

بررسی ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) با وریدهای واریسی در جمعیت مازندران

معصومه فلاح پور: دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان، سمنان، ایران.

روح اله عبدالله پور: استادیار و متخصص ژنتیک و اصلاح نژاد دام، گروه علوم دامی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم شهر، ایران.

فرخنده نعمتی: استادیار و متخصص فیزیولوژی جانوری، گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم‌شهر، قائم شهر، ایران (نویسنده مسئول).
Farkhondehnemati@gmail.com

تاریخ پذیرش: ۹۷/۶/۱۷

تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR-Methylenetetrahydrofolate reductase) یکی از آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم فولات است. جهش ژنی C677T منجر به کاهش فعالیت آنزیم MTHFR می‌شود و خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی را افزایش می‌دهد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR در کنار برخی عوامل غیرژنتیکی و بیماری وریدهای واریسی بود. **روش کار:** در این مطالعه مورد-شاهدی، ۸۰ مبتلا به وریدهای واریسی و ۱۵۰ فرد غیرمبتلا مورد بررسی قرار گرفتند. پس از استخراج DNA از خون محیطی به روش استاندارد، تعیین ژنوتیپ آن‌ها به روش PCR-RFLP انجام شد. همچنین اطلاعات دموگرافیک مانند سابقه خانوادگی این بیماری، جنسیت، سن، اضافه وزن، مدت ساعات کار، وضعیت اجابت مزاج، ورزش، فشار خون، و استعمال سیگار هر فرد ثبت شد. با استفاده از روش رگرسیون لجستیک ارتباط ژنوتیپ و متغیرهای ثبت شده با بیماری وریدهای واریسی بررسی شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR در گروه بیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$). فراوانی آلل جهش‌یافته در دو گروه ۱۹٪ بود. ارتباط میان ژنوتیپ C677T با بروز وریدهای واریسی معنی‌دار نبود ($p > 0.05$), در حالی که ارتباط سابقه خانوادگی بیماری، اضافه وزن، مدت زمان ساعات کاری و وضعیت اجابت مزاج با بیماری رگ‌های واریسی مشهود بود ($p < 0.01$). ارتباطی میان عادت به انجام منظم ورزش، سن، فشار خون، جنسیت و استعمال سیگار با بیماری رگ‌های واریسی در جمعیت مورد مطالعه دیده نشد ($p > 0.05$). **نتیجه‌گیری:** در جمعیت مازندران پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR عامل تعیین‌کننده در بروز وریدهای واریسی نیست.

کلیدواژه‌ها: وریدهای واریسی، متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR)، پلی مورفیسم C677T

مقدمه

سیتوزین به تیمین در نوکلئوتید ۶۷۷ در آگزون شماره ۴ این ژن شایع‌ترین جهش در آن است (۵) که محلی را برای برش *HinfI* ایجاد می‌کند (۶) و در اثر آن اسیدآمینو والین به جای آلانین در جایگاه ۲۲۲ ساختمان آنزیم MTHFR جایگزین می‌شود که ناپایداری آن را در برابر دما (Thermolabile) بیشتر کرده و کارایی آن را حدوداً به نصف کاهش می‌دهد و موجب افزایش سطح هموسیستئین در افرادی می‌شود که دریافت فولات کمی دارند (۳). بروز عوارض عروقی در بیماران هموسیستینوری این فرضیه را به وجود آورد که افزایش اندک تا متوسط هموسیستئین پلاسما با تغییرات در دیواره عروق ارتباط دارد (۴). اثر جهش C677T در ژن MTHFR، بر بیماری شریانی روشن شده است. همچنین این جهش با

رگ‌های واریسی از نشانه‌های بیماری مزمن وریدی (Chronic Venous Disease) محسوب می‌شود و به صورت رگ‌های زیرپوستی بسیار اتساع یافته، پرپیچ‌وخم و دراز در اندام‌های تحتانی بروز می‌کند (۱). مشخص شده که رگ‌های واریسی توارث غیرجنسی غالب دارد، ولی مبنای دقیق ژنتیکی مرتبط با آن هنوز روشن نیست (۲). آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (reductase Methylenetetrahydrofolate-MTHFR) از مسیر متیله کردن، تبدیل هموسیستئین به متیونین را کاتالیز می‌کند (۳). در مسیر متیلاسیون، ناکارایی MTHFR مرسوم‌ترین ناهنجاری ژنتیکی است (۴). ژن MTHFR در موقعیت کروموزومی 1p36 قرار دارد و تبدیل

انجام فعالیت منظم ورزشی، سابقه ژنتیکی، فشار خون و وضعیت اجابت مزاج ثبت شد. به منظور تعیین ژنوتیپ ۵ سی سی خون وریدی از افراد در لوله های حاوی EDTA گرفته شد و پس از انتقال به آزمایشگاه در دمای ۴- درجه سانتی گراد نگهداری شد. DNA ژنومی از خون محیطی با استفاده از کیت استخراج DNA (DNP TM) سیناکلون) تخلیص و در حالت انجماد نگهداری شد.

