مقدمه:

متیلن تترا هیدروفولات ردوکتاز (**MTHFR**) یکی از آنزیم های تنظیمی کلیدی سیتوزولی در متابولیسم فولات و هموسیستئین می باشد و نقش خود را از طریق تبدیل ۵ و۱۰ متیلن تترا هیدروفولات (**CH2-THF**) به ۵ متیل تترا هیدروفولات (**CH3-THF**) اعمال می کند. تغییر در فعالیت آنزیم **MTHFR** با متاثر نمودن میزان هموسیستئین، به عنوان یک ریسک فاکتور در سرم شناخته می شود. افزایش میزان هموسیستئین درسرم زنان باردار، ممکن است سبب افزایش فاکتور های التهابی و در نهایت بروز سقط جنین گردد. فرمیل تترا هیدرو فولات؛ برای سنتز نوکلئوتید های پورین و پیریمیدین بسیار ضروری می باشد، از طرفی **CH3-THF** برای چرخه (در حضور ویتامین **B12**) وابسته به متیلاسیون هوموسیستئین و تبدیل به متیونین مصرف می گردد. در نهایت متیونین تبدیل به **S-**آدنوزیل متیونین شده و بعنوان یک فرم فعال دهنده گروه متیونین در فرایند های ترانس متیلاسیون مانند متیلاسیون نوکلئیک اسید، پروتئین، لیپید و

فسفولیپید، نوروترانسمیتر ها، کراتین،کرانیتین و پلی آمین ها؛ مشارکت می کند. متیلاسیون یکی از مهمترین مکانیسم های موثر بر روی اسپرم ها در طول تکامل و حیات آنها بوده و امروز بسیار مورد توجه محققین قرار گرفته است. با توجه به نبود کیتهای سنجش فعالیت این آنزیم در شرکتهای تجاری خارجی و از طرف دیگر هزینه بالای پژوهش های آنزیمی، هدف از این مطالعه، طراحی و ساخت یک کیت سنجش فعالیت آنزیم **MTHFR** به روش دستی و با استفاده از مواد شیمیایی بصورت ارزان و مقرون به صرفه می باشد.

مواد و روش‌ها:

با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و با استفاده از روش زیر مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا به تمام لوله های آزمایش و همچنین به لوله بلانک فرمالدئید **THF**، و **PBS** افزوده و سپس آنها به مدت ۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه انکوبه شدند. سپس به همه لوله ها **FAD** و آسکوربیک اسید و بتا مرکاپتو اتانل اضافه گردید و ۶ میکرولیتر نمونه به همه لوله ها بجز لوله بلانک اضافه و به مدت ۵ دقیقه در بن ماری ۳۷ درجه قرار داده شدند. در

نهایت به هر یک بجز بلانک **NADPH** اضافه و ورتکس گردید و مجددا در بن ماری ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شدند. بلافاصله نمونه ها در دستگاه سنجش کینتیک آنزیمی قرار داده شده و جذب ها از زمان صفر تا زمان پنجم در طول موج ۳۴۰ نانومتر با اسپکتروفتومتری قرائت گردید.

یافته‌ها:

نتایج نشان داد که میانگین فعالیت **MTHFR** در دو گروه زنان مبتلا به پره اکلامپسی و طبیعی از نظر آماری اختلاف معنی داری دارد (p- value <۰/۰۰۱). همچنین مشخص شد که میانگین فعالیت آنزیمی **MTHFR** در گروه بارور (۳۴/۸۶± ۵۱۵/۶۶) با گروه نابارور (۱۲/۷۵±۳۰۴/۹۰) میباشد و ارتباط معنی داری بین میزان **MTHFR** در دو گروه بارور و نابارور دیده می شود (p- value <۰/۰۱۲).

نتیجه‌گیری:

با کاهش فعالیت آنزیم **MTHFR** و در مقابل افزایش غلظت هموسیستئین در سرم افراد باردار

دچار سقط جنین نسبت به افراد باردار سالم میتوان نتیجه گرفت که تنظیم میزان آنزیم های متابولیسمی از جمله فعالیت آنزیم **MTHFR** نقش بسزایی در کنترل فشار خون و در نتیجه بروز و شدت بیماری سقط جنین دارد و می تواند یک هدف پیشگیری و حتی درمان باشد. همچنین نتایج مطالعه حاضر بر روی مردان بارور و نابارور نشان میدهد که با توجه به اینکه محصول فعالیت **MTHFR** یعنی **SAM** و متیلاسیون در تکامل، مورفولوژی و همراه آن تحرک اسپرم نقش دارند و از طرف دیگر در این مسیر فولیک اسید و ویتامین **B12** نقش بسزایی دارند لذا بنظر میرسد که بحث فعالیت آنزیم **MTHFR** در کنار مباحث ژنتیکی می توانند بعنوان اهداف مهمی در رفع مشکلات ناباروری مورد توجه قرار گیرد.

اهداف کاربردی:

۱. تعیین غلظت های مناسب محلولها جهت سنجش فعالیت آنزیم MTHFR بر روی نمونه های سرمی بیماران و نمونه کنترل

۲. تعیین فعالیت آنزیم MTHFR بر روی نمونه های سرمی بیماران و نمونه کنترل

۳. مقایسه فعالیت آنزیم MTHFR بر روی نمونه های سرمی بیماران و نمونه کنترل

مهم ترین یافته‌ها و پیام‌های پژوهش:

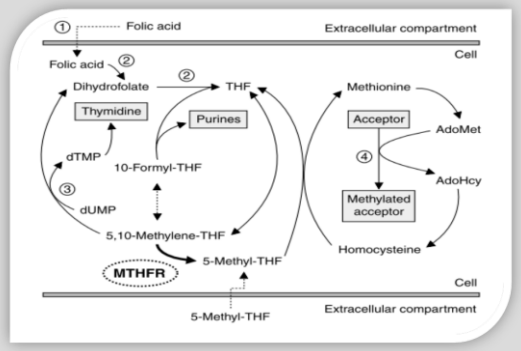
یکی از نوآوری های مطالعه حاضر سنجش فعالیت این آنزیم آن هم بطور دستی و شیمیایی و نه با کیت در سرم زنان باردار و نیز سمن مردان می باشد و از آنجایی که فعالیت آنزیم فرم نهایی و عملکردی آنزیم ها بعنوان یک پروتئین است لذا ارزش کاربردی و بررسی تشخیصی و درمانی بیشتری در آینده نسبت به مباحث پلی مورفسیم خواهد داشت که جزو نوآوری های مطالعه می باشد.

دانشگاه علوم پزشکی همدان

معاونت تحقیقات و فناوری

ساخت کیت سنجش فعالیت آنزیم متیلن تتراهیدروفولات ردوکتاز (MTHFR)

دکتر غلامرضا شفیعی



کد طرح: ۱۴۰۲۰۳۳۰۲۳۳۷