

Investigation of the association between polymorphisms of factor V (G1691A) and factor II (G20210A) with recurrent miscarriage in Iranian patients

Eskandari F¹, Zare Karizi SH², Akbari MT^{3*}

1- Department of Biology, Sciences & Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

2- Department of Biology, Pishva Branch, Islamic Azad University, Varamin, Iran

3- Department of Medical Genetics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Received: 21 Oct 2014, Accepted: 17 Dec 2014

Abstract

Background: The pathogenesis of recurrent pregnancy loss includes complex interaction of several genetic and environmental factors. Changes in blood coagulation factors during pregnancy may play an important role in the occurrence of recurrent abortions (RA). Recently, inherited thrombophilia has been considered as a possible cause. Therefore, in this study we have investigated association of factor V (G1691A) and factor II (G20210A) polymorphisms in Iranian patients with recurrent abortions.

Materials and Methods: A total of 203 women participated in this study: 105 women with two or more consecutive unexplained miscarriage as cases and 98 women with at least two healthy children as control group. Total genomic DNA was isolated from Peripheral blood leukocytes. The presence or absence of mutation in the FV (G1691A) and FII (G20210A) polymorphisms were assessed by PCR-RFLP, using *MnII* and *HindIII* digestion enzymes, respectively. Finally, data was analyzed using Chi-Square(χ^2) test.

Results: The results showed no statistical significant differences in the prevalence of *FV* (G1691A) and *FII* (G20210A) polymorphisms between patients and control group.

Conclusion: considering the results of this study, these polymorphisms seem to have no role in etiology of recurrent pregnancy loss in the studied population.

Keywords: *FV*, FII, polymorphism, recurrent pregnancy loss

*Corresponding Author:

Address: Department of Medical Genetics, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

Email: mtakbari@modares.ac.ir

بررسی ارتباط چند شکلی های فاکتور V (G1691A) و فاکتور II (G20210A) با سندرم سقط مکرر جنین در بیماران ایرانی

فاطمه اسکندری^۱، شهره زارع کاریزی^۲، محمد تقی اکبری^{۳*}

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی- ژنتیک، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پیشوا، ورامین، ایران

۳- دانشیار، گروه ژنتیک پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۷/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۹/۲۶

چکیده

زمینه و هدف: در پاتوژنز سقطهای مکرر جنین عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی دخیل می‌باشند. تغییر فاکتورهای انعقادی خون طی دوران بارداری نقش مهمی در رخداد سقط مکرر جنین دارد. اخیراً ترومبوفیلی ارثی به عنوان عاملی برای سقط مکرر جنین شناخته شده است. بنابر این در این مطالعه ارتباط میان چندشکلی فاکتور V (G1691A) و فاکتور II (G20210A) با سقط مکرر جنین در بیماران ایرانی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در مجموع ۲۰۳ زن در این مطالعه شرکت داشتند؛ ۱۰۵ نفر با حداقل ۲ سقط با علت ناشناخته به عنوان مورد و ۹۸ نفر با حداقل ۲ تولد موفق به عنوان شاهد مطالعه شدند. DNA ژنومی هر فرد از لوکوسیت‌های موجود در خون محیطی استخراج شد. وجود یا عدم جهش در ژن‌های فاکتور V (G1691A) و فاکتور II (G20210A) با روش PCR-RFLP و با استفاده از آنزیم‌های محدودالایتر *HindIII* و *MnlI* بررسی شد. در نهایت، اطلاعات با استفاده از آزمون آماری مربع کای ارزیابی شد.

یافته‌ها: نتایج به دست آمده نشان داد شیوع چند شکلی‌های فاکتور V (G1691A) و فاکتور II (G20210A) در دو گروه شاهد و مورد از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری ندارد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این بررسی، چندشکلی‌های مذکور نقشی در اتیولوژی سقط مکرر جنین در جمعیت مورد مطالعه ندارند.