برای تعیین ژنوتیپ افراد مورد مطالعه از روش واکنش زنجیره ای پلی مراز-چندشکلی طول قطعات برش یافته (- Polymerase Chain Reaction Restriction Fragment Length Polymorphisms-PCR-RFLP) استفاده شد. اجزای واکنش زنجیره ای پلی مراز در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل DNA ژنومی (۱ میکرولیتر)، پرایمرهای (۹) رفت (5'-AGGACGGTGC-3' و برگشت (5'-TGTCTGCGGGA-TGAAGGAGAAGG-3') (GTGAGAGTG-3' هر کدام ۱ میکرولیتر)، dNTP (۰/۵ میکرولیتر)، Taq DNA Polymerase (۰/۲ میکرولیتر)، MgCl₂ (۱/۵ میکرولیتر)، بافر (۲/۵ میکرولیتر، تکاپوزیست) و آب مقطر (۱۷/۳ میکرولیتر) بود. برای دستگاه ترموسایکلر (Analytik jena) برنامه حرارتی برای واسرشت سازی اولیه، ۹۵ سانتی گراد (۵ دقیقه)، سپس برای ۲۸ چرخه متوالی PCR شامل واسرشت سازی ۹۵ سانتی گراد (۴۵ ثانیه)، اتصال پرایمر ۶۷ سانتی گراد (یک دقیقه) و طولی سازی ۷۲ سانتی گراد (یک دقیقه) و در نهایت طولی سازی پایانی ۷۲ سانتی گراد (۵ دقیقه) اعمال شد. محصول PCR (۱۹۸ bps) با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۰.۳٪ و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید مورد بررسی قرار گرفت. هضم آنزیمی محصول PCR در محلولی با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۱۰ میکرولیتر محصول PCR، ۲ میکرولیتر بافر، ۷ میکرولیتر آب مقطر و ۱ میکرولیتر آنزیم *HinfI* در دمای ۳۷ سانتی گراد به مدت ۲۰ ساعت انجام شد. پس از انکوبه شدن در دمای ۶۵ سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه، محصولات هضم شده روی ژل آگارز ۰.۳٪ الکتروفورز

توسعه رگ های واریسی نیز در ارتباط است (۷). در یک مطالعه، وجود آلل جهش یافته در گروه بیماران رگ های واریسی در مقایسه با گروه شاهد شایع تر بود (۴). اگرچه سردلوا و همکاران (۴) ارتباط میان ژنوتیپ MTHFR و خطر رگ های واریسی در اندام های تحتانی را نشان دادند، ولی در مطالعه کاپیسز و همکاران (۸) این ارتباط دیده نشد. به نظر می رسد در منابع علمی، گزارشی از بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن MTHFR و بیماری وریدهای واریسی در جمعیت کشور وجود ندارد. هدف این پژوهش بررسی ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR در کنار اطلاعات دموگرافیک با بیماری وریدهای واریسی در جمعیت استان مازندران بود.

روش کار

در این مطالعه مورد-شاهدی، افرادی که در دوره زمانی آبان تا اسفند ۱۳۹۳ به بخش جراحی عروق کیلینیک فوق تخصصی مصطفویان و بخش جراحی عمومی بیمارستان امام خمینی شهرستان ساری مراجعه داشتند، برای تعریف نمونه ای از جمعیت بیماران وریدهای واریسی استان مازندران در نظر گرفته شدند. ورود بیماران به این مطالعه به شرط تایید بیماری وریدهای واریسی توسط پزشک متخصص و نداشتن بیماری های بدخیم فعال، مانند بیماری های التهابی سیستمیک، عفونت مجاری ادراری، بیماری مزمن انسدادی ریه، سابقه ترمبوز، هورمون تراپی و اعتیاد انجام شد. گروه مورد، ۸۰ بیمار وریدهای واریسی (۶۱ زن و ۱۹ مرد در دامنه سنی ۲۴ تا ۷۵ سال) را شامل شد. برای تشکیل گروه شاهد، افرادی به صورت تصادفی از میان مراجعه کنندگان به یک آزمایشگاه خصوصی در شهرستان قائم شهر مورد توجه قرار گرفتند که پس از معاینه بالینی، عدم ابتلای آن ها به بیماری وریدهای واریسی تایید شده بود. گروه شاهد شامل ۱۵۰ داوطلب سالم از نظر بیماری وریدهای واریسی (۹۰ زن و ۶۰ مرد با دامنه سنی ۱۹ تا ۷۸ سال) بود. از تمامی افراد اطلاعات مربوط به جنسیت، سن، وزن، مدت ساعات کار، استعمال سیگار، عادت به

