

## ارتباط بین پلی مورفیسم ژن کاتالاز (CAT-262C/T)

### با بیماری پره اکلامپسی در جنوب ایران

مرضیه علیپور<sup>۱</sup>، سیروس نعیمی<sup>۱\*</sup>، محمد مهدی مغنی باشی<sup>۱</sup>، خلیل خاشعی ورنامخواستی<sup>۱</sup>، زینب محمودیان<sup>۱</sup>

(۱) گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۵

#### چکیده

**مقدمه:** تاکنون علت پره اکلامپسی مشخص نشده است به همین دلیل، درصد بالایی از بستری شدن مادران را به خود اختصاص می دهد. ظاهراً پلی مورفیسم های ژن های رمزکننده آنزیم های سیستم آنتی اکسیدانی در پاتوفیزیولوژی این اختلال موثر باشند. هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم CAT-262C/T ژن رمزکننده آنتی اکسیدان آنزیماتیک کاتالاز با بیماری پره اکلامپسی می باشد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه مورد-شاهدی که در سال ۱۳۹۶ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون انجام شد، ۱۵۰ زن مبتلا به بیماری پره اکلامپسی به عنوان مورد و ۱۵۰ زن سالم باردار فاقد هر گونه بیماری به عنوان شاهد انتخاب شدند. پس از نمونه گیری و استخراج DNA، پلی مورفیسم اشاره شده با روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و آزمون های آماری Chi-square و  $Yates\ corrected\ X^2$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

**یافته های پژوهش:** نتایج حاصل از این تحقیق حاکی از وجود اختلاف معنی دار در فراوانی ژنوتیپ های CT، CC و TT ( $P_{CAT}=0.032$ ) و فراوانی هر دو آلل C و T ( $P_{CAT}=0.042$ ) در موقعیت پلی مورفیسم CAT-262C/T ژن رمزکننده آنزیم کاتالاز بین زنان باردار مبتلا به پره اکلامپسی و زنان باردار سالم می باشد. به جز پارامتر چند قلوئی ( $P_{CAT}=0.007$ ) در مورد سایر فاکتورهای دیگر مورد سنجش نظیر شدت پره اکلامپسی ( $P_{CAT}=0.272$ )، میزان دفع پروتئین در ادرار ( $P_{CAT}=0.130$ )، ورم بیضمار ( $P_{CAT}=0.739$ )، سن شروع ( $P_{CAT}=0.412$ )، نخست زایی ( $P_{CAT}=0.322$ )، چندزایی ( $P_{CAT}=0.074$ )، سابقه ابتلا قبلی ( $P_{CAT}=0.630$ )، سابقه سقط ( $P_{CAT}=0.287$ )، دیابت ( $P_{CAT}=0.75$ ) و کم کاری تیروئید ( $P_{CAT}=0.941$ ) اختلاف معنی داری بین گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد.

**بحث و نتیجه گیری:** با توجه به نتایج این مطالعه، پلی مورفیسم CAT-262C/T را می توان به عنوان فاکتور خطر مستعدکننده افراد به پره اکلامپسی در جنوب ایران در نظر گرفت.

واژه های کلیدی: کاتالاز، پره اکلامپسی، پلی مورفیسم، CAT-262 C/T

\* نویسنده مسئول: گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

Email: Naeimis@kau.ac.ir

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

پره اکلامپسی، اختلال چند سیستمی مخصوص دوران بارداری و جدی ترین مورد مخاطره آمیز بارداری های پرخطر، تهدیدکننده سلامت زنان در سطح جهان به خصوص در کشورهای در حال توسعه می باشد (۱،۲). پره اکلامپسی باعث صدمه به ارگان های حیاتی بدن مثل مغز، کبد و کلیه می شود و شامل انعقاد داخل عروقی، خون ریزی داخل مغزی، نارسایی کلیه و ادم ریوی است (۳). هم چنین پره اکلامپسی با میزان شیوع ۱۴-۷ درصد، یکی از سه علت اصلی مرگ زنان باردار می باشد (۱،۲،۴). در ایران نیز پره اکلامپسی با اختصاص دادن ۱۴ درصد از موارد مرگ و میر مادران به خود، دومین علت شایع مرگ زنان باردار است (۵). پره اکلامپسی نیز عوارض جنینی متعددی از جمله؛ محدودیت رشد داخل رحمی، مرگ جنین در داخل رحم و زایمان زودتر از موعد را ایجاد می کند (۶،۷). علی رغم تحقیقات گسترده صورت گرفته بر روی عوامل ایجادکننده این بیماری پیچیده، هنوز دانش کافی درباره علت آن وجود ندارد که بتواند زیر بنای طراحی و انجام مداخلات هدفمند جهت پیشگیری موثر در برابر این اختلال باشد، لذا شناسایی عوامل خطر بیماری قبل از بروز تظاهرات بالینی و یا قبل از تبدیل موارد خفیف به شدید برای شناسایی بیمارانی که نیاز به مراقبت و توجه ویژه دارند، حائز اهمیت است (۱،۶). برخی مطالعات به نقش استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی پره اکلامپسی اشاره دارند (۸)، چرا که، تغییرات بیوشیمیایی رخ داده در بدن زن باردار در نتیجه افزایش میزان متابولیک جفت، وی را در معرض استرس اکسیداتیو قرار می دهند. این تغییرات با افزایش تقاضای انرژی، به ترتیب منجر به جذب بیشتر اکسیژن، افزایش گونه های فعال اکسیژن و مختل شدن تعادل بین تولید رادیکال های آزاد و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی شده و باعث ایجاد استرس اکسیداتیو در فرد می شوند (۹). سیستم دفاع آنتی اکسیدانی در سیستم های بیولوژیک هوازی به منظور مقابله با رادیکال های آزاد و گونه های فعال اکسیژن طراحی شده است تا اثرات زیانبار این عوامل مهاجم را خنثی نموده، یا به حداقل برساند (۱۰). برخی از اجزای این سیستم دفاعی نظیر آنزیم کاتالاز، با مکانیسم تبدیل گونه های

