

خون

فصلنامه علمی پژوهشی

دوره ۹ شماره ۱ بهار ۹۱ (۳۵-۲۷)

مقاله پژوهشی

ارتباط چند شکلی ژنی "T/C 5- GP1BA" پروموترزن با سکته قلبی زودرس در بیماران مراجعه کننده به مرکز قلب شهید رجایی تهران

عبدالباسط مولوی^۱، احمد کاظمی^۱، محمد نجفی^۱، محمد مهدی پیغمبری^{۱*}

چکیده سابقه و هدف

چندین چند شکلی ژنی در رابطه با گلیکوپروتئین های پلاکتی به عنوان فاکتور خطر برای بیماری های قلبی - عروقی شناسایی شده است. در این مطالعه نقش چند شکلی ژنی T/C 5- سکانس کوزاک ژن GP1ba ، به عنوان یک فاکتور خطر در سکته قلبی زودرس در بخشی از جمعیت ایرانی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش ها

در یک مطالعه توصیفی مقطعی در سال ۱۳۸۹، ۱۰۰ بیمار سکته قلبی و ۱۰۰ فرد سالم که با آنژیوگرافی، گرفتگی عروق در آنها رد شده بود، بررسی شدند. دو گروه از نظر سن همسان بودند و متعاقب ارزیابی های PCR-RFLP بالینی به وسیله پیشک متخصص انتخاب شدند. توزیع ژنوتیپ افراد مورد مطالعه به وسیله روش SPSS و با استفاده از DNA استخراج شده از گلوبول های سفید انجام گرفت. یافته ها توسط نرم افزار آزمون ۱۳ و آزمون SPSS و آزمون کای دو تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها

بین دو گروه از نظر سن، ابتلا به دیابت و افزایش فشار خون اختلاف معناداری وجود نداشت، ولی تفاوت از نظر جنس، سابقه خانوادگی، استعمال سیگار و افزایش چربی خون، معنادار بود. فراوانی آلل موتانت C و آلل T در جمعیت مورد مطالعه به ترتیب ۰/۱۳ و ۰/۸۷ به دست آمد. بررسی ژنوتیپی و فاکتور خطر در افراد مورد مطالعه، نشان دهنده تاثیر هموژیگوت CC در بروز سکته قلبی زودرس بود (OR= ۰/۰۶ و p= ۰/۵۶)، (CI ۰/۳۱- ۰/۹۵).

نتیجه گیری

با مقایسه آلل موتانت C در دو گروه بیمار و کنترل، ارتباط معناداری بین این آلل و بروز سکته قلبی مشاهده نشد ولی ژنوتیپ CC ممکن است با بروز سکته قلبی زودرس ارتباط داشته باشد.

کلمات کلیدی: سکته قلبی، گلیکوپروتئین، پلیمورفیسم (ژنیک)

تاریخ دریافت : ۱۹/۱۲/۲۵
تاریخ پذیرش : ۹۰/۰۶/۱۵

- ۱- کارشناس ارشد هماتولوژی - بیمارستان حضرت فاطمه زهرا - قشم - ایران
- ۲- مؤلف مسؤول: PhD هماتولوژی - دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران - ایران - صندوق پستی: ۱۴۱۵۵-۶۱۸۳
- ۳- PhD بیوشیمی - استادیار دانشگاه علوم پزشکی تهران - ایران
- ۴- متخصص قلب و عروق - استاد دانشگاه علوم پزشکی تهران - مرکز آموزشی، تحقیقاتی و درمانی قلب و عروق شهید رجایی - تهران - ایران

زیر واحد تشکیل شده است: GPIX ، $\text{GPIb}\alpha$ ، $\text{GPIb}\beta$ و GPV . این زیر واحدها از ژن های متفاوتی ساخته می شوند^(۳). نسبت زنجیره های GPIX و $\text{GPIb}\beta$ ، $\text{GPIb}\alpha$ و GPV مساوی بوده در حالی که تعداد نسخه های GPV نصف بقیه زنجیره ها می باشد. اتصال GPIb/IX/V به vWF از طریق زیر واحد $\text{GPIb}\alpha$ انجام می گیرد، بنابراین این گلیکوپروتئین نقش مهم و حیاتی در فعال شدن و چسبندگی پلاکت دارا مه باشد^(۴).

