Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

دراسة تاثير طفرات الجينين CBS وMTHFR لقبل الارتعاج لدى النساء الحوامل المصابات في النجف

زهراء سامي رزاق — كلية التربية للبنات
د ظافرة جعفر عبدعلي — كلية التربية للبنات
د ماجد كاظم حسين — كلية الطب

zahraas.ghuly@uokufa.edu.iq

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة للتعرف على تاثير الجينين CBS و MTHFR في الحوامل المصابات بقبل الارتعاج في محافظة النجف وتضمنت الدراسة 60 امراءة حامل مصابة بقبل الارتعاج شخصت من قبل الاطباء الاختصاصيين في مستشفى الزهراء التخصصي و40 امراءة حامل سليمة بوصفهن مجموعة سيطرة من كانون الاول 2012 ولغاية اذار 2013 وقد استخدمت تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي PCR (لمتابعة معدل حدوث ومدى تكرار الطفرات الوراثية في الجينين قيد الدراسة).

وقد أظهرت نتائج عزل واستخلاص الحامض النووي الجنيني من بلازما دم الحوامل على زيادته معنويا (0.0001) لدى الحوامل المصابات بقبل الارتعاج عند المقارنة مع الحوامل السليمات .

وتم الاستدلال على أن الحامض النووي المعزول يعود إلى الجنين وليس للمرأة الحامل بوساطة التحري عن جين SRY (جين يقع على الكر وموسوم الذكري Y) إذ تم متابعة ولادات 40 امرأة حامل, كانت ولادات 31 منهن أنثى, في حين كانت ولادات التسع الباقية ذكورا, وقد ظهرت حزم الجين SRY لدى الحوامل اللاتي ولدن ذكراً في حين لم تظهر هذه الحزم لدى اللاتي ولدن إناثا .

وقد تم متابعة معدل حدوث الطفرات في جينCBS بوساطة بادى صمم لمضاعفة جزء قدره 171BPعلى هذا الجين ,اذ اظهرت نتائج حدوث طفرة وراثية فيه لدى 51.7% من الحوامل المصابات لكن هذه الطفرة ظهرت في 5% من الحوامل غير المصابات وقد اظهرت النتائج ان حدوث طفرة في جين CBS يزيد من احتمالية حدوث قبل الارتعاج لديها عشرين مرة اكثر من غير الحاملة لهذه الطفرة وبفرق معنوي $p \leq 1*10^{-7}$.

اظهرت نتائج التحري عن الطفرة الوراثية C677T في جين MTHFR حدوثها لدى 68.3% من النساء المصابات بقبل الارتعاج لكنها ظهرت لدى 17.5% فقط لدى غير المصابات حيث تزداد خطورة الاصابة بقبل الارتعاج لدى المراة الحامل بمقدار 10 مرات عند حدوث الطفرة C677T في جين MTHFR وبفرق معنوي $6.2*10^{-7}$.

تشير هذه النتائج أن الطفرات الوراثية في جيني CBS وMTHFR لها تأثير مهم في أمراضية قبل الارتعاج لكن حدوثها لا يعني بالضرورة حدوث الإصابة

مفتاح البحث :النساء الحوامل, جين SRY ,جين CBS و جين MTHFR

المقدمة Introduction

يعد قبل الارتعاج اضطراب يتحدد ظهوره في الثلث الثالث من الحمل (Hermida واخرون 2001) ويتميز بارتفاع ضغط الدم بما يتجاوز 140/90 ملم زئبقي مع طرح البروتين في الإدراربحدود يتجاوز 300 ملغ / يوم بعد الأسبوع 20من الحمل (Sibai واخرون 2007). قبل الارتعاج هي المسؤولة عن اغلب حالات الاعتلال والوفيات احيانا في الام والجنين (Paltiel واخرون 2004) اذ انها تحدث بنسبة 5-8% من جميع الحوامل (Saftlas واخرون, 1990) وبين Choi وآخرون (2004) أن قبل الارتعاج تؤثر على 3-10% من الحوامل على حين تتركز الإصابة بها في النساء في الحمل الأول إذ تصل نسبة الإصابة إلى 5% (North وآخرون , 2011) مما يتسبب في ما يقرب 40٪ من الولادات قبل 35 أسبوعاً من الحمل .وخلال العقدين الماضيين تراكمت المعرفة الهائلة لعلم الوراثة البشرية بشكل كبير فيما يتعلق بتحليل الحمض النووي الجنيني في بلازما دم إلام أو المصل بوصفه دالة تشخيصية لتحديد جنس الجنين فضلاً عن بعض الأمراض المرتبطة بالجنس وتشخيص بعض الأمراض قبل الولادة المعتمدة على الحمض النووي في دم الأم (Finning وآخرون, 2002) ويتم الكشف عن الحامض النووي للجنين في بلازما الأمهات عن طريق جين SRY (Bustamante-Aragones واخرون, 2010). وقد تحدث بعض الطفرات في عدد من الجينات التي تسهم في زيادة تركيز الحامض الاميني في البلازما وانخفاض نشاط بعض