بررسی فرضیات آزمون‌ها تعیین شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ارتباط میان پلی‌مورفیسم در جهش C677T ژن MTHFR و برخی عوامل غیرژنتیکی با بیماری وریدهای واریسی بررسی شد. جدول ۱ برخی آماره‌های توصیفی را از متغیرهای دموگرافیک افراد مورد مطالعه در دو گروه شاهد (سالم) و بیمار نشان می‌دهد.

جدول ۲ فراوانی ژنوتیپ‌ها را در گروه‌های سالم و بیمار و کل نشان می‌دهد. فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه‌های شاهد و مبتلا مشابه بوده (۳ و ۱ درصد) و فراوانی آلل جهش یافته نیز در دو گروه مساوی بود (۱۹٪). بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها و آزمون دقیق فیشر نشان داد که فراوانی‌های ژنوتیپی در گروه شاهد انحرافی از تعادل هاردی-وینبرگ نشان نداد ($p=0/5993$)، همچنین فرض وجود تعادل هاردی-وینبرگ در گروه مبتلا نیز رد نشد ($p=0/2815$).

در جدول ۳ سطح احتمال معنی‌داری عوامل مورد بررسی و نسبت احتمال وقوع (odds ratio) به همراه فاصله اطمینان ۹۵٪ مربوط به سطوح

شده و به واسطه رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید قابل مشاهده شدند. قطعات حاصل به طول ۱۹۸ جفت باز آلل C و ۱۷۶ جفت باز آلل جهش یافته T بودند.

پس از تعیین ژنوتیپ فراوانی‌های ژنوتیپی و آلی محاسبه شدند. برای بررسی فرضیه برقراری تعادل هاردی-وینبرگ در جمعیت‌های شاهد و مبتلا به دلیل آنکه تعداد ژنوتیپ‌های خالص جهش یافته در این گروه‌ها کمتر از ۵ بود، استفاده از آزمون دقیق فیشر (Fisher's exact test) به جای آزمون کای مربع پیروسون مناسب‌تر است (۱۰). این آزمون با استفاده از بسته genetics در نرم‌افزار آماری R (۱۱) انجام شد. همچنین برای بررسی ارتباط ژنوتیپ و بیماری رگ‌های واریسی از روش رگرسیون لجستیک استفاده شد. در مدل آماری تعریف شده، ژنوتیپ در کنار متغیرهای سابقه ژنتیکی، جنسیت، سن، اضافه وزن، مدت ساعات کار، وضعیت اجابت مزاج، ورزش، فشار خون و استعمال سیگار به عنوان متغیر مستقل و بیماری رگ‌های واریسی به عنوان متغیر وابسته بودند. تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار R صورت گرفت که در آن‌ها سطح احتمال ۰/۰۵ برای

جدول ۱- تعداد مشاهدات (یا میانگین \pm انحراف معیار) سطوح متغیرهای دموگرافیک در دو گروه شاهد

گروه		سطح	متغیر
بیمار (۸۰ تن)	شاهد (۱۵۰ تن)		
۶۱	۹۰	زن	جنسیت
۱۹	۶۰	مرد	
۱۱	۲۶	آری	استعمال سیگار
۶۹	۱۲۴	خیر	
۵۷	۱۶	دارد	سابقه ژنتیکی
۲۳	۱۳۴	ندارد	
۳۲	۱۲۸	ندارد	اضافه وزن
۳۱	۱۶	کمتر از ۱۰ کیلو	
۱۷	۶	بیشتر از ۱۰ کیلو	
۷۱	۱۳۹	طبیعی	فشار خون
۹	۱۱	بالا	
۱۹	۷۲	آری	ورزش
۶۱	۷۸	خیر	
۵۸	۱۴۱	طبیعی	اجابت مزاج
۲۲	۹	یبوست	
$45/7 \pm 11/8$	$40/8 \pm 12/8$	میانگین \pm انحراف معیار	سن (سال)
$13/5 \pm 3/8$	$9/41 \pm 2/8$	میانگین \pm انحراف معیار	کار روزانه (ساعت)

جدول ۲- توزیع ژنوتیپی و آلی در پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR در جمعیت مورد مطالعه