واژگان کلیدی: فاکتور V، فاکتور II، چندشکلی، سقط مکرر جنین

*نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی

Email: mtakbari@modares.ac.ir

مقدمه

«سقط مکرر جنین» به از دست دادن ۲ یا تعداد بیشتری جنین قبل از هفته بیستم بارداری اطلاق می‌گردد و معمولاً ۱ تا ۲ درصد بارداری‌ها را شامل می‌شود (۱، ۲). امروزه از سقط مکرر جنین به عنوان یک بیماری چند عاملی یاد می‌شود که دلایل شناخته شده‌ای مانند مشکلات آناتومیکی، مشکلات هورمونی، عوامل عفونی، مشکلات ایمنولوژیکی، ناهنجاری‌های کروموزومی، عفونت‌های رحمی، دیابت، بیماری‌های تیروئیدی، ترومبوفیلی‌های ارثی - اکتسابی و عوامل محیطی دارد. با این وجود، همچنان علت نیمی از سقط‌ها ناشناخته باقی مانده است (۳-۵). از عوامل ژنتیکی سقط مکرر جنین، می‌توان جابه‌جایی‌های متعادل کروموزومی در والدین و شکستگی‌های کروموزومی و در جنین را نام برد (۶، ۷).

نقش ترومبوفیلی در سقط مکرر جنین به طور کامل مشخص نشده، اما مطالعات زیادی در مورد نقش این عوامل با سندرم سقط مکرر جنین صورت گرفته است. برخی این اطلاعات را تایید و برخی دیگر آن را رد نموده‌اند (۸-۱۲). پژوهش‌ها نشان داده‌اند در بیش از ۵۰ درصد زنانی که دچار سقط‌های مکرر با علل نامشخص می‌شوند ترومبوفیلی ارثی یا اکتسابی دیده می‌شود (۱۳).

چند شکلی G1691A در فاکتور V (لیدن) جابه‌جایی آدنین با گوانین در نوکلئوتید ۱۶۹۱ گزون ۱۰ است که باعث ایجاد یک mRNA پیش ساز مقاوم به پروتئین C فعال (APC) و در نهایت افزایش تولید ترومبین خواهد شد (۱۳). چندشکلی G20210A در ژن فاکتور II پروترومبین نیز به دلیل جابه‌جایی آدنین با گوانین موجب افزایش تولید پروترومبین خواهد شد (۱۴).

چندی است که پیدا کردن یک پلی‌مورفیسم شایع مرتبط با سقط - به عنوان مارکر تشخیصی - یکی از دغدغه‌های اصلی محققان به شمار می‌رود. به همین دلیل بررسی پلی‌مورفیسم‌های ذکر شده بار دیگر پیشنهاد می‌شود. امید است که بتوان با استعانت از یافته‌های محققان پیشین،

مارکرهای ترومبوفیلی را برای سقط مکرر جنین در جمعیت ایران ارائه نمود.

بنابر این در این مطالعه ارتباط دو چندشکلی در ژن‌های فاکتور V (G1691A) و پروترومبین (G20210A) با سندرم 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 ۱۰۵ زن مبتلا به سندرم سقط مکرر با علت ناشناخته با میانگین و انحراف معیار سن (۲۷/۷±۵/۰۳) که حداقل ۲ سقط قبل از هفته بیستم بارداری داشتند به عنوان مورد انتخاب شدند. گروه مورد به گونه‌ای انتخاب شدند که فاقد مشکلات آناتومیکی رحم، مشکلات سیتوژنتیکی، مشکلات هورمونی، مشکلات ایمنولوژیکی و اختلالات اسپرم همسر باشند. به همین منظور به بیماران پیشنهاد شد آزمایش‌های تعیین کاریوتیپ خانم و آقا، اسکن فراصوتی واژینال، اندازه‌گیری FBS, T3, T4, PRL, LH, ارزیابی فاکتورهای ترومبوفیلی پروتئین، پروتئین C، آنتی ترومبین III، PTT، Anti-dsDNA، TORCH Study، S، PT، آزمایش‌های ایمنولوژی (APA, ACA, ANA, TPOAb, TgAb) و آنالیز اسپرم (شمارش اسپرم، حجم pH، مورفولوژی، جنیندگی) را انجام دهند. این زنان طی سال‌های ۱۳۸۹ تا ۱۳۹۱ از نقاط مختلف ایران به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران-دکتر اکبری مراجعه کرده بودند. در مقابل، ۹۸ زن که حداقل ۲ تولد موفق داشته و فاقد سابقه سقط نیز بودند به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. میانگین و انحراف معیار سن این افراد ۳۰±۴/۶۶ بود. افراد هر گروه پس از دریافت آگاهی‌های لازم، فرم رضایت‌نامه را تکمیل کردند. سپس ۵ میلی‌لیتر خون محیطی از آنان درلوله‌های حاوی EDTA دریافت شد. نمونه DNA این افراد با روش نمک اشباع استخراج شد (۱۵).