الإنزيمات على سبيل المثال Cystathionine Beta-Synthase (*CBS*) و Methylene tetrahydrofolate Reductase (*MTHFR*) وزيادة عوامل الخطر لكثير من الإمراض منها قبل الارتعاج و تصلب الشرايين وأمراض سريريه أخرى (Gupta وآخرون , 2011).

هدفت الدراسة الحالية الى

لتسليط الضوء على بعض الطفرات في جيني CBS وMTHFR لتوضيح مدى تاثيرها داخل المجتمع النسوي في محافظة النجف الاشرف ومدى تكرارها

طرائق العمل

جمعت العينات من مستشفى الزهراء التعليمي وبعض العيادات الخاصة في مدينة النجف الاشرف من كانون الأول 2012 ولغاية آذار 2013, وشملت 100عينة عشوائية من النساء الحوامل منها ستون امرأة حامل مصابة بقبل الارتعاج وأربعون امرأة حامل سليمة كمجموعة سيطرة بعمر15-43 عاما. وقد شخصت الحالات من قبل طبيبات متخصصات في الأمراض النسائية. جمعت عينات الدم من النسوة الخاضعات للدراسة ونقلت إلى أنابيبEDTA الحاوية على مانع التخثر ثم نبذت العينات لمدة 6 دقائق بجهاز النبذ المركزي وبسرعة 10.000 rpm ثم فصل البلازما ونقلت إلى أنابيب بولي بروبلين وخزنت بدرجة حرارة-20C° وقد استعملت مواد كيميائية مختلفة وعدتان لاستخلاص الحامض النووي في بلازما الأمهات الحوامل(Norgen) Simkin) واخرون , 2012) العديد من الأجهزة والمعدات جهزت البرايمرات الأمامية Forward والخلفية Reverse للجينات CBSوSRY وMTHFRمن شركة Bioneer جدول رقم(1)

جدول رقم (1) تسلسل البرايمرات للجينات CBS,MTHFR,SRY

اسم الجين	تسلسل البادى (5-3)	Product size	المصدر	الشركة
SRY F	5'-GGTAAGTGGCCTAGCTGGTG-3	195bp	Gupta واخرون,2011	BIONEER
SRY R	5'-CACAGAGAGAAATACCCGAA-3	195bp	Gupta واخرون,2011	
CBS F	5'-GTTGTTAACGGCGGTATTGC-3	171bp	Gupta واخرون,2011	
CBS R	5'-GTTGTCTGCTCCGTCTGGTT-3'	171bp	Gupta واخرون,2011	
MTHFR F	5'-TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA-3'	198bp	Zappacosta واخرون, 2009	
MTHFR R	5'-TGA GAG TGG GGT GCA GGG AGC TT-3'.	198bp	Zappacosta واخرون, 2009	

Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

.وقد استخدمت تقنية تفاعل البلمرة التسلسلي PCR جدول (2و3) والترحيل الكهربائي (لمتابعة معدل حدوث ومدى تكرار الطفرات الوراثية في الجينين قيد الدراسة

جدول رقم (2) مكونات تفاعل PCR لجيني (CBSو MTHFR)

مكونات التفاعل	الحجم Volume(مايكروليتر)
المزيج الأساسي Master Mix	5
البرايمرات الأمامية Forward والخلفية Reverse	4
مستخلص DNA	6
ماء مقطر	10
الحجم الكلي	25