گروه فنوتیپی			ژنوتیپ/ آلی
کل	بیمار	سالم	ژنوتیپ
۱۴۸ (۶۴٪)	۵۱ (۶۴٪)	۹۷ (۶۵٪)	CC
۷۷ (۳۳٪)	۳۸ (۳۵٪)	۴۹ (۳۳٪)	CT
۵ (۲٪)	۱ (۱٪)	۴ (۳٪)	TT
۳۷۳ (۸۱٪)	۱۳۰ (۸۱٪)	۲۴۳ (۸۱٪)	C
۸۷ (۱۹٪)	۳۰ (۱۹٪)	۵۷ (۱۹٪)	T

جدول ۳- سطح معنی داری، نسبت احتمال (OR) با حدود اطمینان ۹۵٪ برای عوامل مورد بررسی در ابتلا به وریدهای واریسی

عوامل مورد بررسی	سطح معنی داری	سطح‌های مورد مقایسه	نسبت احتمال	حدود اطمینان ۹۵٪
ژنوتیپ	۰/۹۲۴	CT مقابل CC	۱/۱۳	۰/۳۹ - ۳/۲۳
اضافه وزن	۰/۰۰۰۱	کمتر از ۱۰ کیلوگرم اضافه وزن مقابل وزن طبیعی بیشتر از ۱۰ کیلوگرم اضافه وزن مقابل وزن طبیعی	۱۶/۵	۰/۰۰۱ - ۱۷۵/۸
سابقه ژنتیکی	۰/۰۰۰۱	مثبت مقابل منفی	۶۷/۸۸	۰/۹۲ - ۲۵۷/۲
ساعت کاری	۰/۰۰۰۱	مشاهدات کمی در دامنه ۴ تا ۱۸ ساعت	۱/۵۲	۱/۲۷ - ۱/۸۲
اجابت مزاج	۰/۰۰۴	یبوست مقابل طبیعی	۸/۵۷	۲ - ۳۶/۷۱
عادت به انجام ورزش	۰/۰۸۷	انجام نمی‌دهد مقابل انجام می‌دهد	۲/۷۳	۰/۸۶ - ۸/۶
سن	۰/۲۸۴	مشاهدات کمی در دامنه ۱۹ تا ۷۸ سال	۱/۰۲	۰/۹۸ - ۱/۰۶
فشار خون	۰/۳۰۶	بالا مقابل طبیعی	۲/۶۳	۰/۴۱ - ۱۶/۶۷
جنسیت	۰/۳۲۵	مرد مقابل زن	۱/۷۹	۰/۵۶ - ۵/۷۴
استعمال سیگار	۰/۶۵۹	غیرسیگاری مقابل سیگاری	۱/۳۳	۰/۳۷ - ۴/۷۸

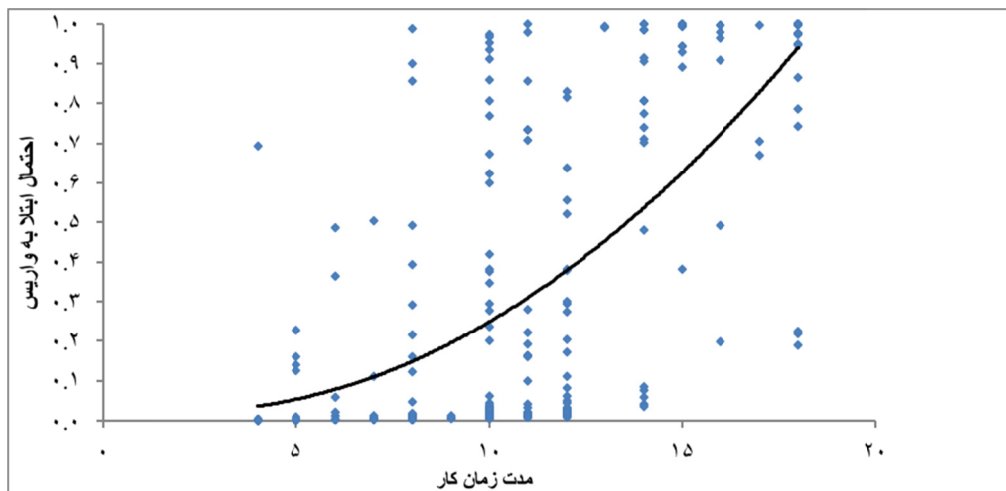
رگ‌های واریسی در جمعیت مورد بررسی را با افزایش مدت زمان ساعات کار افراد نشان می‌دهد. افراد مبتلا به یبوست نیز بیشتر در معرض خطر رگ‌های واریسی بودند. با این حال ارتباطی میان ورزش منظم، سن، فشار خون، جنسیت و استعمال سیگار با بیماری رگ‌های واریسی در جمعیت مورد مطالعه دیده نشد ($p > 0.05$).

