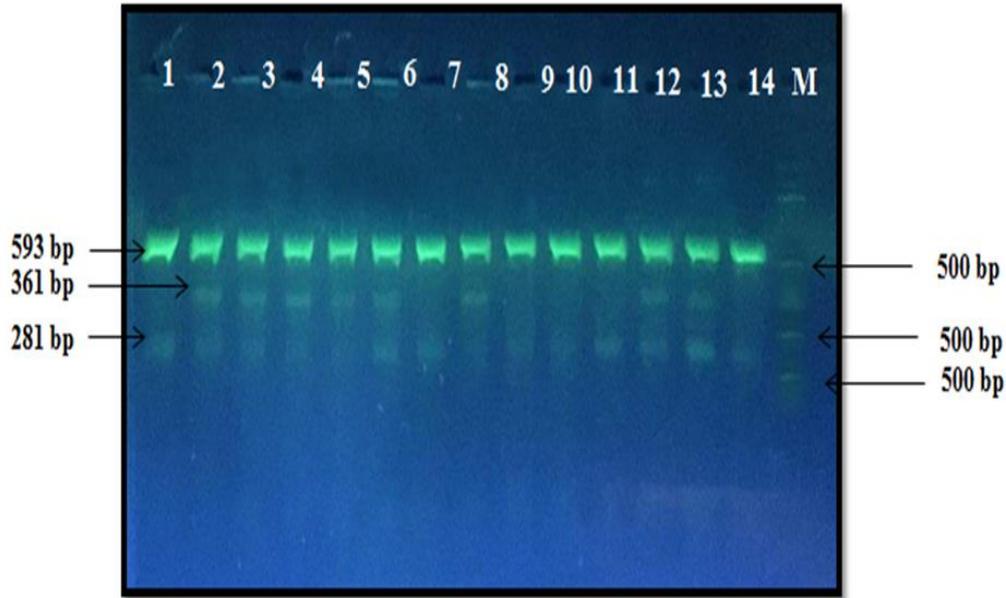
جدول (2): توزيع النمط الوراثي ومستوى المشاهدة الاليلي للجين *MTHFR* في الموقع (A1298C) بين مجموعة

السيطرة والنساء اللواتي يعانون من حالات الجنين الميت

Genotypes	Patients No. (20)		Control No. (20)		P value	OR	(95 % CI)
	No.	%	No.	%			
AA	7	35	14	70	0.5027	Ref	0.3742 to 7.4242
AC	5	25	6	30		1.6667	
CC	8	40	0	0		6.8571	
Alleles	No.	%	No.	%	P value	OR	(95 % CI)
A	19	47.5	34	85	0.0008	6.2632	2.1549 to 18.2038
C	21	52.5	6	15			

كما بينت دراسات سابقة بان هذه الطفرة تؤدي الى حدوث نقص في فعالية الانزيم (Methylente-tetra-) hydrofolat-reductase) والذي يلعب دورا مهما في تحويل المركب 5,10-Methylen tetra hydrofolate الى المركب 5-Methylen tetra hydrofolate وهو يعتبر الشكل المنتشر والسائد للفوليت، وان طفرة A1298C سجلت على انها تقلل من فعالية ونشاط الانزيم ان الاشخاص الحاملين للنمط الجيني متغاير الزيجوت يمتازون بزيادة مستوى الهوموسين ونقصان مستوى الفوليت [12,13,14,15].

كما اظهرت نتائج الدراسة بالنسبة لمجموعة النساء ذوات فحص ال TORCH الموجب كما هو موضح في الشكل (3) وجود التباين الوراثي للجين *MTHFR* في الموقع A1298C وبجميع الطرز الوراثية AA,AC,CC.