جدول رقم (3) برنامج عمل جهاز PCR للجيناتCBS,MTHFR

الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
التفكيك الأولDenaturation1	95C°	5 min	
التفكيك الثانيDenaturation2	95C°	30sec	35 دورة
الالتصاق Annealing	60C°	1min	
الامتداد الأول Extension 1	72C°	1min	
الامتداد النهائي Extension 2	72C°	5min	

ثم رحلت العينات بجهاز الترحيل الكهربائي باستخدام هلام الاكاروز ومحلول ملونة بروميد الايثديوم ومحلول TBE لمدة ساعة ونصف ثم صورت العينات باستخدام جهاز Gel Decument

التحليل الاحصائي:

استعمل البرنامج الاحصائيSPSS لتقييم الاهمية المعنوية لنتائج الدراسة الحالية وقد تم استعمال مربع كاي (Chi Squre) X2 لبيان الفروق الفردية بين المجاميع التي تمت دراستها فضلا عن ذلك فقد تم حساب النسبة الشاذة (Odd Ratio) لغرض تقدير تقييم خطورة الطفرة الجينية في النساء الحوامل (Hernandez-Diaz واخرون,2009).

النتائج والمناقشة

تم عزل واستخلاص DNA الجنين اللاخلوي (Cell free fetal DNA) من بلازما دم الحوامل باستخدام كت Norgen واستدل عليه بوساطة متابعة جين SRY, احد مكونات الكروموسوم الجنسي Y. و استعمل هذا ألجين بوصفه مسيطرا داخليا (Enternal Control), يظهر في بلازما الحوامل أذا كان الجنين ذكراً ولا يظهر أذا كان الجنين أنثى. يشير الجدول(4) إلى زيادة معنوية (0.0001) في كمية DNA الجنيني المعزول من النساء الحوامل المصابات بقبل الارتعاج (µg/ml

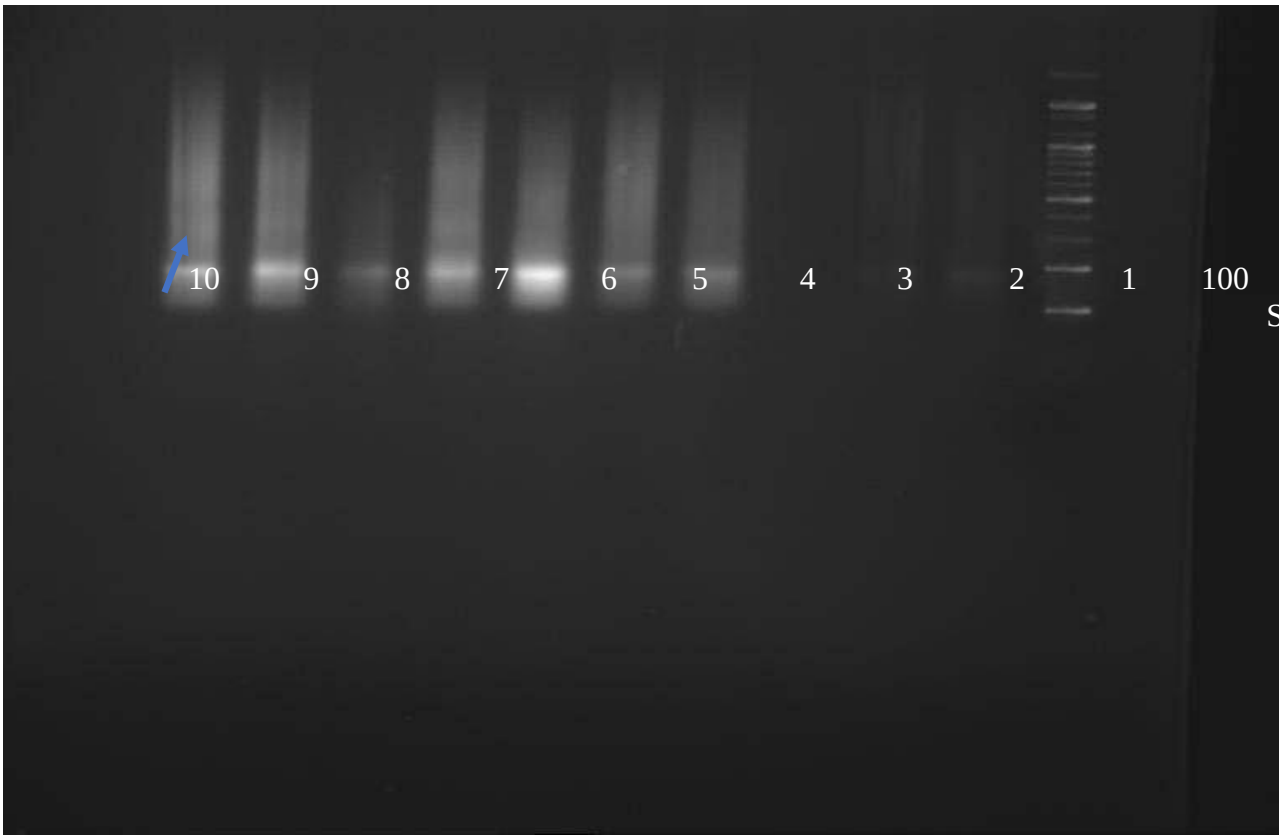
URL: http://www.uokufa.edu.iq/journals/index.php/ajb/index
http://iasj.net/iasj?func=issues&jId=129&uiLanguage=en
Email: biomgzn.sci@uokufa.edu.iq