تکثیر با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای هر قطعه انجام شد. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی

چند شکلی های G1691A فاکتور V و G20210A فاکتور II 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 چندشکلی G1691A فاکتور V و G20210A فاکتور II

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)
G1691A-F	GGA ACA ACA CCA TGA TCA GAG CA	291
G1691A-R	TAG CCA GGA GAC CTA ACA TGT TC	
G20210A-F	CCG CTG GTA TCA AAT GGG	345
G20210A-R	CCA GTA TTA CTG GCT CTT CCT G	

ایجاد خواهد نمود و فقدان این آلل جایگاه برش را از بین خواهد برد.

محصولات PCR پس از هضم آنزیمی روی ژل آکریل آمید ۱۲ درصد برده شد و پس از رنگ آمیزی با نیترات نقره، نتایج حاصله تحلیل شد.

مشاهدات وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ شد و توزیع ژنوتیپ های هر جهش، فراوانی هموزیگوت و هتروزیگوت ها در دو گروه بیمار و شاهد با استفاده از مربع کای پیرسون و تست دقیق فیشر مورد سنجش قرار گرفت. مقدار p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد. مقدار p و میزان خطر نسبی محاسبه گردید.

یافته ها

در این تحقیق چندشکلی ژن های G1691A فاکتور V و G20210A فاکتور II در ۹۸ زن که حداقل ۲ تولد موفق داشتند و ۱۰۵ زن مبتلا به سندرم سقط مکرر با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده در فاکتور V، فراوانی آلل A به طور کلی در جمعیت مورد بررسی پایین است؛ به طوری که فراوانی آلل G در کل جمعیت (مورد و شاهد هر دو) ۹۷ درصد و فراوانی آلل A ۳ درصد می باشد. فراوانی ژنوتیپ GG در گروه بیماران، ۹۴ درصد و در گروه شاهد، ۹۹ درصد بوده و ژنوتیپ GA در افراد مبتلا به سقط مکرر دیده نشد و در گروه شاهد تنها یک نفر واجد این ژنوتیپ بود. در این گروه شش نفر واجد ژنوتیپ AA بودند. این تفاوت مشاهده شده در میان ناقلان آلل A، تفاوت معنی داری نمی باشد (p=۰/۰۶) (جدول ۲).

واکنش PCR برای هر دو چندشکلی در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10X PCR، ۰/۲۵ میلی مولار از هر dNTPs، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۷-۵ پیکو مول از هر پرایمر و ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلیمراز Taq (شرکت سیناژن ایران) صورت گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل، دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۳ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد و طولی سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد صورت گرفت. جهت شناسایی چند شکلی های فاکتور V (G1691A) و فاکتور II (G20210A)، محصول PCR مربوطه به ترتیب با استفاده از آنزیم های محدودالایر *MnII* و *HindIII* مورد هضم آنزیمی قرار گرفت.

محصول PCR جهت بررسی چندشکلی فاکتور V، طولی معادل 291bp خواهد داشت. برش آنزیمی در ژنوتیپ GG سه قطعه ۱۵۸، ۹۴ و ۳۶ جفت بازی ایجاد خواهد کرد. در حالی که در آلل A یک جایگاه برش از بین خواهد رفت و دو قطعه ۱۳۰ و ۱۵۸ جفت بازی به وجود خواهد آمد.

در مورد چند شکلی G20210A فاکتور II، محصول PCR طولی معادل ۳۴۵ جفت باز خواهد داشت که وجود آلل A یک جایگاه برش برای آنزیم *HindIII* ایجاد خواهد کرد و در نتیجه دو قطعه ۳۲۲ و ۲۳ جفت بازی

جدول ۲. فراوانی آللی، ژنوتیپی و بررسی سطح معنی داری برای چند شکلی G1691A فاکتور V

p	شاهد		بیمار		کل افراد مورد مطالعه		آلل
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
G	۱۹۵	%۹۹	۱۹۸	%۹۴	۳۹۳	%۹۷	۰/۰۰۳
	۱	%۱	۱۲	%۶	۱۳	%۳	
ژنوتیپ							
GG	۹۷	%۹۹	۹۹	%۹۴	۱۹۶	%۹۷	۰/۰۶
	۱	%۱	۰	%۰	۱	%۰	
GA	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	*
	۰	%۰	۶	%۶	۶	%۳	
AA	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	۰
	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	

* محاسبه با استفاده از تست دقیق فیشر

مورد بررسی از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت می کردند. در نهایت نتایج آنالیز آماری با استفاده از آزمون مربع کای نشان داد وجود آلل A در هر دو چند شکلی، ارتباط معنی داری با سندرم سقط مکرر جنین در جمعیت مورد بررسی ندارد.