فعال اکسیژن به  $H_2O$ ، از افزایش تولید آن ها جلوگیری می کنند (۱۱). این در حالی است که برخی پژوهش ها حضور بعضی از پلی مورفیسم ها در ژن رمزکننده آنزیم کاتالاز را با فعالیت تغییر یافته آنزیم مرتبط دانسته اند (۱۲). به عنوان مثال بررسی ارتباط بین فنوتیپ و ژنوتیپ آنزیم کاتالاز، در سال ۲۰۰۶، تایید کرد که حضور انواعی از پلی مورفیسم ها می توانند عامل کاهش عملکرد آنزیم کاتالاز باشند (۱۳). بررسی دیگری در سال ۲۰۱۲، بیان داشت که ارتباط احتمالی بین حضور پلی مورفیسم در ژن رمزکننده آنزیم کاتالاز و بروز سرطان پروستات وجود دارد (۱۴). هم چنین در تحقیقی که اخیراً در سال ۲۰۱۸ انجام شده است، حضور پلی مورفیسم CAT-21A/T به عنوان فاکتور مستعدکننده فرد به پره اکلامپسی معرفی شده است (۱۵). پلی مورفیسم CAT-262 C/T (rs1001179) یکی از پلی مورفیسم های رایج ژن کاتالاز می باشد که با اتصال به ناحیه پروموتری این ژن از اتصال فاکتورهای رونویسی به آن جلوگیری کرده و با تحت تاثیر قرار دادن بیان این آنزیم، عملکرد آن را دچار اختلال می کند (۱۲). در مطالعه حاضر نیز CAT-262 C/T به عنوان پلی مورفیسم شاخص ژن رمزکننده آنزیم کاتالاز انتخاب شد و ارتباط آن با بیماری پره اکلامپسی در دو گروه بیمار و کنترل مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

## مواد و روش ها

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۱۵۰ زن باردار مبتلا به پره اکلامپسی به عنوان گروه مورد و ۱۵۰ زن باردار سالم به عنوان گروه کنترل انجام گرفت. تمامی زنان باردار مراجعه کننده به بیمارستان ولی عصر (عج) کازرون از فروردین ۹۶ لغایت شهریور ۹۶ که دارای شاخص های پره اکلامپسی (فشارخون سیستولی  $\leq 140$  میلی متر جیوه یا فشارخون دیاستولی  $\leq 90$  میلی متر جیوه با دو بار تکرار و حداقل ۶ ساعت فاصله زمانی و هم چنین پروتئینوری  $\leq 0.3$  گرم در ادرار ۲۴ ساعته با  $\leq 1+$  در تست نواری ادرار) بودند با محدوده سنی ۱۶-۴۸ سال و میانگین سنی  $(27/23 \pm 4/86)$  که به لحاظ سن بارداری بیمار و زنان باردار سالم با محدوده سنی ۱۶-۳۸ سال و میانگین سنی  $(27/23 \pm 4/86)$  که به لحاظ سن بارداری مشابه گروه بیمار بودند، وارد گروه کنترل گردیدند. زنان

گردید. پس از جمع آوری کلیه نمونه ها، DNA به روش Salting out توسط کیت شرکت GeNet (Bio, Korea) استخراج گردید. جهت تعیین پلی مورفیسم از روش PCR-RFLP استفاده شد و واکنش PCR در حضور پرایمرهای زیر انجام گرفت.

نخست زاء، چندزاء، زنان دارای بارداری چندقلویی، دارای سابقه ابتلاء قبلی به پره اکلامپسی، دارای سابقه سقط و دارای بیماری هایی نظیر دیابت و کم کاری تیروئید نیز در مطالعه جای داده شدند. پس از اخذ رضایت نامه از افراد مورد مطالعه و پر کردن پرسش نامه، ۵ میلی لیتر خون محیطی در لوله های حاوی EDTA جمع آوری

جدول شماره ۱. مشخصات پرایمرهای مورد مطالعه

ژن ها	نام آغازگر	توالی آغازگر 5'-3'
CAT-262 C/T	Forward	5'- AGA GCC TCG CCC CGC CGG ACC G -3'
	Reverse	5'- TAA GAG CTG AGA AAG CAT AGC T -3'

۴/۱ میکرولیتر H<sub>2</sub>O (آب مقطر استریل) و ۱ میکرولیتر DNA ژنومیک آماده گردید و تحت برنامه دمایی-زمانی زیر قرار گرفت:

مخلوط واکنش PCR در حجم نهایی ۱۹ میکرولیتر شامل؛ ۰/۷ میکرولیتر (۰/۳۹ پیکومول) از هر پرایمر، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس 2x PCR Master Mix (Ampliqon, Odense, Denmark) Red. Mg cl2