6.53±10.17) عند مقارنتها مع تلك المعزولة من النساء الحوامل غير المصابات (3.67±5.82)µg/ml , وقد كانت هذه الزيادة في حدود مرتين .

جدول (4)المعدل والانحراف المعياري للدنا المعزول والمستخلص من بلازما دم الحوامل

الحوامل	المعدل±الانحراف المعياري مايكروغرام/مل	المدى	P value
المريضات	6.53±10.17	70-9	0.0001
السيطرة	3.67±5.82		

تمت متابعة الحوامل وتسجيل نوع المولود ذكراً أو أنثى, عن طريق سجلات مستشفى الزهراء التعليمي, إذ استطعنا متابعة ولادات 40 امرأة حامل, ولدت31 منهن إناث وولدت تسع حوامل ذكوراً . صورة رقم (1)



صورة رقم (1) حزم ناتج التضاعف الجيني لجين SRY في الموقع 195bpفي الحامض النووي الجنيني المعزول من بلازما دم النسوة الحوامل بأجنة ذكور(5-11) واللاتي ولدن اناث (2-4) مرحلة بجهاز الترحيل الكهربائي 75 فولت والاكاروز 2% والوقت 100 دقيقة.

يعد عزل DNA الجنين اللاخلوي من بلازما الحوامل والاستدلال عليه من المهام الصعبة التي تحتاج إلى دقة ودراية في كيفية انجاز هذه المهمة (Lo وآخرون , 1998).ففي الدراسة الحالية استعملت عدة عزل DNA من البلازما المستوردة من شركة Norgen. وقد لوحظ في الدراسات التي تمت مراجعتها إن عملية الاستدلال يمكن انجازها بطريقة غير مباشرة بوساطة استعمال مسيطر داخلي (Internal control), عن طريق متابعة جين SRY الذي يمثل احد مكونات الكروموسوم الذكري Y, إذ أن حزم هذا الجين في نماذج DNA المعزولة من الحوامل بأجنة الذكور والتي تم تحليلها بتقنية PCR سوف لا تظهر في تلك المعزولة من حوامل أجنة الإناث .(Helszer وآخرون 2013) , وبسبب صعوبة التعامل مع النساء الحوامل فقد تم متابعة ولادات أربعين منهن فقط, كانت ولادات 31 منهن إناثا ولم تظهر تحاليل تقنية PCR والترحيل الكهربائي حزما لهذا الجين, بينما أعطت النماذج المعزولة من تسع حوامل اللاتي ولدن ذكورا هذه الحزم صورة (1)وهذا يثبت أن DNA المعزول من بلازما الحوامل هو جنيني ولا يعود إلى الأم .