در مورد چند شکلی فاکتور II فراوانی ژنوتیپ AA در کل جمعیت صفر و فراوانی ژنوتیپ GG و GA در گروه بیمار و شاهد مشابه بود. بنابراین ارتباط معنی داری بین این چند شکلی و سقط مکرر جنین وجود ندارد (p=۱) (جدول ۳). لازم به ذکر است که جمعیت های

جدول ۳. فراوانی آللی، ژنوتیپی و بررسی سطح معنی داری برای چند شکلی G20210A فاکتور II

p	شاهد		بیمار		کل افراد مورد مطالعه		آلل
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
G	۱۹۵	%۹۹	۲۰۹	%۱۰۰	۴۰۴	%۱۰۰	۱
	۱	%۱	۱	%۰	۲	%۰	
ژنوتیپ							
GG	۹۷	%۹۹	۱۰۴	%۹۹	۲۰۱	%۹۹	۱
	۱	%۱	۱	%۱	۲	%۱	
GA	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	۰
	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	
AA	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	۰
	۰	%۰	۰	%۰	۰	%۰	

* محاسبه با استفاده از تست دقیق فیشر

تفاوت در شیوع آلل 1691A در مناطق مختلف باشد. به عنوان مثال شیوع آن در ایران از صفر درصد (جمعیت های کرد- بلوچ- گیلک و عرب) تا ۱۱ درصد (جمعیت های لر) برآورد شده است که در مطالعه حاضر ۳ درصد محاسبه شده است (۶، ۱۶-۴). این تفاوت نه تنها در ایران بلکه در سایر نقاط دیگر جهان نیز دیده شده است. نرخ بروز این آلل در آسیای شرقی تقریباً نزدیک به صفر است و در جمعیت های اروپایی (۳ تا ۱۴ درصد) و در کشورهای آمریکایی بیشترین نرخ بروز را داراست. بررسی ارتباط فاکتور V با سندرم سقط مکرر جنین نشان داده که در انگلیس با وجود شیوع بیشتر آلل 1691A در جمعیت بیمار نسبت به شاهد، این افزایش

بحث

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، دو چند شکلی G20210A فاکتور II و G1691A فاکتور V تفاوت معنی داری در دو گروه مورد و شاهد نداشتند. بنابراین نمی تواند خطر سقط را در جمعیت مورد مطالعه افزایش دهد. عدم ارتباط میان چند شکلی FV و سندرم سقط مکرر جنین در مطالعات باقری و همکاران (شمال غربی ایران) نیز دیده شده است (p=۱) (۴). اما مطالعات ترابی و همکاران، بهجتی و همکاران، تفاوت معنی داری را برای این چند شکلی در دو گروه بیمار و شاهد نشان دادند (به ترتیب p=۰/۰۱۶ و p<۰/۰۰۱) (۵، ۷). این تناقض در نتایج می تواند نتیجه

معنی دار نمی باشد ($p=0/056$) (۸). هم چنین سایر مطالعات انجام شده در استرالیا ($p=0/44$)، آمریکا ($p=0/94$)، برزیل ($p=0/44$) و انگلیس ($p=0/54$) تفاوت معنی داری را میان دو گروه بیمار و شاهد نشان ندادند (۹). در مقابل مطالعات انجام شده در ایتالیا ($p=0/016$)، یونان ($p=0/003$)، فرانسه ($p=0/02$) و آلمان ($p=0/002$) ارتباط میان این فاکتور و سندرم سقط مکرر جنین را نشان داده است (۱۷-۲۰). به طور کلی می توان گفت علت این تفاوت ها به دلیل تنوع در قومیت و مناطق جغرافیایی است که حاصل رانش ژنی، مهاجرت جمعیت ها یا انتخاب طبیعی است.