الشكل (3): تبين ناتج تفاعل الـ PCR الخاص بالتباين الوراثي للجين *MTHFR* (A1298C) في مجموعة النساء ذوات فحص الـ TORCH الموجب إذ إن M تمثل الدليل أحجمي والعينات (1,7,9,10,11,14) تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي الطبيعي (AA) بناتج التفاعل يحوي حزمين حزم بحجم 593 bp للجين الرئيسي والحزمة 281 bp تمثل الاليل الطبيعي، أما العينات (4,5,8,) فهي تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي الطافر (CC) بناتج تفاعل 361 bp و 593 bp والعينات (2,3,6,12,13) فهي تمثل العينات الحاملة للنمط الوراثي المتباين (AC) بناتج تفاعل 281bp,361 bp, 593bp والتي تم ترحيلها في هلام الاكاروز بتركيز 2%.

ويبين الجدول (3) مستوى المشاهدة الاليلي والنمط الوراثي للجين *MTHFR* في الموقع A1298C اذ اظهرت نتائج الدراسة لمجموعة النساء اللواتي يعانين من فحص TORCH الموجب بان نسبة توزيع الطراز الوراثي المتباين AC هي الاعلى 50% في حين ان نسبة الطراز الوراثي الطافر CC كانت هي الاقل 7.2% اما بالنسبة للطراز الوراثي الطبيعي AA فقد تواجد بنسبة 42.8% مقارنة مع مجموعة السيطرة، والتي كانت فيها نسب الطرز مختلفة اذ كانت نسبة تواجد الطراز الوراثي الطبيعي AA هي الاعلى 70% في حين كانت نسبة الطراز الوراثي المتباين AC وهي 30% بينما لم تسجل اي ظهور للنمط الوراثي الطافر CC في مجموعة السيطرة. اما بالنسبة لمستوى المشاهدة الاليلي فقد بينت الدراسة لهذه المجموعة بان الاليل الطافر C فقد كان مستوى المشاهدة الاليلي 32.2% بينما الاليل الطبيعي A فقد كان مستوى المشاهدة الاليلي 67.8% مقارنة مع مجموعة السيطرة اذ كان مستوى المشاهدة للاليل الطبيعي 85% والاليل الطافر بنسبة 15%. كذلك اظهرت نتائج الدراسة بان قيمة الـ O.R هي (1.0) بالنسبة للطراز الوراثي الطافر CC وهذا لا يعتبر عامل خطورة وحدثت اضطرابات الحمل الناتجة عن خلل في عمل الجين *MTHFR*. وعند اجراء اختبار هاردي-وينبرغ تبين بان قيمة P Value تساوي 0.584361 وهي اعلى من 0.5 وهذا يدل بان هذه المجموعة متزنة وتخضع لقانون HWE .

جدول (3) : توزيع النمط الوراثي ومستوى المشاهدة الايلي للجين *MTHFR* في الموقع (A1298C) بين مجموعة السيطرة والنساء اللواتي يعانون من فحص TORCH الموجب علما ان الايل A هو الايل الطبيعي و الايل C هو الايل الطافر.

Genotypes	Patients No. (20)		Control No. (20)		P value	OR	(95 % CI)
	No.	%	No.	%			
AA	6	42.8	14	70	0.2634	Ref.	0.6383 to 11.6101
AC	7	50.0	6	30		2.7222	
CC	1	7.2	0	0		1.0000	
Alleles	No.	%	No.	%	P value	OR	(95 % CI)
A	19	67.8	34	85	0.0998	2.6842	0.8283 to 8.6980
C	9	32.2	6	15			

وقد اشارت بعض الدراسات الى ان حدوث هذه الطفرة التي تؤدي الى تغير الحامض الاميني الارجنين الى البرولين مما يؤدي الى تغيير في التعبير الجيني للانزيم (Methylen tetra hydrofolate reductase) وايضا تسبب انخفاض التوافر الحيوي للفوليت وفيتامين B12 وزيادة تركيز الهوموستين وبما انه العمليات الخلوية مثل التكاثر والتمايز تعتمد على الفوليت وفيتامين B12 فان هذه التأثيرات قد تكون واضحة بشكل خاص في مرحلة مبكرة من التطور الجنيني عندما تعاني الخلايا تكاثرا وتمايزا سريعين، وهي تعتبر مسبب اضافي الى حالات الاجهاض في هذه المجموعة [16,17,18,19].