أن المحاولة الأولى التي تم فيها عزل واستخلاص DNA الجنيني من الحوامل كانت في عام 1997 ,(Lo وآخرون) ولحد ألان لا توجد ميكانيكية تفسر ظهور هذا الحامض في دم الأم, لكن هناك ثلاث ميكانيكيات مفترضة لهذا الظهور موت الخلايا المبرمج والممرض Apoptosic and necrosis و إفراز DNA الفعال Active secretion of DNA و إنهاء التمايز الخلوي Terminal differentiation (Chan وآخرون 2004) .

بينت نتائج الدراسة الحالية زيادة في كمية DNA الجنيني المعزول من بلازما الحوامل المصابات بقبل الارتعاج عند مقارنتها مع تلك المعزولة من الحوامل غير المصابات وقد كانت الزيادة حوالي مرتين وتتفق هذه النتائج مع دراسات سابقة أشارت إلى زيادة كمية DNA الجنين المعزول من المصابات بمقدار 2- 5 مرات عن تلك المعزولة من الحوامل غير المصابات (Lo, 1999) ويحدث ذلك بسبب تحرر الحمض النووي من الجنين نتيجة لموت الخلايا او تنخرها في المشيمة (Chan وآخرون 2004 ؛ Smith وآخرون, 2001) ..

وبين (Leung وآخرون, 2001) إن الزيادة في الحامض النووي ينتج عن تدمير الأنسجة المصابة أو نتيجة حدوث متلازمة HELLP. إن CFF DNA في بلازما الأمهات تعد من التطورات الجديدة في مجال استخدام الخلايا في تشخيص الأمراض الوراثية المرتبطة بالجنس وتحديد جنس الجنين واستخدم هذا الجين في دراسة أجريت على 80 حامل في الأسبوع (6-10) من الحمل وكانت دقة الاختبار باستخدام SRY 97.3% في تحديد جنس الجنين Khorshid_ (وآخرون2013) إما (Hromadnikova وآخرون, 2003) فقد بين إن دقة اختبار تكون مطلقة 100%. وقد بينت النتائج حدوث طفرة وراثية في جين CBS لدى 31 (51.7%) امرأة حامل مصابة بقبل الارتعاج, بينما لم تظهر طفرة وراثية في هذا الجين لدى 29 (48.3%) امرأة حامل مصابة بهذه المتلازمة .أما في مجموعة الحوامل غير المصابات بقبل الارتعاج (أربعون حامل), فقد ظهرت طفرة وراثية لدى اثنين (5%) من الحوامل غير المصابات بهذه المتلازمة , ولم تظهر طفرة وراثية في جين CBS لدى 38(95%)حامل غير مصابة بقبل الارتعاج صورة رقم (1) . وكان الفرق المعنوي عاليا ($P \leq 1*10^{-7}$) وبنسبة شذوذ قدرها (20.31) جدول(6) وقد بين Van der put واخرون 1996 الاهمية الكبيرة لجين CBS في امراضية قبل الارتعاج التي تعد من الإشكاليات المهمة إثناء فترة الحمل التي قد تؤدي إلى نتائج خطيرة للحامل وجنينها إلا إن أسباب هذه الأصابة غير معروفة بدقة (Anonymous , 2002).

وقد اوضح الباحث (Engbersen واخرون, 1995) ان جين CBS مهما في عمليات الايض الحياتي, إذ انه مسؤولاً عن تكونCystathionine beta synthase , الذي يعتبر ضروريا لتحويل الحامض الاميني Cystein الى Methionine, فقلته او فقدان وظيفته يسبب طفرة وراثية يؤدي الى تراكم احد الوسطيات الايضية الذي يدعى (Homocystein), وتراكم هذا المركب قد يسبب تخثراً دموياً مؤدياً إلى قلة وصول الدم إلى أنسجة مختلفة منها المشيمة التي قد تعاني انفصالا مصحوبا لفقدان الجنين أو أصابته بعيوب الأنبوب العصبي (Saxena واخرون, 2011).