فاکتور دیگری که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت چند شکلی G20210A در فاکتور II پروترومبین است. آنالیزهای آماری در مطالعه حاضر تفاوت معنی داری را میان دو گروه بیمار و شاهد نشان نداد ($p=1$). بنابراین می توان گفت این چند شکلی با سندرم سقط مکرر جنین در جمعیت مورد بررسی ارتباطی ندارد.

آلل 20210A نیز مانند آلل 1691A شیوع متفاوتی در جمعیت های مختلف دارد. به عنوان مثال در مطالعه باقری و همکاران که در ارومیه انجام شده است فراوانی ژنوتیپ GG در جمعیت ۹۵/۸ درصد (۱۱۵ نفر)، ژنوتیپ GA ۴/۱۷ درصد (۵ نفر) و ژنوتیپ AA ۰ درصد (صفر) محاسبه شده است. بنابراین به طور میانگین نرخ بروز آن در ایران ۱/۶ تا ۳/۰۷ درصد و در مطالعه حاضر نیز این میزان صفر درصد محاسبه شده است (۶، ۱۶، ۲۱).

در بررسی های گسترده تر بیشترین میزان آن در جمعیت های اروپایی و لبنان (۵ درصد) مشاهده شده است (۱۰-۱۲). همان طور که پیشتر گفته شد، رخداد چند شکلی در ژن پروترومبین به دلیل اختلال در روند لخته سازی می تواند با سندرم سقط مکرر جنین مرتبط باشد. مطالعات متعددی به بررسی ارتباط چند شکلی G20210A با سقط مکرر جنین در ایران پرداخته اند. مطالعه بهجتی و همکاران، ارتباط میان این چند شکلی و سندرم سقط مکرر جنین را رد کرده ($p=1$) و مطالعه باقری و همکاران، این

ارتباط را تأیید نموده است ($p=0/006$) (۴، ۷، ۱۶). مطالعه پروین و هرمان که در ایالت پنجاب هند انجام شد تفاوتی را در دو گروه شاهد و بیمار نشان نداد (۹، ۲۱). هم چنین در مطالعه ای از نوع متاآنالیز که توسط کوچر و همکاران انجام شد، ارتباط معنی داری ($p=0/52$) میان این فاکتور و سندرم سقط مکرر جنین یافت نشد (۲۲). مطالعات متعدد دیگر نیز عدم ارتباط میان چند شکلی G20210A با سندرم سقط مکرر جنین را نشان دادند (۲۵-۲۳). در مقابل، مطالعه دیگر در آلمان نشان داد که فراوانی این چند شکلی در افرادی که در سه ماهه اول بارداری سقط دارند بیش از افراد شاهد است (۲۱). مطالعه دیگر نشان داد ۸/۷ درصد از زنان مبتلا به سندرم سقط مکرر واجد ژنوتیپ هتروزیگوت می باشند در حالی که این میزان در گروه شاهد تنها ۲ درصد است (۲۶). هم چنین در یک مطالعه متاآنالیز که در انگلیس انجام شد نشان داده شد که چند شکلی G20210A فاکتور II در زنان مبتلا به سندرم سقط زودرس بسیار بیشتر از گروه شاهد است (۲۷). بنابراین درباره نقش این چند شکلی با سندرم سقط مکرر هم چنان جای بحث است که مطالعه حاضر بدین منظور صورت گرفت.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که چند شکلی G20210A فاکتور II و G1691A فاکتور V عامل خطری برای سقط خود به خودی در زنان مورد مطالعه محسوب نمی گردد. گرچه در بیماران سفید پوست اروپایی این ارتباط مشاهده شده است.

نتایج متضاد در جمعیت های متفاوت نشان می دهد که نقش G1691A فاکتور V و G20210A فاکتور II در سندرم سقط مکرر جنین احتمالاً به دلیل افزایش میزان پروترومبین در رژیم غذایی و عوامل جغرافیایی و نژادی تحت تاثیر قرار می گیرد و فنوتیپ نهایی، حاصل برهم کنش این عوامل می باشد (۲۸). در واقع اثر SNP های مذکور بر میزان پروترومبین به سایر عوامل درگیر در روند لخته سازی وابسته است. جهش در افرادی با شرایط رژیم غذایی غنی از فیبر و فاقد چربی، ورزش های روزانه، عدم استفاده از دخانیات و سایر عوامل ناشناخته دیگر عارضه ای قابل تحمل