جدول شماره ۲. برنامه دمایی-زمانی PCR جهت تکثیر قطعه CAT-262C/T

1	First denaturation	940c	5 Min
۱۵سیکل			
2	Denaturation	940c	30 sec
3	Anneling	68. 10c	45 sec
4	Extension	720c	1Min
۱۵سیکل			
5	Denaturation	940c	30 sec
6	Anneling	60. 10c	45 sec
7	Final Extention	720c	1Min

روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز و از طریق رنگ آمیزی (CinaGen, Iran) Safe Stain، باندهای ظاهر شده مشاهده گردیدند (شکل شماره ۲). محصولات مربوط به هر ژنوتیپ به صورت باندهایی با اندازه های ذکر شده در جدول زیر بر روی ژل نمایان شدند:

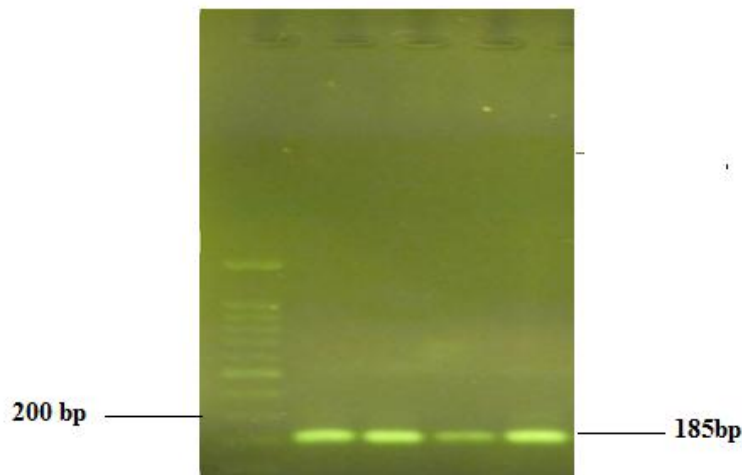
سپس محصول PCR، ۱۸۵ جفت باازی پلی مورفیسم CAT-262C/T توسط آنزیم محدودالانر Sma<sub>1</sub> (Fermentas, USA) (ظرف مدت ۱۶ ساعت تحت دمای ۳۰ درجه سانتی گراد) مورد هضم قرار گرفت (شکل شماره ۱). در ادامه قطعات برش یافته بر

جدول شماره ۳. قطعات حاصل از تاثیر آنزیم Sma<sub>1</sub> بر روی محصولات PCR

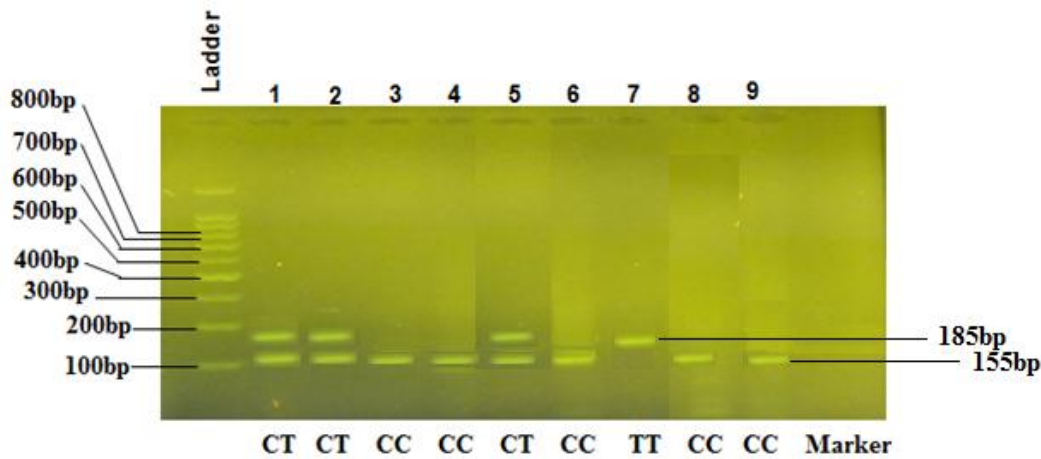
موقعیت	آنزیم محدودالانر	اندازه قطعات حاصل از هضم آنزیمی (bp) در ژنوتیپ های مختلف
CAT-262C/T	Sma <sub>1</sub>	Homozygous CC : 155bp and 30bp
		Heterozygous CT: 185, 155and 30bp
		Homozygous TT: 185bp

Yates corrected X<sup>2</sup> مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نهایتاً داده های حاصل شده با کمک نرم افزار SPSS و آزمون های آماری Chi-square



شکل شماره ۱. محصول PCR حاصل از تکثیر ژن CAT-262C/T در موقعیت (rs1001179): اندازه باند جفت باز ۱۸۵



شکل شماره ۲. محصول RFLP بر روی ژل آگارز نشان دهنده ژنوتیپ های ژن CAT-262C/T

### یافته های پژوهشی

مقایسه فراوانی ژنوتیپ های *CC*، *CT* و *TT* پلی مورفیسم CAT-262C/T در بیماران و گروه کنترل: نتایج حاصل از آزمون مربع کای ارتباط معنی داری را بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی ژنوتیپ های *CC*، *CT* و *TT* در موقعیت پلی مورفیسمی CAT-262C/T نشان داد ( $P_{CAT}=0.032$ ). شاخص  $HWE_{Control}=20.5$ ،  $HWE_{Patient}=1.14$  برای CAT-262C/T بیانگر برقراری تعادل