بحث و نتیجه‌گیری

این مطالعه برای نخستین بار به بررسی ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR و برخی از اطلاعات دموگرافیک با بیماری وریدهای واریسی در ایران پرداخته است. این مطالعه نشان داد اسنپ C677T ژن MTHFR در جمعیت مازندران در تعادل هاردی-وینبرگ قرار داشت و فراوانی آلل جهش‌یافته (T) در آن برابر ۱۹٪ بود. همچنین ارتباطی میان پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR و بیماری وریدهای واریسی در این

عوامل مورد بررسی به دست آمده از تجزیه رگرسیون لجستیک بیماری رگ‌های واریسی آمده است.

نتایج نشان داد که جهش ژنتیکی C677T در ژن MTHFR ارتباط معنی داری با بیماری رگ‌های واریسی در جمعیت مورد مطالعه نداشت ($p > 0.05$)، در حالی که سابقه بیماری در خانواده ارتباط زیادی با این بیماری داشت ($p < 0.0001$)، به طوری که افراد با سابقه خانوادگی مثبت بیشتر در معرض ابتلا بودند. همچنین عوامل غیرژنتیکی مورد بررسی شامل اضافه وزن، ساعات کاری و وضعیت اجابت مزاج با بیماری رگ‌های واریسی مرتبط بودند ($p < 0.01$). نسبت‌های احتمال نشان داد که خطر ابتلا به رگ‌های واریسی در افراد سنگین‌تر در مقایسه با افراد با وزن طبیعی بیشتر است و هر چه افزایش وزن بیشتر باشد خطر ابتلا بالاتر خواهد بود. تصویر ۱ تغییرات احتمال ابتلا به بیماری



تصویر ۱- نمودار تغییرات احتمال ابتلا به بیماری رگ‌های واریسی با تغییرات مدت زمان ساعات کار در جمعیت استان مازندران

ارتباط پلی مورفیسم‌های C677T و A1298C ژن MTHFR با رگ‌های واریسی پرداختند و ارتباطی بین آن‌ها ندیدند.

میزان وقوع بیماری وریدهای واریسی با توزیع جهانی چندشکلی C677T ژن MTHFR مطابقت دارد به طوری که هر دو در جمعیت‌های آسیایی و سیاهان پایین، در ساکنان اروپای مرکزی متوسط و در ایتالیایی‌های جنوبی و اسپانیایی‌ها بالاست (۱۲). این واقعیت نشان از آن دارد که وریدهای واریسی با ژنتیک مرتبط بوده و جمعیت نژادهای مختلف را بر اساس پروفایل متنوع ژنتیکی آن‌ها به شیوه متفاوتی تحت تاثیر قرار می‌دهد (۱۳). متفاوت بودن برخی نتایج این مطالعه با برخی گزارش‌ها را می‌توان به دلایلی مانند تفاوت‌های قومی و نژادی، عادات تغذیه‌ای، سبک زندگی، تفاوت در حجم نمونه، معیارهای انتخاب بیماران و همچنین تأثیر سایر ژن‌ها نسبت داد. ژن‌هایی مانند دسموسلین، FOXC2 و ترومبومودولین نیز در کنار C677T به عنوان ژن‌های کاندیدای موثر در بروز رگ‌های واریسی شمرده شده‌اند (۱ و ۷).

برای توجیه چگونگی تاثیرگذاری جهش C677T ژن MTHFR در بروز رگ‌های واریسی گمانه‌هایی ارائه شده است. از آنجا که MTHFR آنزیمی مهم برای متابولیسم هموسیستئین است، تغییر در فعالیت آنزیم می‌تواند منجر به افزایش هموسیستئین، تشکیل رادیکال‌های آزاد و آسیب اندوتلیالی شود که به طور بالقوه می‌تواند منجر به

جمعیت ثابت نشد، اما ارتباط متغیرهای اضافه وزن، سابقه ژنتیکی، بیماری، میزان ساعات کاری و وضعیت اجابت مزاج افراد با بیماری وریدهای واریسی مشهود بود، در حالی که ارتباط معنی‌دار عادت به ورزش منظم، سن، فشار خون، جنسیت و استعمال سیگار با این بیماری ثابت نشد.