کمپلکس V/IX/GPIb دو نقش اصلی در هموستاز به عهده دارد که اهمیت آن را مشخص می‌کند: یکی این است که با واسطه WF اتصال پلاکت‌ها به نواحی زیراندوبالیوم آسیب دیده را میانجیگری می‌کند و دیگر این که فعال‌سازی پلاکت‌ها را در غلطت پایین ترومیان تسهیل می‌کند. به علاوه به نظر می‌رسد این کمپلکس، در تولید و سوخت و ساز پلاکت‌ها مشارکت دارد چرا که بیماران دارای نقص در این گلیکوپروتئین، دچار کاهش پلاکت و افزایش اندازه پلاکت می‌باشند.^(۵)

شواهد جمع آوری شده نشان می‌دهد که این گلیکوپروتئین‌های پلاکتی، چند شکلی‌های ژنی دارند که در پیوند با آتروترومبوز بوده و هم چنین با تغییرپذیری در عملکرد پلاکت و تفاوت در حساسیت پلاکت افراد مختلف به داروهای ضد پلاکتی، مرتبه باشند^(۶).

در حال حاضر اهمیت بالینی و اثرات عملکردی چند شکلی ژنی گلیکوپروتئین‌های پلاکتی به منظور جلوگیری از آتروتروموبوز و ارایه فواید درمانی مورد ارزیابی می‌باشد. تاکنون چندین مورد چند شکلی ژنی در ژن α GPIba (GP1BA) شناسایی شده است. یکی از این موارد، چند شکلی ژنی "5-5 T/C" است که در توالی کوزاک قرار داشته و در مقدار بیان و تراکم GPIba در سطح غشای پلاکت نقش دارد(۷). قرارگیری سیتوزین در این موقعیت، باعث افزایش بیان کمپلکس در سطح پلاکت می‌شود(۸). با توجه به نقش کمپلکس در شکل گیری توده‌های پلاکتی القایی توسط تنفس برشی، به نظر می‌رسد چند شکلی ژنی T/C و در نتیجه افزایش بیان کمپلکس در سطح پلاکت، زمینه‌ساز ترومبوزهای شریانی و بروز دهنده بیماری‌های قلبی و عروقی باشد.

مقدمة در وضعیت فیزیولوژیک طبیعی، پلاکت‌های گردش کننده در جریان خون، در حالت استراحت و غیر فعال هستند. آن‌ها به خودی خود تجمع نمی‌کنند و به سلول‌های اندوتیال که سطح داخلی عروق را پوشانیده‌اند، متصل نمی‌شوند. آسیب به یک رگ خونی، باعث می‌شود که لایه زیر اندوتیال آن در معرض جریان خون قرار بگیرد، به طوری که پلاکت‌ها می‌توانند با کلارژن زیر اندوتیال واکنش داده، به آن چسبیده و بر سطح آن تجمع کنند. این توانایی در فعال شدن، مهم‌ترین ویژگی پلاکت‌ها می‌باشد، چون برای اجتناب از تشکیل لخته، آن‌ها نباید به راحتی چسبندگی و تجمع داشته باشند ولی در عین حال باقیستی قادر باشند در مواردی که عروق خونی آسیب می‌یابند، به سرعت فعال شوند تا عملکرد فیزیولوژیک خود را در تشکیل لخته انجام دهند. بنابراین فعالیت پلاکت‌ها باقیستی به دقت تنظیم شود چون فعالیت عملکردی بیش از اندازه و یا ناقص آن‌ها، می‌تواند به ترتیب باعث تمایل به ترومبوز و یا خونریزی شود.