وبينت نتائج تحليل ناتج التضاعف الجيني لهذا الجزء, تطفيره لدى 51.7 %من المريضات التي تمت دراستهن, بينما طفرت الحزمة لدى 5% فقط من الحوامل غير المصابات بقبل الارتعاجية جدول(5).أن هذه النتائج تشير إلى نقطتين مهمتين الأولى التأكيد على صحتها والثانية الدور الامراضي لجين CBS المطفر في نشوء قبل الارتعاج.

Al-Kufa University Journal for Biology / VOL.9 / NO.1 / Year: 2017
Print ISSN: 2073-8854 & Online ISSN: 2311-6544

1100

صورة رقم (2(A و B) حزم ناتج التضاعف الجيني لجين CBS و جين MTHFR في الحامض النووي المعزول من المصابات بقبل الارتعاج (الفضاءات 2-4 و10 ذوات الجين الطبيعي) وذوات الجين المطفر(الفضاءات 5-9 في الموقع (171bp في الصورة A لجين CBS وصورة B لجين MTHFR (2-5 جين طبيعي و6-11 جين مطفر في الموقع (198bp مرحلة بجهاز الترحيل الكهربائي بفولتية 75 ووقت 100 دقيقة والاكاروز 2%.

وأظهرت نتائج التحري عن الطفرة الوراثية (C677T) في جين MTHFR لدى الحوامل المصابات وغير المصابات بهذه المتلازمة حدوثها لدى 41(68.3 %) حامل مصابة بهذه المتلازمة, ولم تظهر لدى 19 (31.7%) من الحوامل المصابات اللاتي تمت دراستهن . من ناحية أخرى فقد أوضحت النتائج حدوث هذه الطفرة لدى سبعة حوامل (17.5%)غير مصابات بقبل الارتعاج (مجموعة السيطرة), بينما لم تظهر هذه الطفرة لدى 33 (82.5%) من الحوامل غير المصابات جدول (5) وصورة(2) وكان الفرق المعنوي عاليا ($P\leq 6.2*10^{-7}$) وبنسبة شذوذ قدرها (10.17) جدول(6) وقد اكدت نتائج Zappacosta وآخرون, (2009) حدوث هذه الطفرة لدى 56% من المريضات المصابات بقبل الارتعاج, في حين ذكر

Almawi وآخرون, (2004)حدوث هذه الطفرة 40% من الحوامل المصابات وقد يعود سبب حدوث هذه الطفرة إلى عمرالحامل والحمل أو العامل العرقي أو البيئي وعوامل أخرى (Gupta وآخرون ,2011).

جدول (5) نتائج تحليل جيني CBS وMTHFR في الحامض النووي الجنيني المعزول من المصابات بقبل الارتعاج وغير المصابات (مجموعة السيطرة)

المجموعة	CBS	MTHFR
المريضات الطافر	(51.7%) 31	(68.3%) 41
الطبيعي	(48.3%) 29	(31.7%)19
السيطرة الطافر	(5%) 2	(17.5%)7
الطبيعي	(95%)38	(82.5%)33

جدول رقم (6) القيمة الشاذة ومربع كاي والفرق المعنوي للجينات CBS,MTHFR

الجينات	القيمة الشاذة Odd Ratio	مربع كاي X.Squra	P value
CBS	20.31	23.639	$1*10^{-7}$
MTHFR	10.17	24.846	$6.2*10^{-7}$

المصادر:

1. Almawi ,W.Y;Ameen, G; Tamim, H; Finan, RR; Irani-Hakime, N.(2004)Factor V G1691A, prothrombin G20210A, MTHFR] and methylenetetrahydrofolate reductase]C677T gene polyorphism in angiographically documented coronary artery disease. J Thromb Thrombolysis 17(3): 199-205.
2. Anonymous. (2002)NationalHigh blood pressure Education Program Working Group report on High blood pressure in pregnancy.*NIHPublicationNO.00-3029* .
3. Bustamante-Aragones, A.; Gonzalez-Gonzalez, C.; de Alba, M. R.;Ainse, E.;Ramos, C. (2010). "Noninvasive prenatal diagnosis using CFFDNA in maternal blood: state of the art . Expert Review. .10 (2): 197-205.
4. Chan, K.C.A.; Zhang, J.; Hui ,A.B.; Wong .; Lau ,T.K.;Leung, T.N.; Lo ,Y.M.D. (2004). Size distributions of maternal fetal DNA in maternal plasma. Clin Chem. 50(1):88–92.
5. Choi, H; Kang, J.Y and Yoon, H.N. (2004*) Association of Angiotensin –Converting Enzyme and Angiotensinogen Gene Polymorphisms with Preeclampsia*. J. Korean Med Sci 19(2):253-257.
6. Engbersen, A.M.T; Franken ,D.G; Boers, G.H.J; Stevens ,E.M.B; Trijbels, J.M.F and Blom, H.J. (1995) Thermolabile 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase as a cause of mild hyperhomocysteinemia. Am J Hum Genet 56(1):142-150.
7. Gupta,G;Gupta,J; Pandey ,S; Pandey,L.K and Saxena,A.K.(2011) role of cell free fetal dna in maternal blood - a prospective role of cβs and mthfr gene as antenatal genetic marker in preeclampsia International Journal of Genetics 3 (2) :PP-62-65.