وقد اظهرت نتائج الدراسة بعد قياس متلازمات الاجسام المضادة للفوسفوليبيد لمجاميع الدراسة بان الفحوصات الموجبة للجسم المضاد . IgG . تواجده في مجاميع التي شملتها الدراسة بالنسبة للنساء اللواتي يعانين من اضطرابات الحمل وكانت اعلى مستوى لدى مجموعة النساء موجبة فحص الـ TORCH بمعدل (100 %) اما بالنسبة للجسم المضاد IgM تواجده في جميع المجاميع وكانت اعلى مستوى لدى مجموعة النساء ذوات الجنين الميت بمعدل (71%) وكما موضح في الجدول التالي.

الجدول (4): بين نتائج مضادات IgG & IgM لا Antiphospholipid في العينات التي شملتها الدراسة (ml U\mL)

Antibody	RSA (n=21)	MIS (n=30)	TORCH (n=14)	Range
IgG +	18 (85 %)	(87 %) 26	(100 %) 14	35.2-79.4
IgG -	3 (15 %)	(13 %) 4	-----	0.57-0.98
IgM +	15 (71%)	(53 %) 16	(7 %) 1	1.21-5.70
IgM -	6 (29 %)	(47 %) 14	-----	0.3-0.6

كما اظهرت نتائج الدراسة بعد قياس متلازمات الاجسام المضادة للكارديوليبين لمجاميع الدراسة بان الفحوصات الموجبة للجسم المضاد IgG تواجده في مجاميع التي شملتها الدراسة بالنسبة للنساء اللواتي يعانون من اضطرابات الحمل وكانت اعلى مستوى لدى مجموعة النساء موجبة فحص الـ TORCH بمعدل (92 %) وكانت القيم اعلى مقارنة بمجموعة السيطرة، اما بالنسبة للجسم المضاد IgM فقد تواجده في مجموعة النساء Recurrent Spontaneous Abortion ومجموعة Missed abortion وبنفس الدرجة (15%).

الجدول (5): بين نتائج مضادات IgG & IgM لـ Anticardiolipin في العينات التي شملتها الدراسة (U\mL)

Antibody	RSA (n=21)	MIS (n=30)	TORCH (n=14)	Range
IgG +	18 (85 %)	28 (93 %)	13 (92 %)	1.15-27.07
IgG -	3 (15 %)	2 (7 %)	1 (8 %)	0.35-1.29
IgM +	3 (15 %)	3 (15 %)	-----	1.82-9.06
IgM -	2 (11 %)	-----	-----	0.76-0.77

اشارت دراسات عديدة الى ان هذه المتلازمة تعد اضطرابا في النظام المناعي يتميز بحدوث زيادة او فرط في تخثر الدم ومضاعفات اخرى لدى النساء الحوامل (اجهاض مبكر وولادة مبكرة وموت الجنين) ووجود اجسام مضادة لل antiphospholipid في الدم وتشمل اضطرابات التخثر المرتبطة بمتلازمة الاجسام المضادة للفوسفوليبيد: الجلطة وجلطات الدم في عمق الساقين (تجلط الدم الوريدي العميق) والتجلطات في الرئتين (الانسداد الرئوي) وقد ثبت بانها ترتبط بعدد من الامراض وتشمل هذه الامراض تجلط الدم غير الطبيعي (thrombosis) في الشرايين والاوردة والاجهاضات المبكرة والتلقائية وان المرضى الذين يعانون من هذه المتلازمة يحصل لديهم جلطات دموية وايضا لديهم اضرار فوسفوليبيد قابلة للكشف عن طريق فحص الدم [8,9].

الاستنتاجات

نستنتج من هذه وجود علاقة بين حالات اضطرابات الحمل والطفرات الوراثية التي تصيب الجين MTHFR في الموقع A1298C. كما نستنتج بعد قياس متلازمات الاجسام المضادة للفوسفوليبيد والكارديوليبين ، فان النتائج الموجبة للجسم المضاد IgG تواجدت في مجاميع التي شملتها الدراسة بالنسبة للنساء اللواتي يعانين من اضطرابات الحمل وكانت اعلى مستوى لدى مجموعة النساء موجبة فحص الـ TORCH.