تعدادی از مواد به عنوان فعال کننده پلاکت شناخته می‌شوند که شامل ترومیین، آدنوزین دی‌فسفات (ADP)، کلارازن و اپی‌نفرین می‌باشند. از این میان، کلارازن به علت داشتن فعالیت قوی در القای چسبندگی و تجمع پلاکتی وجود مقادیر زیاد آن در لایه زیر اندوتیال، مهم‌ترین فعال کننده فیزیولوژیک پلاکت می‌باشد. پلاکت‌های فعال شده، نقش مهمی در هموستاز فیزیولوژیک و تشکیل لخته در محل آسیب عروق و آتروترومبوز مانند بیماری شریان کرونر و سکته مغزی بازی می‌کنند^(۲). مسیرهای فعال شدن پلاکت اساساً به وسیله گیرنده‌های غشای پلاکتی به ویژه (Integrin α 2 β 1، GPIa/IX/V، GPIb/IIIa) و (GPIV، α IIb β 3 GPIb/IIIa) می‌انجامیگری می‌شوند. این گلیکوپروتئین‌ها، در عملکردهای مختلف پلاکت در هموستاز فیزیولوژیک و روند آتروترومبوز نظیر اتصال پلاکت به ماتریکس زیر اندوتیال، اتصال محکم و متعاقباً فعال شدن پلاکت و تجمع پلاکتی، مشارکت دارند.

در سطح هر پلاکت حدود ۲۵۰۰۰ نسخه از کمپلکس GP Ib-IX-V وجود دارد. کمپلکس GP Ib/V از چهار

GTG TAC AGG 5' AAG CTC CAG GCA AGG 3' و AGG TTC TCA CTC 3' انجام گرفت.
هر واکنش PCR، حاوی $6\text{--}25 \mu\text{L}$ از مستر میکس (دانمارک، آمپیکون) بود، هر کدام از آغازگرها به میزان $2 \mu\text{L}$ با غلظت $0\text{--}4 \text{ pM}/\mu\text{L}$ و DNA به مقدار $2 \mu\text{L}$ با غلظت $200 \text{ ng}/\mu\text{L}$ بودند که با آب مقطر به حجم نهایی $12/5 \mu\text{L}$ رسانده شدند. جهت انجام PCR توسط دستگاه ترموسایکلر، پس از ۵ دقیقه انکوباسیون در 94°C ، تعداد ۳۵ سیکل با برنامه 30°C ثانیه 30°C و 94°C ثانیه 30°C داده شد. PCR پس از تکثیر شدن قطعه مورد نظر (353 bp)، برای اطمینان از تکثیر شدن PCR شده مورد محقق شده و محصول PCR بر روی ژل آگارز 2% الکتروفورز شده و سپس بعد از تائید تکثیر آنها، نمونه‌های PCR با آنزیم محدودالاثر (Psp5II (PpuMI، فرمتاز، لیتووانی) برای بررسی چند شکلی ژنی ۵T/C-سکانس کوزاک در دمای 37°C بن ماری در محیط بافری به مدت ۱۶ ساعت انکوبه گردید. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، این محصولات هضم شده در کنار محصولات هضم نشده در ژل آگارز 3% حاوی سایبر گرین (DNA safe stain) در بافر $0/5 \times$ Tris Boric acid EDTA (TBE) به مدت ۳۵ دقیقه در ولتاژ ثابت ۱۵۰ ولت الکتروفورز و در دستگاه Gel Documentation System مشاهده گردید. آنزیم Psp5II میکاراد شامل 353 bp حاصل تکثیر توسط PCR را تنها در صورت حضور آلل T-5 -به دو قطعه 162 bp و 191 bp می‌شکند، بنابراین ژنتوتیپ CC اصلاً نمی‌شکند و در صورت وجود ژنتوتیپ TC، سه قطعه 353 bp ، 191 bp و 162 bp ایجاد می‌شود (شکل ۱).

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۳ انجام شد. اطلاعات کمی به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ ارایه گردید. فرضیه توزیع نرمال برای متغیرهای کمی به وسیله آزمون کولموگراف - اسپیرنوف ارزیابی شد. آنالیز آماری جهت مقایسه پارامترهای کلینیکی بین گروههای بیمار و کنترل، به وسیله آزمون t-test انجام گرفت. مقایسه متغیرهای رتبه‌ای بین گروه‌ها و درستی قانون هاردی واینبرگ به وسیله کای دو آزمون شد.