8. Helszer,Z.; Dmochowska,A.; Szemra,J.;Słowikowska-Hilczer, J.; Wieczorek ,M.; Jędrzejczyk S.; Kałużewski, B.(2013). A novel mutation (c. 341A>G) in the SRY gene in a 46,XY female patient with gonadal dysgenesis. Gene.526 (2):467-70.
9. Hermida,R.C.;Ayala,D.E.; Fernandez,J.R.;Mojon, .;Fernandez,J.R.(2001).Time-Qualified Reference Values for Ambulatory Blood Pressure Monitoring in Pregnancy.38:746-752.
10. Hernández-Díaz,S.; Toh,S.; Cnattingius,S(2009). Risk of pre-eclampsia in first and subsequent pregnancies: prospective cohort study. B.M.J. 338 2255.
11. Hromadnikova, I.; Houbova, B.; Hridelova, D.; Voslarova ,S.; Kofer, J.; Komrska ,V.; Habart, D.(2003). Replicate real-time PCR testing of DNA in maternal plasma increases the sensitivity ofnon-invasive fetal sex determination. Prenat Diagn . 23(3):235–238.
12. Finning, K.M.; Martin, P.G.; Soothill, P.W.; Avent, N.D.(2002). Prediction of fetal D status from maternal plasma: introduction of a new noninvasive fetal RHD genotyping service. Transfusion. 42(8):1079_1085.
13. Khorshid,K.H.R.; Zargari, M.; Sadeghi M.R.; Edallatkhah, H.; Shahhosseiny ,M.H and Kamali, K.(2013). Early fetal gender determination using real-time PCR analysis of cell-free fetal DNA during 6th-10th weeks of gestation. Acta Med Iran. 51 (4):209-14.
14. Leung, T. N.; Zhang, J.; Lau, T. K.; Chan, L. Y and Lo, Y. M. (2001). "Increased maternal plasma fetal DNA concentrations in women who eventually develop preeclampsia". Clinical Chemistry. 47 (1): 137-139.
15. Lo, Y.M.; Corbetta, N.; Chamberlain ,P.F.; Rai, V.;Sargent, I.L.; Redman, C.W.; Wainscoat, J.S.(1997). Presence of fetal DNA in maternal plasma. serum. Lancet. 350(9076):485–487
16. Lo, Y.M.; Tein,M.S.; Lau ,T.K.; Haines, C.J.; Leung, T.N.; Poon, P.M.; Wainscoat, J.S.; Johnson ,P.J.; Chang, A.M.; Hjelm, N.M.(1998). Quantitative analysis of fetal DNA in maternal plasma.; serum: implications for non-invasive prenatal diagnosis. Am. J. Hum Genet. 62(4):768–775. . .
17. Lo, Y.M.D.; Leung, T.N.; Tein M.S.C.; Sargent, I.L.;Zhang ,J.; Lau, T.K. Haines CJ, Redman CW .(1999). Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia. Clin Chem . 45(2):184 -188.
18. North, R.A; McCowan, L.M; Dekker, G.A; Poston, L; Chan ,E.H; Stewart, A.W;Black, M.A; Taylor, R.S; Walker, J.J;Baker, P.N and Kenny, L.C.(2011) Clinical risk prediction for pre-eclampsia in nulliparous women: development of model in international prospective cohort. BMJ7 342(7803): 909.
19. Paltiel ,O; Friedlander, Y. Tiram,*E; candidate*[1], D; *director*,M.B; Xue .X; Harlap,S.(2004) Cancer after pre-eclampsia: follow up of the Jerusalem perinatal study cohort.BMJ328: 919-929.
20. Saftlas, A. F; Olson, D. R; Franks, A. L; Atrash, H. K. and Pokras, R. (1990). Epidemiology of preeclampsia and eclampsia in the United States, 1979-1986. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 163 (2) 460-465.
21. Saxena A.K., Gupta J. et al. (2011) Genetic and Molecular Research. 10(4): 2424-2429.
22. Sibai, B.M.;Barton,J,R(2007).Expectant management of severe preeclampsia remote from term :patient selsction ,treatment ,; delivery indications .Am.J.Obstet Gynecol.196(6):514-519.
23. Simkin,M;Abdalla,M;Haj-Ahmad,Y.(2012).Comparative Study ofPlasma DNAIsolated Using Norgens Plasma /Serum Circulating DNA Purification Kits Versus Qiagens QIAamp DNA Blood Kits Norgen Biotek Corp .61(`1):1-3.
24. Smith, G.C.; Pell ,J.P and Walsh, D.(2001). Pregnancy complications and maternal risk of ischaemic heart disease: a retrospective cohort study of 129,290 births Lancet 357:2002-6.