فراوانی آلی و ژنوتیپ خالص آلل جهش یافته C677T ژن MTHFR در جمعیت مورد بررسی پایین‌تر از گزارش‌های موجود بود. ویلکن و همکاران (۱۲) فراوانی آلل جهش یافته را در جمعیت‌های نژادی مختلف در دامنه ۲۱ تا ۵۷ درصد و فراوانی ژنوتیپ خالص آن را در دامنه صفر تا ۳۲/۲ درصد گزارش کردند. برقراری تعادل هاردی-وینبرگ در هر دو جمعیت بیمار و شاهد این پژوهش با گزارش‌های سردلووا و همکاران (۴) و ویلکن و همکاران (۱۲) همخوانی دارد. نتیجه این پژوهش مبنی بر عدم ارتباط بین ژنوتیپ C677T ژن MTHFR و بیماری وریدهای واریسی با گزارش کاپیسیز و همکاران (۸) در جمعیتی از ترکیه همخوانی دارد ولی با نتایج تحقیق سردلووا و همکاران (۴) روی جمعیتی در روسیه و رافتو (۱۳) در جمعیتی از ایالات متحده و ویلمنز و همکاران (۲) روی جمعیتی در آلمان مطابقت ندارد. سردلووا و همکاران (۴) نشان دادند فراوانی آلی C677T در میان افراد با رگ‌های واریسی، بالاتر از افراد گروه کنترل بود. کاپیسیز و همکاران (۸) در کنار عوامل محیطی تاثیرگذار به بررسی

در این پژوهش ارتباط بین عادت به انجام منظم ورزش و رگ‌های واریسی در سطح ۰/۰۵ مشهود نبود. در مطالعه کلوانیزاکی و همکاران (۲۲) بر روی بیماران جراحی شده برای بیماری واریس، پیاده‌روی متوسط تا زیاد عامل تقویت عملکرد دیواره داخلی عروق کوچک بیماران معرفی شد و بیان شد که هیچ مدرک قانع‌کننده‌ای مبنی بر افزایش ابتلا به واریس با ورزش طولانی مدت وجود ندارد. تومی و همکاران (۲۳) نیز نشان دادند ۶۲/۸٪ افراد مبتلا به واریس پا به طور منظم ورزش نمی‌کردند، احتمالاً عدم ورزش منظم و کاهش تخلیه وریدی می‌تواند موجب تجمع خون در اندام تحتانی شود و در نتیجه رسوب موادی از خون به پوست، موجب تغییراتی در تمامیت بافت و رنگ پوست خواهد شد (۱۴). عدم وجود ارتباط میان بیماری وریدهای واریسی و استعمال سیگار و فشارخون بالا با گزارش کاپیسز و همکاران (۸) همخوانی داشت در حالی که براند و همکاران (۲۴) ارتباط معنی‌داری بین بیماری وریدهای واریسی و استعمال سیگار و فشارخون سیستولی بالا گزارش کردند. نتایج متفاوت در تاثیر متغیرهای مورد مطالعه بر بیماری وریدهای واریسی، احتمالاً به تفاوت جمعیت‌ها از نظر ساختار ژنتیکی، تغذیه، سبک زندگی و شرایط دیگر برمی‌گردد.

نتایج پژوهش حاضر حاکی از آن است که جهش C677T ژن MTHFR عامل تعیین‌کننده‌ای در بروز بیماری وریدهای واریسی در جمعیت استان مازندران نیست و نمی‌توان در این جمعیت، آن را به عنوان یک نشانگر ژنتیکی برای این بیماری در خانواده‌ها معرفی کرد. با این حال شرایطی مانند سابقه مثبت خانوادگی، اضافه وزن، مدت زمان زیاد ساعات کار و یبوست به عنوان عوامل افزایش دهنده خطر ابتلا به این بیماری قابل توجه هستند. در انجام این پژوهش به دلیل محدودیت‌های مالی، ارتباط بیماری وریدهای واریسی با یک اسنپ مورد مطالعه قرار گرفت. توصیه می‌شود مطالعات دیگری برای بررسی ارتباط بیماری رگ‌های واریسی با سایر واریانت‌های ژنتیکی و متغیرهای دموگرافیک در جمعیت کشور انجام شود، چرا که شناسایی دقیق‌تر عوامل موثر در بروز رگ‌های

تنش اکسیداتیو و نقص عملکرد اندوتلیوم شود (۱۳). کاهش فعالیت آنزیم MTHFR، موجب کاهش متیلاسیون DNA می‌شود (۱۴) که ممکن است منجر به بروز نابجای پروتئین‌های ماتریس، ساختار و کاهش کیفیت DNA و در نتیجه پیری زودرس بافت‌های وریدی شود. وریدهای واریسی اولیه از بازسازی نامتقارن ماتریکس خارج سلولی و سلول‌های عضلات صاف ناشی می‌شوند که موجب ضخامت جدار و نارسایی در پیچه می‌شوند (۱۵). با وجود شواهد موجود در رابطه با نقص اولیه در دیواره رگ، پاتوژنز اتساع عروق مبهم باقی مانده است (۱۶).