شكر وتقدير: بعد انتهاء كل عمل يتوجب ان نتقدم بالشكر والعرفان لكل من ساعد وسهل من اتمام هذا العمل لذلك كثيرون من هم يتوجب علينا شكرهم لكننا نخص شكرنا لجامعة الموصل وكلية العلوم على اتمام هذا العمل.

المصادر

- 1- Chaithra, P., Malini, S. and Kumar, C. Int J Hum Genet.,11(4) : 217-225. (2011).
- 2- Cao, Y., Zhang, Z., Zheng, Y., Yuan, W., Wang, J., Liang, H., Chen, J., Du, J., and Shen, Y. Genes Nutr., 9(3) :1-8. (2014).
- 3- Daniel, V. Biomed J., 37(4): 1-14.(2015).
- 4- Aly, R., Taalab, M., Ghazy. HInternational journal of clinical and experimental pathology, 7:2571. (2014).

- 5- Huo, Y., Li, J., Qin, X., Huang, Y., Wang, X., Gottesman, R., Tang, G., Wang, B., Chen, D., He, M., Fu, J., Cai, Y., Shi, X., Zhang, Y., Cui, Y., Sun, N., LI, X., Cheng, X., Wang, J., Yang, X., Yang, T., Xiao, C., Zhao, G., Dong, Q., Zhu, D., Wang, X., Ge, J., Zhao, L., Hu, D., Liu, L. and Hou, F. *JAMA*, 313:1325–35. (2015).
- 6- Wang, X., Fu, J., Li, Q. and Zeng, D. Geographical and ethnic distributions of the MTHFR C677T, A1298C and MTRR A66G gene polymorphisms in Chinese populations: a meta-analysis. *PLoS ONE*, 11:e0152414. (2016).
- 7- Negin, J., Mohammad, H., Ali, A. *Electron J Gen Med.*, 15(4):2516-3507.(2018).
- 8- Michel, T., Ali, D., Robert, D., Eric, L., Lilach, O. and Amir, L. *J Am Coll Cardiol.*, 69(18):2317–30. (2017).
- 9- Jahromi, A., Farjam, M., Mogharrab, F., Amiryam, M. and Makiani, M. *Am. J. Infect. Dis.*, 6: 66-69. (2010).
- 10- Iranpur, V. and Esmailizadeh, A. *JBM Journal of Biological Methods*. (2010)
- 11- Sahel, T., Taher, M. and Hossein, R. *Obstet Gynecol Int J.*, 8(2):1-6. (2017).
- 12- Cortese, C. and Motti, C. *Public Health Nutr.*, 4:493–7. (2001).
- 13- Crider, K., Zhu, J., Hao, L., Yang, Q., Yang, T., Gindler, J., Maneval, D., Quinlivan, E., Li, Z., Bailey, L., and Berry, R. *Am J Clin Nutr.*, 93:1365–72. (2011).
- 14- Sheikha, M., Kalantar, S., Ghasemi, N. and Soleimani, S. *Iran J Pediatr Hematol Oncol.*, 2(3):109–13. (2012).
- 15- Zhu, B., Xiahou, Z., Zhao, H., Peng, B., Zhao, H. and Xu, X. *Biochemical and biophysical research communications*, 447:702-706. (2014).
- 16- Wong, C. *Hong Kong Med J.*, 21:155–64. (2015).
- 17- Chandran, J., Anderson, G., Kennedy, A., Kohn, M. and Clarke, S. *Int J Eat Disord.*, 48:1176–9. (2015).

- 18- Nakamura, T., Nishi, M., Rikitake, M., Koga, D., Eto, J., Tajima, D., Toda, S., and Matsuo, M. *Brain Dev.*, 41(11) :1–5. (2018).
- 19- Zhang, X., Hou, C., Liu, P., Chen, L., Liu, Y., Tang, P. and Li, R. *Front. Neurol.*, 9:1162. (2019).