هاردی-واینبرگ در جمعیت بیماران مورد مطالعه، علی رغم جمعیت کنترل می باشد (جدول شماره ۴). مقایسه فراوانی افراد هموزیگوت برای آلل های *C* و *T* در موقعیت پلی مورفیسمی CAT-262C/T در بیماران و گروه کنترل: نتایج حاصل از آزمون مربع کای ارتباط معنی داری را بین گروه کنترل و بیمار در فراوانی هر دو آلل *C* و *T* در موقعیت پلی مورفیسمی CAT-262C/T گزارش نمود ( $P_{CAT}=0.042$ ) (جدول شماره ۴)

جدول شماره ۴. مقایسه فراوانی ژنوتیپ های CC، CT و CC و فراوانی آلل های C و T در موقعیت پلی مورفیسم CAT-262C/T در بیماران مبتلا به پره اکلامپسی و گروه کنترل

مقایسه فراوانی ژنوتیپ های CC، CT و TT در موقعیت پلی مورفیسم CAT-262C/T						
مقایسه ژنوتیپ (CAT-262C/T) در گروه های بیمار و کنترل	ژنوتیپ (CAT-262C/T)			جمع کل نمونه ها	HWE P	P Chi-square Test
	CC	CT	TT			
نمونه های کنترل	۹۴	۳۶	۲۰	۱۵۰	/۰۰۰۰۱	
درصد	۶۲/۶۷	۲۴	۱۳/۳۳	۱۰۰		
نمونه های بیمار	۱۰۲	۴۱	۷	۱۵۰	/۰۲۸۵۶۵۲	/۰۰۳۲
درصد	۶۸	۲۷/۳۳	۴/۶۷	۱۰۰		
تعداد کل نمونه ها	۱۹۶	۷۷	۲۷	۳۰۰		
درصد	۶۵/۳۳	۲۵/۶۷	۹	۱۰۰		
	مقایسه C/T با CC		مقایسه TT با CC			
CC Refrence , P-vlue	۰/۹۲		۰/۰۱۰			
(Odds Ratio (OR	۰/۹۷۳		۰/۳۲۳			
CI 95%	۱/۰-۶۶۷/۵۷۰		۰/۰-۷۹۷/۱۳۰			
مقایسه فراوانی آلل های C و T در موقعیت پلی مورفیسم CAT-262C/T						
مقایسه فراوانی آلل های C و T در گروه های بیمار و کنترل	ژنوتیپ (CAT-262C/T)		جمع کل نمونه ها	P Chi-square Test	Odds (OR)Ratio	CI 95%
	C	T				
نمونه های کنترل	۲۲۴	۷۶	۳۰۰	۰/۰۴۲	/۰۶۶۷	۰-/۴۵۱
درصد	۷۴/۶۷	۲۵/۳۳	۱۰۰			
نمونه های بیمار	۲۴۵	۵۵	۳۰۰	۰/۰۴۲	/۰۶۶۷	۰-/۴۵۱
درصد	۸۱/۶۷	۱۸/۳۳	۱۰۰			
تعداد کل نمونه ها	۴۶۹	۱۳۱	۶۰۰			
درصد	۷۸/۱۷	۲۱/۸۳	۱۰۰			
P Chi-square	۰/۰۲۸		۰/۰۱۰			

بررسی ارتباط پلی مورفیسم CAT-262C/T با پارامترهای پاراکلینیکی: نتایج بررسی ارتباط پلی مورفیسم CAT-262C/T با فاکتورهای پاراکلینیکی مورد نظر تحقیق از جمله: شدت پره اکلامپسی، میزان دفع پروتئین در ادرار، ورم بیمار، سن شروع، نخست زایی، چنڈزایی، سابقه سقط، دیابت (P<sub>CAT</sub>=0.074)، سابقه سقط (P<sub>CAT</sub>=0.287)، دیابت (P<sub>CAT</sub>=0.75) و کم کاری تیروئید (P<sub>CAT</sub>=0.941) با پلی مورفیسم مذکور ارتباط معنی داری در گروه بیمار و کنترل دیده نشد (جدول شماره ۵).

این در حالی است که میان سایر پارامترهای مورد بررسی هم چون شدت پره اکلامپسی (P<sub>CAT</sub>=0.272)، میزان دفع پروتئین در ادرار (P<sub>CAT</sub>=0.130)، ورم بیمار (P<sub>CAT</sub>=0.739)، سن شروع (P<sub>CAT</sub>=0.412)، نخست زایی (P<sub>CAT</sub>=0.322)، چنڈزایی (P<sub>CAT</sub>=0.630)، سابقه سقط (P<sub>CAT</sub>=0.074)، سابقه سقط (P<sub>CAT</sub>=0.287)، دیابت (P<sub>CAT</sub>=0.75) و کم کاری تیروئید (P<sub>CAT</sub>=0.941) با پلی مورفیسم مذکور ارتباط معنی داری در گروه بیمار و کنترل دیده نشد (جدول شماره ۵).