در این تحقیق، وضعیت سابقه خانوادگی افراد برای واریس از طریق خوداظهاری آن‌ها ثبت شد و اعتبار آن با معاینه فیزیکی سنجیده نشد. ارتباط معنی‌دار میان سابقه ژنتیکی و ابتلا به واریس در این مطالعه، با نتایج محققین دیگر همخوانی دارد (۱ و ۱۷). ارتباط اضافه وزن با بیماری واریس در این تحقیق نیز با گزارش لی و همکاران (۱۷) همخوانی دارد. به نظر می‌رسد افزایش وزن، موجب کاهش فشار روی وریدها و ضعف عضلانی و در نتیجه کاهش تخلیه خون وریدی می‌شود که می‌تواند عاملی برای ایجاد واریس باشد. احتمالاً زنان چاق و دارای اضافه وزن، بیشتر دچار واریس می‌شوند در صورتی که هیچ ارتباطی بین افزایش شاخص توده بدنی و ایجاد واریس در مردان وجود ندارد (۱۸). مدت ساعات کاری نیز با احتمال بروز وریدهای واریسی رابطه مستقیم داشت و افراد با ساعات کاری زیاد، بیشتر در معرض ابتلا به بیماری رگ‌های واریسی بودند که با نتایج مطالعه نصیری و همکاران همخوانی دارد (۱۹). در این مطالعه نیز مانند برخی گزارش‌های دیگر (۱۷، ۲۰ و ۲۱) ارتباط معنی‌داری بین یبوست و ابتلا به واریس مشهود بود. کاهش حرکات روده‌ای و احتمالاً رژیم غذایی کم‌فیبر از علل تأثیرگذار بر بروز یبوست هستند. یبوست می‌تواند منتهی به افزایش فشار بر وریدهای ایلیاک و انسداد وریدهای برگشتی شده و منجر به افزایش فشار بر این وریدها و بالا رفتن فشار در وریدهای داخل شکمی و در نهایت واریسی شدن وریدهای پا شود (۲۱).

8. Selçuk Kapisız N, Uzun Kulaoglu T, Fen T, Kapisız HF. Potential risk factors for varicose veins with superficial venous reflux. *Int Vasc Med*; 2014. 2014:1-7.

9. Ozmen FM, Ozmen M, Ozalp N, Akar N. The prevalence of factor V (G1691A), MTHFR (C677T) and PT (G20210A) gene mutations in arterial thrombosis. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg*; 2009. 15(2):113-9.

10. Balding DJ. A tutorial on statistical methods for population association studies. *Nature Rev Gen*; 2006. 7(10):781-91.

11. Core R, Team R. A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2018. URL <http://www.R-project.org/>.

12. Wilcken B, Bamforth F, Li Z, Zhu H, Ritvanen A, Redlund M, et al. Geographical and ethnic variation of the 677C>T allele of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): findings from over 7000 newborns from 16 areas world wide. *J Med Genet*; 2003. 40(8):619-25.

13. Raffetto JD. Superficial thrombophlebitis in varicose vein disease: the particular role of methylenetetrahydrofolate reductase. *Phlebology*; 2011. 26(4):133-4.

14. Castro R, Rivera I, Ravasco P, Camilo ME, Jakobs C, Blom HJ, et al. 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) 677C→T and 1298A→C mutations are associated with DNA hypomethylation. *J Med Genet*; 2004. 41:454-8.

15. Lim CS, Davies AH. Pathogenesis of primary varicose veins. *Br J Surg*; 2009. 96:1231-42.

16. Zöller B, Ji J, Sundquist J, Sundquist K. Family history and risk of hospital treatment for varicose veins in Sweden. *Br J Surg*; 2012. 99(7):948-53.

17. Lee AJ, Evans CJ, Allan PL, Ruckley CV, Fowkes FG. Lifestyle factors and the risk of varicose veins: Edinburgh Vein Study. *J Clin Epidemiol*; 2003. 56(2):171-9.

18. Kontosic I, Vukelic M, Drescic I, Mesaros-Kanjnski E, Materljan E, Jonjic A. Work conditions as risk factors for varicose veins of the lower extremities in certain professions of the working population of Rijeka. *Acta Medica Okayama*; 2000.; 54(1):33-8.

19. Nasiri-Foourg A, Kazemi T, Nakhai N, Kazemi N. Lower limb varicose veins and their relationship with risk factors in nurses of the Birjand University of Medical Sciences Hospital. *J Birjand Univ Med Sci*; 2005. 12(1-2):60-70.

20. Fowkes FG, Lee AJ, Evans CJ, Allan PL, Bradbury AW, Ruckley CV. Lifestyle risk factors for lower limb venous reflux in the general population: Edinburgh Vein Study. *Int J Epidemiol*; 2001. 30(4):846-52.