منابع

1. Gary Cunningham F. Pregnancy and childbirth Williams. Translated by Voldan M. Sec.Tehran;Arjmand Publishing, 2008.
2. Beauchamp NJ, Daly ME, Hampton K, Cooper PC, Preston FE, Peake IR. High prevalence of a mutation in the factor V gene within the UK population: relationship to activated protein C resistance and familial thrombosis. British journal of haematology. 1994;88(1):219-22.
3. Ridker PM, Miletich JP, Hennekens CH, Buring JE. Ethnic distribution of factor V Leiden in 4047 men and women: implications for venous thromboembolism screening. Jama. 1997; 277(16):1305-7.
4. Bagheri M, Rad IA, Nanbakhsh F. Factor V Leiden G1691A and factor II G20210A point mutations and pregnancy in North-West of Iran. Archives of gynecology and obstetrics. 2011; 284(5):1311-5.
5. Torabi R, Zarei S, Zeraati H, Zarnani AH, Akhondi MM, Hadavi R, et al. Combination of thrombophilic gene polymorphisms as a cause of increased the risk of recurrent pregnancy loss. Journal of Reproduction & Infertility. 2012; 13(2):89-90.
6. Rahimi Z, Vaisi-Raygani A, Mozafari H, Kharrazi H, Rezaei M, Nagel RL. Prevalence of factor V Leiden (G1691A) and prothrombin (G20210A) among Kurdish population from Western Iran. Journal of thrombosis and thrombolysis. 2008; 25(3):280-3.
7. Behjati R, Modarressi MH, Jeddi-Tehrani M, Dokoochaki P, Ghasemi J, Zarnani AH, et al. Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility and recurrent spontaneous abortion. Annals of hematology. 2006; 85(4): 268-71.
8. Ridker PM, Miletich JP, Buring JE, Ariyo AA, Price DT, Manson JE, et al. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. Annals of internal medicine. 1998; 128(12_Part_1):1000-3.
9. Parveen F, Shukla A, Agrawal S. Should factor V Leiden mutation and prothrombin gene polymorphism testing be done in women with recurrent miscarriage from North India?

است، در حالی که در افراد فاقد شرایط مذکور وقوع این جهش می تواند منجر به بروز فنوتیپ های بالینی یا بیوشیمیایی گردد. بدین ترتیب تفاوت در عوامل محیطی می تواند تفاوت در تاثیر چند شکلی های فاکتور V و فاکتور II بر سقط مکرر جنین در جوامع مختلف را توجیه کند (۲۹). از طرف دیگر پراکندگی (توزیع) SNP ها در جوامع مختلف متفاوت است. سومین عامل موثر در توجیه نتایج متناقض در جوامع مختلف و حتی نتایج حاصل از مطالعات مختلف در یک جمعیت، اندازه، ترکیب، پراکنش جغرافیایی و قومیت جمعیت مورد مطالعه می باشد (۲۹). در نهایت، اثرات فنوتیپی چندشکلی های ژنی تحت تاثیر سایر عوامل ژنتیکی یا زمینه ژنتیکی فرد و عوامل محیطی قرار می گیرد که بهترین مثال از برهم کنش ژن-محیط در ایجاد یک فنوتیپ است. از این رو این امر محتمل است که چندشکلی ها تنها در ارتباط با سابقه ژنتیکی خاص و یا همراه با عوامل محیطی می توانند منجر به بروز اختلال شوند (۳۰).

نتیجه گیری

در مجموع بررسی چندشکلی های فاکتور II پروترومبین (G20210A) و فاکتور V لیدن (G1691A) در جمعیت مورد مطالعه نشان داد تفاوت معنی داری میان ناقلان آلل جهش یافته در دو گروه شاهد و مورد وجود ندارد. اما نتایج دقیق تر منوط به انجام مطالعات در تعداد بیشتری از زنان مبتلا به سقط مکرر است.

تشکر و قدردانی

این طرح با حمایت مالی آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران با شماره گرانت ۹۰۰۰۱ انجام شد. نویسندگان مقاله از زحمات فراوان سرکار خانم بهمنی، سرکار خانم صراحی، سرکار خانم فرحزادی و کارشناسان محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران-دکتر اکبری برای همکاری صمیمانه در اجرای این طرح تشکر و قدردانی می نمایند.