OR=14.028, CI<sub>95%</sub>=(0.934-0.207),

## ارتباط بین پلی مورفیسم ژن کاتالاز (CAT-262C/T) با بیماری...-سیروس نعیمی و همکاران

جدول شماره ۵. بررسی ارتباط پلی مورفیسم CAT-262C/T با فاکتورهای پاراکلینیکی شدت پره اکلامپسی، میزان دفع پروتئین، ورم، سن شروع، نخست زایی، چندزایی، چندقلویی، سابقه ابتلا قبلی، سابقه سقط، دیابت و کم کاری تیروئید در بیماران مبتلا به پره اکلامپسی و گروه کنترل

ویژگی ها	ژنوتیپ ها (تعداد-درصد)			جمع کل نمونه ها (تعداد-درصد)	P
	TT	CT	CC		
شدت بیماری	فشارخون خفیف	۶-۷	۲۴/۱-۲۸	۶۹/۸-۸۱	۱۰۰-۱۱۶
	فشارخون متوسط	۰-۰	۴۲/۳-۱۱	۵۷/۷-۱۵	۰/۲۷۲
	فشارخون شدید	۰-۰	۲۵-۲	۷۵-۶	۱۰۰-۸
	تعداد کل نمونه ها	۴/۶۷-۷	۲۷/۳۳-۴۱	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰
دفع پروتئین در ادرار	ندارد	۱/۸۶-۱	۱۸/۸۶-۱۰	۷۹/۲۴-۴۲	۱۰۰-۵۳
	تریس	۰/۰-۰	۳۳/۳۳-۶	۶۶/۶۷-۱۲	۱۰۰-۱۸
	۱+	۸/۷-۴	۲۱/۷۴-۱۰	۶۹/۵۶-۳۲	۱۰۰-۴۶
	۲+	۶/۱-۶۷	۴۶/۶۷-۷	۴۶/۶۷-۷	۰/۱۳۰
میزان ورم بیمار	۳+	۷/۱-۱۴	۳۵/۷۲-۵	۵۷/۱۴-۸	۱۰۰-۱۴
	۴+	۰-۰	۷۵-۳	۲۵-۱	۱۰۰-۴
	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۷	۲۷/۴۱-۳۳	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰
	ندارد	۴/۱-۳۵	۱۷/۴-۳۹	۷۸/۱۸-۲۶	۱۰۰-۳۳
سن شروع بیماری	۱+	۵/۵-۴۹	۲۸/۲۶-۵۷	۶۵/۶۰-۹۳	۱۰۰-۹۱
	۲+	۱-۴	۹-۳۶	۱۵-۶۰	۰/۷۳۹
	۳+	۰-۰	۱۸/۲-۱۸	۸۱/۹-۸۲	۱۰۰-۱۱
	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۷	۲۷/۴۱-۳۳	۱۰۲-۶۸	۱۰۰-۱۵۰
نخست زایی	> ۲۰ سال	۰-۰/۰	۲-۲۰	۸-۸۰	۱۰۰-۱۰
	۲۰-۳۵ سال	۶/۷-۴۲	۲۵/۲۸-۶۹	۶۷/۷۴-۸۹	۰/۴۱۲
	< ۳۵ سال	۰-۰	۳۵/۱۱-۴۸	۶۴/۲۰-۵۲	۱۰۰-۳۱
	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۷	۲۷/۴۱-۳۳	۱۰۲-۶۸	۱۰۰-۱۵۰
چندزایی	زنان نخست زای کنترل	۱۶/۱۲-۲۱	۲۷/۲۰-۰۳	۵۶/۴۲-۷۶	۱۰۰-۷۴
	زنان نخست زای بیمار	۷/۵-۹۴	۲۶/۱۷-۹۸	۶۵/۰۸-۴۱	۰/۳۲۲
	تعداد کل نمونه ها	۱۲/۱۷-۴۱	۲۷/۳۷-۰۱	۶۰/۵۸-۸۳	۱۰۰-۱۳۷
	زنان چندزای کنترل	۱۰/۸-۵۲	۲۱/۱۶-۰۵	۶۸/۵۲-۴۲	۱۰۰-۷۶
چندقلویی	زنان چندزای بیمار	۲/۲-۲۹	۲۷/۲۴-۵۸	۷۰/۱۱-۶۱	۰/۰۷۴
	تعداد کل نمونه ها	۶/۱۰-۱۳	۲۴/۴۰-۵۳	۶۹/۳۲-۱۱۳	۱۰۰-۱۶۳
	یک قلو	۴/۷-۸۶	۳۶-۲۵	۷۰/۱۰۱-۱۳	۱۰۰-۱۴۴
	چندقلو	۰-۰	۸۳/۵-۳۳	۱۶/۶۶-۱	۰/۰۰۷
سابقه قبلی ابتلا	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۶	۲۷/۴۱-۳۳	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰
	دارد	۰-۰	۲۳/۳-۰۷	۷۶/۱۰-۹۲	۱۰۰-۱۳
	ندارد	۵/۷-۱۰	۲۷/۲۸-۷۳	۶۷/۱۵-۹۲	۰/۶۳۰
	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۶	۲۷/۴۱-۳۳	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰
سابقه سقط	دارد	۳/۱-۳۳	۱۶/۵-۶۶	۸۰-۲۴	۱۰۰-۳۰
	ندارد	۶-۵	۳۶-۳۰	۶۵-۷۸	۰/۲۸۷
	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۶	۲۷/۴۱-۳۳	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰
	دارد	۴/۷-۹۶	۲۶/۳۸-۹۵	۶۸/۹۶-۰۱	۱۰۰-۱۴۱
دیابت	ندارد	۰-۰	۳۳/۳-۳۳	۶۶/۶۶-۶	۰/۷۵
	تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۶	۲۷/۴۱-۳۳	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰
	دارد	۵/۱-۸۸	۲۹/۵-۴۱	۶۴/۱۱-۷۰	۱۰۰-۱۷
	ندارد	۴/۶-۵۱	۲۷/۳۶-۰۶	۶۸/۴۲-۹۱	۰/۹۴۱
تعداد کل نمونه ها	۴/۷-۶۶	۲۷/۴۱-۳۳	۶۸-۱۰۲	۱۰۰-۱۵۰	