در این مطالعه تلاش شده است نقش چند شکلی ژنی ۵T/C-توالی کوزاک پروموتور ژن GPIba α ، به عنوان یک فاکتور خطر در سکته قلبی زودرس در بخشی از جمعیت ایرانی مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مقطعی در سال ۱۳۸۹، دو گروه همسان از نظر سنی بر اساس معیارهای مطالعه به شرح زیر انتخاب شدند:

الف) گروه کنترل (سالم): بخشی از جامعه مورد پژوهش بودند که بر اساس آژنیوگرافی عروق کرونر، Normal Coronary تشخیص داده شده بودند و عدم گرفتگی عروق قلبی در آنها به وسیله پزشک متخصص قلب تایید شده بود. در این گروه ۱۰۰ مورد از افرادی که با احتمال گرفتگی عروق کرونر، در بیمارستان قلب شهید رجایی تهران پذیرش شده و آژنیوگرافی شده بودند، به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند.

ب) گروه بیماران: بخشی از جامعه مورد پژوهش بودند که بر مبنای معیارهای سازمان بهداشت جهانی به عنوان بیمار سکته قلبی به وسیله ترکیب دو مورد از سه ویژگی زیر توسط پزشک معالج متخصص قلب انتخاب شده بودند:

۱- علایم تیپیک ایسکمی قلبی (به عنوان مثال: درد قفسه سینه). ۲- افزایش آنزیم‌ها (مارکرهای بیوشیمیایی نکروز میوکارد شامل CK-MB و تروپونین T و یا I) ۳- الگوی الکتروکاردیوگرافی تیپیک شامل افزایش قطعه ST و توسعه موج Q.

بین افراد مورد مطالعه رابطه خویشاوندی شناخته شده‌ای مشاهده نشد.

به منظور بررسی چند شکلی ژنی (rs2243093) GPIba α از تمام افراد گروه بیمار و کنترل خون محیطی گرفته و در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. پس از انجام سانتریفوژ با دور متوسط، بافی کوت نمونه‌ها جداسازی و در دمای 20°C -نگهداری شد. NDA QIAamp DNA Mini Kit شرکت کیاژن با استفاده از کیت PCR-RFLP عمل ژنوتایپینگ با روش آلمان استخراج شد. عمل ژنوتایپینگ با روش ۵' TAG TTT TAA GTT و با استفاده از آغازگرهای

جدول ۱: ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه

p value	(n= ۱۰۰) بیمار	(n= ۱۰۰) کنترل	عوامل مستعد کننده
۰/۰۷۲	۴۶/۳۲ ± ۵/۲۰	۴۴/۷۷ ± ۶/۸۰	سن(سال)
۰/۰۰۰۱	٪۸۴	٪۴۱	جنسیت(مرد)(٪)
۰/۰۰۹	٪۳۱	٪۱۶	سابقه خانوادگی CAD (٪)
۰/۱	٪۱۷	٪۱۰	دیابت (٪)
۰/۲۵	٪۲۶	٪۱۴	فشار خون بالا (٪)
۰/۰۰۰۱	٪۴۹	٪۱۰	صرف دخانیات (٪)
۰/۰۵	٪۴۳	٪۲۹	چربی خون بالا (٪)
۰/۰۴۷	۱۸۲/۶۳ ± ۴۸/۲۶	۱۷۰/۲۵ ± ۳۸/۷۶	کلسترول (mg/dL)
۰/۰۱	۱۹۲/۸۶ ± ۱۱۸/۲۳	۱۳۴/۶۰ ± ۵۸/۳۲	تری گلیسرید (mg/dL)
۰/۲	۹۶/۸۵ ± ۲۸/۴۲	۹۱/۶۶ ± ۲۸/۴۹	LDL(mg/dL)
۰/۳	۳۸/۸۶ ± ۹/۴۸	۴۰/۰۵ ± ۹/۱۳	HDL(mg/dL)
۰/۰۰۲	۴۰/۹۵ ± ۲۲/۵۹	۳۱/۱۵ ± ۱۵/۰۶	VLDL(mg/dL)

۱- بیماری عروق کرونر یا مرگ ناگهانی در مرد خویشاوند درجه یک زیر ۵۵ سال و زن خویشاوند درجه یک زیر ۶۵ سال.