25. Van der Put N.M.J., van den Heuvel L.P., Steegers- Theunissen P. et al. (1996) *J. Mol*, 74,691-694.
26. Zappacosta,B;Romano,L;Persichilli,S;Cutrone,L.A;Grazino,M;Vitrani,A;Castelnuovo,A.D;Giardina,B;Musumeci,S;Mastroiacovo,P.;(2009) Genotype Prevalence and Allele Frequencies of 5,10-Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) C677T and A1298C Polymorphisms in Italian Newborns .labmedicine ■ 40 (12):732-736.

Study the effect CBS and MTHFR gene mutation for preeclampsia in pregnant women in Najaf

Zahraa Sami Razzaq /A Lecture / Cytogentic /Faculty of Education for girls university of kufa/ Dr.Dhaferah Jaafar Abd-Ali / Assist prof in Cytogenetic/Faculty of Education for girls university of kufa

Dr.Majid khadum Hussein/ Assist prof in Biochemistry /Faculty of medicine university of kufa

Abstrat

This study was conducted to identify the effect of genes CBS and MTHFR in pregnant women preeclampsia.Sixty preeclampsia pregnant women and forty healthy pregnant women as control group dignosed by the physicians at Azzahra Teaching hospital for obstetrics & pediatrics in Najaf province from December 2012 to August 2013 The poly merase chain reactions technique was used to evaluate the incidence and frequency of CBS &MTHFR mutations. The extraction and quantification of cell free fetal DNA (cff DNA) revealed a significant ($P<0.0001$)increase in preeclamptic patients when compared with those of healthy pregnant women . It is confirmed by the use of an internal negative control through the monitoring of SRY gene (Y chromosome gene) amplification that the gene belong to the infant and 40 pregnant woman were followed up till the labor. Thus,9 of them had delivered males, while 30 had delivered females. The wild type SRY gene band was obtained clearly from those of male delivery, but not from those of female delivery..Mutation of CBS gene were analyzed by the use aprimer intendedto amplify afragment of 171bp .The rate of mutation was found to be (51.7% and 5%) in preeclamptic patients and healthy pregnant women respectively and Odd Ratio=20.31,$P \leq 1*10^{-7}$.The C677Tmutation ofMTHFR gene was verified by the use of a primer designed to amplify afragment of 198bp .The prevalence of mutation was indicatedto be 68.3% and 17.5%in the preeclampsia patients and healthy pregnant women resectively and Odd Ratio=10.17.$p\leq 6.2*10^{-7}$ Results demonstrated the wide involvement of CBS and MTHFRgene mutation in the pathogenesis of preeclampsia, but they are no crucial for the development of the disease.

key word:pregnant ,SRY ,CBS,MTHFR gene