### بحث و نتیجه گیری

تمایل به ایجاد استرس اکسیداتیو از طریق رادیکال های آزاد نیز افزایش می یابد (۱۶، ۱۷). اگر چه گونه های آزاد اکسیژن تولید شده توسط مادر و جنین به رشد، تکامل و تمایز جنین کمک می کنند، اما در عین حال افزایش و

تغییرات بیوشیمیایی ناشی از بارداری در بدن با افزایش تقاضای همه بافت ها به خصوص جفت و جنین برای مقادیر زیاد اکسیژن همراه است که در نتیجه آن

عدم تعادل آن موجب تغییر در ساختار سلول ها شده و با اعمال اثرات مضر بر سلول های جنین و مادر منجر به بروز آسیب می شود (۱۸،۱۹). رادیکال های آزاد، اتم یا ملکول هایی هستند که به خاطر داشتن یک یا چند الکترون جفت نشده بسیار واکنش پذیرند. سیستم دفاع آنتی اکسیدانی، سیستمی خاصی شامل آنتی اکسیدان های آنزیمی مثل کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز است که وظیفه آن مقابله با آسیب های ناشی از رادیکال های آزاد در بدن می باشد (۲۰،۲۱). نتایج پژوهشی در سال ۲۰۰۴، نشان می دهد در دوران بارداری در نتیجه لیپید پراکسیداز شدن جفت و پرزهای جفتی، مالون دی آلدئید تولید می شود که با بروز بیماری های مادر نظیر پره اکلامپسی همراه است (۲۲). مطالعات صورت گرفته در سال های ۲۰۰۵ و ۲۰۰۹، نیز بیانگر نقش استرس اکسیداتیو بارداری در ایجاد پره اکلامپسی در مادر و تاخیر رشد داخل رحمی جنین می باشند (۲۳،۲۴). مجدداً در سال های ۲۰۱۳ و ۲۰۱۴، بررسی ها افزایش میزان استرس اکسیداتیو را به عنوان عاملی برای بروز پره اکلامپسی معرفی کرده اند (۲۵،۲۶). هم چنین بروز پره اکلامپسی در پی کاهش عملکرد آنزیم های سیستم آنتی اکسیدانی مشاهده شده است (۲۷). برخی از مطالعات حضور پلی مورفیسم ها در ژن های رمزکننده آنتی اکسیدان های آنزیمی این سیستم را عامل نقص عملکرد آن ها می دانند (۲۴). به عنوان مثال نتایج حاصل از دو مطالعه جداگانه در سال ۲۰۰۴ و ۲۰۰۵ ارتباط بین حضور پلی مورفیسم را با کاهش عملکرد آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز ۱ به ترتیب در مبتلایان به سرطان مثانه و پستان اثبات نمودند (۲۸،۲۹). محققان نیز حضور برخی از پلی مورفیسم های رایج در ژن رمزکننده آنزیم گلووتاتیون پراکسیداز ۱ را با فعالیت تغییر یافته آنزیم طی مطالعاتی در سال های ۲۰۰۸ و ۲۰۱۴ اثبات نمودند (۳۰،۳۱). اخیراً در سال ۲۰۱۸ مطالعه ای نشان داد که حضور پلی مورفیسم CAT-21A/T در ژن آنزیم کاتالاز خطر

ابتلا به پره اکلامپسی را ۱/۶ برابر افزایش می دهد (۱۵). در این مطالعه نیز ارتباط حضور پلی مورفیسم CAT-262C/T در ژن آنزیم کاتالاز با بیماری پره اکلامپسی در دو گروه بیمار و کنترل مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصله نشان داد که فراوانی ژنوتیپ های CC، CT و TT و فراوانی هر دو آلل C و T در موقعیت پلی مورفیسم CAT-262C/T ژن رمزکننده آنزیم کاتالاز بین زنان باردار مبتلا به پره اکلامپسی و زنان باردار سالم اختلاف معنی داری دارد. هم چنین در مطالعه حاضر ارتباط این پلی مورفیسم با فاکتورهای نظیر؛ شدت پره اکلامپسی، میزان دفع پروتئین در ادرار، میزان ورم بیمار، سن شروع بیماری، نخست زایی، چندزایی، بارداری چندقلویی، سابقه ابتلاء قبلی به پره اکلامپسی، سابقه سقط و بیماری های دیابت و کم کاری تیروئید بررسی شد. در مورد سایر موارد به جز پارامتر چندقلویی ارتباط معنی داری با پلی مورفیسم CAT-262C/T دیده نشد. اما از آن جایی که وجود سایر پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در ژن کاتالاز ممکن است در بروز پره اکلامپسی نقش ایفا کنند، مطالعات بیشتری در خصوص دیگر پلی مورفیسم های ژن کاتالاز و ارتباط آن ها با پره اکلامپسی نیاز است.

این مطالعه نتیجه گیری می کند که با توجه به معنی دار بودن ارتباط بین پلی مورفیسم CAT-262C/T با بروز پره اکلامپسی، به نظر می رسد غربالگری مادران بر اساس حضور این پلی مورفیسم می تواند به پیش بینی و تشخیص زود هنگام آن و در نتیجه کاهش مرگ و میر مادری، کمک کند.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد واحد کازرون و کلیه عزیزانی که نهایت همکاری را در اجرای این پژوهش داشتند، کمال تشکر و قدردانی به عمل می آید.