- Archives of gynecology and obstetrics. 2013; 287(2):375-81.
10. Mahjoub T, Mtiraoui N, Tamim H, Hizem S, Finan RR, Nsiri B, et al. Association between adverse pregnancy outcomes and maternal factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A genotypes in women with a history of recurrent idiopathic miscarriages. *American journal of hematology*. 2005;80(1):12-9.
 11. Finan RR, Tamim H, Ameen G, Sharida HE, Rashid M, Almawi WY. Prevalence of factor V G1691A (factor V-Leiden) and prothrombin G20210A gene mutations in a recurrent miscarriage population. *American journal of hematology*. 2002;71(4):300-5.
 12. Sottilotta G, Oriana V, Latella C, Luise F, Piromalli A, Ramirez F, et al. Genetic prothrombotic risk factors in women with unexplained pregnancy loss. *Thrombosis research*. 2006;117(6):681-4.
 13. Koster T. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994;369:64-7.
 14. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996;88(10):3698-703.
 15. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*. 1988;16(3):1215-6.
 16. Karimi M, Shahraki GRP, Yavarian M, Afrasiabi A, Dehbozorgian J, Bordbar M, et al. Frequency of Factor V Leiden and Prothrombin Polymorphism in South of Iran. *Iranian Journal of Medical Sciences*. 2009;34(2): 137-40.[Persian]
 17. Grandone E, Margaglione M, Colaizzo D, D'Andrea G, Cappucci G, Brancaccio V, et al. Genetic susceptibility to pregnancy-related venous thromboembolism: roles of factor V Leiden, prothrombin G20210A, and methylenetetrahydrofolate reductase C677T mutations. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1998;179(5):1324-8.
 18. Lambropoulos A, Foka Z, Makris M, Daly M, Kotsis A, Makris P. Factor V Leiden in Greek thrombophilia patients: relationship with activated protein C resistance test and levels of thrombin-antithrombin complex and prothrombin fragment 1+ 2. *Blood coagulation & fibrinolysis*. 1997; 8(8):485-90.
 19. Reznikoff-Etiévant M, Cayol V, Carbonne B, Robert A, Coulet F, Milliez J. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*. 2001; 108(12): 1251-4.
 20. Krause M, Sonntag B, Klamroth R, Heinecke A, Scholz C, Langer C, et al. Lipoprotein (a) and other prothrombotic risk factors in Caucasian women with unexplained recurrent miscarriage Results of a multicentre case-control study. *Thromb Haemost*. 2005;93(5):867-71.
 21. Bagheri M, Rad IA. A multiplex allele specific polymerase chain reaction (MAS-PCR) for the detection of Factor V Leiden and Prothrombin G20210A. *Maedica*. 2011;6(1):3-4.
 22. Kocher O, Cirovic C, Malynn E, Rowland CM, Bare LA, Young BA, et al. Obstetric Complications in Patients with Hereditary Thrombophilia Identified Using the LCx Microparticle Enzyme Immunoassay A Controlled Study of 5,000 Patients. *American journal of clinical pathology*. 2007;127(1):68-75.
 23. Dizon-Townson DS, Kinney S, Branch DW, Ward K. The factor V Leiden mutation is not a common cause of recurrent miscarriage. *Journal of reproductive immunology*. 1997;34(3):217-23.
 24. Pauer H-U, Neesen J, Hinney B. Factor V Leiden and its relevance in patients with recurrent abortions. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1998;178(3):629-30.
 25. Alfirevic Z, Mousa HA, Martlew V, Briscoe L, Perez-Casal M, Toh CH. Postnatal screening for thrombophilia in women with severe pregnancy complications. *Obstetrics & Gynecology*. 2001;97(5):753-9.
 26. Martinelli I, Taioli E, Cetin I, Marinoni A, Gerosa S, Villa MV, et al. Mutations in coagulation factors in women with unexplained late fetal loss. *New England Journal of Medicine*. 2000;343(14):1015-8.

27. Foka Z, Lambropoulos A, Saravelos H, Karas G, Karavida A, Agorastos T, et al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Human Reproduction*. 2000; 15(2): 458-62.
28. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *The Lancet*. 2003;361(9361):901-8.
29. Yenicesu GI, Cetin M, Ozdemir O, Cetin A, Ozen F, Yenicesu C, et al. A prospective case-control study analyzes 12 thrombophilic gene mutations in Turkish couples with recurrent pregnancy loss. *American Journal of Reproductive Immunology*. 2010;63(2):126-36.
30. Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. *Thromb Haemost*. 1999; 82(2): 634-40.