واریزی، زمینه را برای پیشگیری، درمان یا کاهش شدت آن فراهم خواهد کرد.

تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد خانم معصومه فلاح پور در گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد قائم شهر با عنوان بررسی ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR) با وریدهای واریسی می باشد که آزمایش های آن در آزمایشگاه ژنتیک این دانشگاه انجام گرفت. از همکاری دکتر داوودی فوق تخصص جراحی عروق و ریاست بیمارستان امام خمینی و خانم روحانی که از انجام این پژوهش حمایت کردند قدردانی می شود.

منابع

1. Anwar MA, Georgiadis KA, Shalhoub J, Lim CS, Gohel MS, et al. A review of familial, genetic, and congenital aspects of primary varicose vein disease. *Circ Cardiovasc Genet*; 2012. 5(4):460-6.

2. Wilmanns C, Cooper A, Wockner L, Katsandris S, Glaser N, Meyer A, et al. Morphology and progression in primary varicose vein disorder due to 677C> T and 1298A> C variants of MTHFR. *E Bio Med*; 2015. 2(2):158-64.

3. Bauduer F, Lacombe D. Factor V Leiden, prothrombin 20210A, methylenetetrahydrofolate reductase 677T, and population genetics. *Mol Genet Metab*; 2005. 86(1):91-9.

4. Sverdlova AM, Bubnova NA, Baranovskaya SS, Vasina VI, Avitisjan AO, Schwartz EI. Prevalence of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation in patients with varicose veins of lower limbs. *Mol Genet Metab*; 1998. 63:35-6.

5. Mtiraoui N, Zammiti W, Ghazouani L. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphism and changes in homocysteine concentrations in women with idiopathic recurrent pregnancy losses. *Reproduction*; 2006. 131(2):395-401.

6. Frosst P, Blom HJ, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews RG, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nature Gen*; 1995. 10:111-13.

7. Krysa J, Jones GT, Van Rij AM. Evidence for a genetic role in varicose veins and chronic venous insufficiency. *Phlebology*; 2012. 2(7):329-35.

21. Lee AJ, Evans CJ, Hau CM, Fowkes FG. Fiber intake, constipation, and risk of varicose veins in the general population: Edinburgh Vein Study. *J Clin Epidemiol*; 2001. 54(4):423-9.

22. Klonizakis M, Tew G, Michaels J, Saxton J. Exercise training improves cutaneous microvascular endothelial function in post-surgical varicose vein patients. *Microvasc Res*; 2009. 78(1):67-70.

23. Tomei F, Baccolo TP, Tomao E, Palmi S, Rosati MV. Chronic venous disorders and occupation. *Am J Ind Med*; 1999. 36(6):653-65.

Brand F, Dannenberg AL, Abbott RD, Kannel WB. The epidemiology of varicose veins: the Framingham Study. *Am J Prev Med*; 1988. 4(2):96-101.

Archive of SID

Association of C677T polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) with varicose veins in Mazandaran population

Masoumeh Fallahpour, MSc student of Biology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Semnan, Iran.

Rohullah Abdollahpour, Assistant Professor in Animal Genetics and Breeding, Department of Animal Science, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Mazandaran, Iran.

***Farkhondeh Nemati**, Assistant Professor in Animal Physiology, Department of Biology, Islamic Azad University, Qaemshahr Branch, Mazandaran, Iran (*Corresponding author). farkhondehnemati@gmail.com

Abstract

Background: Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) is one of the key enzymes in the metabolism of folate, and the mutation of C677T leads to reduction of MTHFR enzyme activity and increases the risk of cardiovascular diseases. The aim of this study was to investigate the association between C677T polymorphism in MTHFR gene and some non-genetic factors and varicose veins.

Methods: In this case-control study, 80 patients with varicose veins and 150 healthy subjects were studied. After extraction of DNA from peripheral blood, genotyping was performed by PCR-RFLP. Demographic data such as family history, sex, age, weight, work duration, defecation status, exercise, blood pressure, cigarette smoking were also recorded. Logistic regression method was used to investigate the association between varicose veins disease and C677T genotypes and other recorded variables.

Results: Genotype frequencies of C677T in MTHFR gene in patients and control groups was not significantly different ($p>0.05$). The frequency of mutant allele in two groups was equal to 19%. The association between C577T genotype and varicose veins was not significant ($p>0.05$), however family history, weight, work duration and constipation was related to varicose veins ($p<0.05$). There was no association between varicose veins and exercise, age, blood pressure, sex and cigarette smoking ($p>0.05$).

Conclusion: The polymorphism of C677T in MTHFR gene was not a determinant factor of the varicose veins disease in Mazandaran population.

Keywords: Varicose veins, Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR), C677T polymorphism