تعارض در منافع: وجود ندارد.

کد اخلاق: IR.IAU.KAU.REC.1398.005

## References

1. Muchemi OM, Gichogo AW. Maternal mortality in central province, Kenya, 2009-2010. *Pan Af Med J* 2014; 17: 201. doi. 10.11604/pamj.2014.17.201.3694
2. Sharemi SH, Milani F, Zahiri Z, Zendedel M, Salamat F, Rafipour B, et al. [Comparison of Pre-eclampsia risk factors regarding to its severity in pregnant women referred to Alzahra hospital of Rasht. *Iranian J Obste Gynecol Infert* 2013; 16: 1-8. (Persion)
3. Gibbs RS, Karlan BY, Haney AF, Nygaard I. *Danforths obstetrics and gynecology*. 10<sup>th</sup> ed Philadelphia Lippincott Williams Wilkins Publication; 2008.
4. Hinton L, Tucker KL, Greenfield SM, Hodgkinson JA, Mackillop L, Mccourt C, et al. Blood pressure self-monitoring in pregnancy feasibility study a qualitative analysis of womens experiences of self-monitoring. *Bio Med Cent Preg Child* 2017; 17: 427. doi. 10.1186/s12884-017-1592-1
5. Williams B, Poulter NR, Brown MJ, Davis M, McInnes GT, Potter JF, et al. Guidelines for management of hypertension: Report of the fourth working party of the British hypertension society 2004-BHS IV. *Journal of Human Hypertension* 2004; 18: 139-85. doi. 10.1038/sj.jhh.1001683
6. Williams PJ, Morgan L. The role of genetics in Pre eclampsia and potential pharmacogenomic interventions. *Pharmacogenom Personal Med* 2012; 5: 37-51. doi.10.2147/PGPM.S23141
7. Duckitt K, Harrington D. Risk factors for pre eclampsia at antenatal booking systematic review of controlled studies. *BMJ* 2005; 330: 656. doi.10.1136/bmj.38380.674340.E0
8. Serdar Z, Gur E, Colakogullari M, Develioglu O, Sarandol E. Lipid and protein oxidation and antioxidant function in women with mildand severe preeclampsia. *Arch Gynecol Obstet* 2003; 268:19-25. doi. 10.1007/s00404-002-0302-y
9. Myatt L. Placental adaptive responses and fetal programming. *J Physiol* 2006; 572:25-30. doi.10.1113/jphysiol.2006.104968
10. Halliwell B. Oxidative stress and cancer have we moved forward? *Biochem J* 2007 1;401:1-1. doi. 10.1042/BJ20061131
11. Halliwell B. Free radicals reactive oxygen species and human disease a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Pathol* 1989; 70: 737-57.
12. Costa A, Scholerdahirel A, Mechtagrigoriou F. The role of reactive oxygen species and metabolism on cancer cells and their microenvironment. *Sem Cancer Biol* 2014; 25: 23-32. doi.10.1016/j.semcancer.2013.12.007
13. Ahn J, Nowell S, McCann SE, et al. Associations between catalase phenotype and genotype: modification by epidemiologic factors. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1217-22. doi.10.1158/1055-9965.EPI-06-0104
14. Ding G, Liu F, Shen B, Feng C, Xu J, Ding Q. The association between polymorphisms in prooxidant or antioxidant enzymes myeloperoxidase SOD2 and CAT and genes and prostate cancer risk in the Chinese population of Han nationality. *Clin Gen cancer* 2012; 10 : 251-5. doi.org/10.1016/j.clgc.2012.08.001
15. Yassae F, Salimi S, Etemadi S, Yaghmaei M. Comparison of CAT-21A/T Gene Polymorphism in Women with Preeclampsia and Control Group. *Adv Biomed Res* 2018; 7:133. doi.10.4103/abr.abr\_36\_18
16. Upadhyaya C, Mishra S, Singh P, Sharma P. Antioxidant status and peroxidative stress in mother and newborn. *Indian J Clin Biochem* 2005; 20: 30-34. doi. 10.1007/BF02893038
17. Little R E, Gladen B C. Levels of lipid peroxides in uncomplicated pregnancy a review of the literature. *Rep Toxicol* 1999; 13: 34752. doi.10.1016/s0890-6238(99)00033-7
18. Jauniaux E, Watson AL, Hempstock J, Bao YP, Skepper JN, Burton GJ. Onset of maternal arterial blood flow and placental oxidative stress a possible factor in human early pregnancy failure. *Am J Pathol* 2000; 157: 2111-22. doi. 10.1016/S0002-9440(10)64849-3
19. Mutinati M, Piccinno M, Roncetti M, Campanile D, Rizzo A, Sciorsci RL. Oxidative stress during pregnancy In the



- sheep. *Rep Dom Anim* 2013; 48: 353–357. DOI: 10.1111/rda.12141
20. Lushchak VI. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquat Toxicol* 2011; 101:13-30. doi. 10.1016/j.aquatox.2010.10.006
21. Hung TH, Lo LM, Chiu TH, Li MJ, Yeh YL, Chen SF, et al. A Longitudinal Study of Oxidative Stress and Antioxidant Status in Women With Uncomplicated Pregnancies Throughout Gestation. *Reprod Sci* 2010; 17: 401-409. doi. 10.1177/1933719109359704
22. Llorba E, Gratacos E, Martingallan P, Cabero L, Dominguez C. A comprehensive study of oxidative stress and antioxidant status in preeclampsia and normal pregnancy. *Free Rad Biol Med* 2004; 37: 557-70. doi. 10.1016/j.freeradbiomed.2004.04.035
23. Gupta S, Agarwal A, Sharma RK. The role of placental oxidative stress and lipid peroxidation in preeclampsia. *Obstet Gynecol Surv* 2005; 12: 807- 16. doi. 10.1097/01.ogx.0000193879.79268.59
24. Burton GJ, Yung HW, Cindrovadavies T, Charnockjones DS. Placental endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in the pathophysiology of unexplained intrauterine growth restriction and early onset preeclampsia. *Placenta* 2009; 30: 43-8. doi. 10.1016/j.placenta.2008.11.003
25. Shaker OG, Sadik NA. Pathogenesis of preeclampsia Implications of apoptotic markers and oxidative stress. *Hum Exp Toxicol* 2013; 32: 11708. doi.10.1177/0960327112472998
26. Can M, Guven B, Bektas S, Arikan I. Oxidative stress and apoptosis in preeclampsia. *Tissue Cell* 2014; 46: 477-81. doi. 10.1016/j.tice.2014.08.004
27. Vanderlelie J, Venardos K, Clifton V.L, Gude N.M, Clarke F.M, Perkins A.V. Increased biological oxidation and reduced anti oxidant enzyme activity in pre eclamptic placentae. *Placenta* 2005; 26: 53-8. doi. 10.1016/j.placenta.2004.04.002
28. Ichimura Y, Habuchi T, Tsuchiya N, Wang L, Oyama C, Sato. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. *J Urol* 2004; 172: 728-32. doi. 10.1097/01.ju.0000130942.40597.9d
29. Ravnahren G, Olsen A, Tjonneland A, Dragsted LO, Nexo BA, Wallin H. Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism erythrocyte GPX activity alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis* 2005; 27 : 8205. doi. 10.1093/carcin/bgi267
30. Kodydkova J, Vávrova L, Kocik M, Zak A. Human catalase its polymorphisms regulation and changes of its activity in different diseases. *Folia Biol* 2014; 60: 153-67.
31. Kuzuya M, Ando F, Iguchi A, Shimokata H. Glutathione peroxidase 1 Pro198Leu variant contributes to the metabolic syndrome in men in a large Japanese cohort. *Am J Clin Nutr* 2008; 87: 1939-44. doi.10.1093/ajcn/87.6.1939

## Association between Catalase Gene (CAT-262 C/T) Polymorphism and Preeclampsia in the South of Iran

Alipour M<sup>1</sup>, Naeimi S<sup>1\*</sup>, Moghanibashi M<sup>1</sup>, Khasheivarnamkhasti K<sup>1</sup>, Mahmmodian Z<sup>1</sup>

(Received January 5, 2020

Accepted: February 24, 2020)

### Abstract

**Introduction:** The cause of preeclampsia has not been identified so far; therefore, it accounts for a high percentages of maternal hospitalization. It seems that polymorphisms of genes encoding antioxidant system enzymes are effective in the pathophysiology of this disorder. This study aimed to evaluate the relationship between CAT-262 C/T polymorphism of enzymatic antioxidant Catalase gene and preeclampsia.

**Materials & Methods:** This case-control study was conducted at Islamic Azad University of Kazerun, Kazerun, Iran, in 2017. In total, 150 preeclampsia patients and 150 healthy pregnant women were selected as cases and controls, respectively. After DNA sampling and extraction, the CAT-262 C/T polymorphism was determined by Polymerase Chain Reaction and Restriction Fragment Length Polymorphism method. Data were analyzed in SPSS software using the Chi-square and Yates corrected  $X^2$  statistical tests. **Ethics code:** IR.IAU.KAU.REC.1398.005

**Findings:** Results showed a significant difference between preeclampsia patients and healthy pregnant women regarding the

frequency of CC, CT, and TT genotypes ( $P_{CAT}=0.32$ ) and both C and T alleles ( $P_{CAT}=0.42$ ) in the position of the CAT-262 C/T polymorphism of enzymatic antioxidant Catalase gene. Except for the multiple pregnancy parameter ( $P_{CAT}=0.007$ ), no significant differences were observed between the case and control groups in terms of other measured factors, such as the severity of preeclampsia ( $P_{CAT}=0.272$ ), urinary protein excretion ( $P_{CAT}=0.130$ ), patient swelling ( $P_{CAT}=0.739$ ), age at onset of disease ( $P_{CAT}=0.412$ ), primipara ( $P_{CAT}=0.322$ ), multipara ( $P_{CAT}=0.074$ ), previous history of preeclampsia ( $P_{CAT}=0.630$ ), history of miscarriage ( $P_{CAT}=0.287$ ), diabetes mellitus ( $P_{CAT}=0.75$ ), and hypothyroidism ( $P_{CAT}=0.941$ ).

**Discussion & Conclusions:** According to the results of this study, the CAT-262C/T polymorphism could be considered as a risk factor for preeclampsia susceptibility in the south of Iran.

**Keywords:** Catalase, CAT-262 C/T polymorphism, Preeclampsia

1. Dept of Genetics, Faculty of Basic Sciences, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

\* Corresponding author Email: Naeimis@kau.ac.ir