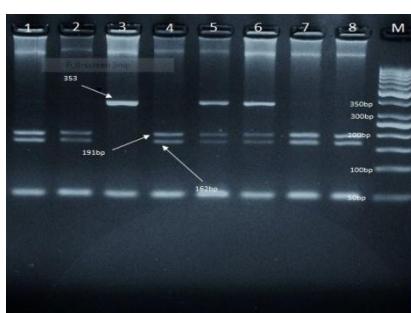
۲- بر اساس تاریخچه دیابت ملیتوس بیمار؛ قند خون ناشتا (FBS) بیشتر از ۱۲۵ (۶/۹ mmol/L) mg/dL و یا مصرف داروهای پایین آورنده گلوکز.

۳- بر اساس تاریخچه فشار خون بالای بیمار؛ فشار خون بالای ۹۰/۱۴۰ mmHg و یا مصرف داروهای ضد فشار خون بالا.

۴- بر اساس تاریخچه بیمار؛ سیگار کشیدن به طور منظم (حداقل ۵ نخ در روز) یا ترک سیگار در ۱۲ ماه گذشته.

۵- بر اساس تاریخچه هایپر لیپیدمی بیمار؛ کلسترول توتال بالای ۲۰۰ mg/dL و یا مصرف داروهای پایین آورنده چربی.

دو گروه تفاوت معنادار نبود(جدول ۱).



شکل ۱: نمونه‌ای از محصولات PCR-RFLP بر روی ژل آکارز ۳% چاهک‌های شماره ۱، ۴، ۲، ۷ و ۸ هموزیگوت T (TT)، باندهای ۵ و ۶ هتروزیگوت (TC) و باند شماره ۳ هموزیگوت C (CC) را نشان می‌دهد.

توزیع فراوانی چند شکلی ژنی 5T/C در جمعیت مورد مطالعه:

توزیع ژنتیکی چند شکلی ژنی 5T/C در گروه بیماران

بر اساس نتایج به دست آمده، بین دو گروه بیمار و کنترل، از نظر سن تفاوت معناداری مشاهده نشد (Mean ± SD گروه بیمار ۴۶/۳۲ ± ۵/۲۰ نسبت به ۴۴/۷۷ گروه کنترل). سابقه خانوادگی بیماری عروق کرونر در گروه بیماران نسبت به کنترل دارای تفاوت معنادار بود (۰/۳۱ به ٪۱۶ و ۰/۰۰۹ p=).

بین دو گروه از نظر ابتلاء به دیابت و فشار خون بالا اختلاف معناداری وجود نداشت. از نظر مصرف سیگار بین دو گروه بیمار و کنترل، تفاوت معنادار بود (۰/۴۹ به ٪۱۰ و ۰/۰۰۰۱ p=). از نظر سابقه ابتلاء به چربی خون بالا بین دو گروه بیمار و کنترل، تفاوت معناداری مشاهده شد (۰/۴۳ به ٪۲۹ و ۰/۰۵ p=). در بررسی پروفایل اندکس‌های چربی خون، در مورد کلسترول، تری گلیسرید و VLDL سرمی اختلاف معناداری بین دو گروه مورد مطالعه وجود داشت (۰/۵ p<). در حالی که در مورد LDL و HDL، بین

ژنتیکی چند شکلی ژنی در بیماران STEMI شامل:٪۷۱/۲، TT =٪۸۱/۵ و CC =٪۱/۴ در مقابل TC =٪۲۷/۴، TT =٪۱۱/۱ و CC =٪۷/۴ در گروه NSTEMI بود(جدول ۳). در نتایج موجود، اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده نشد.

جدول ۳: توزیع فراوانی چند شکلی ژنی T/C-5 در دو گروه NSTEMI و STEMI بیماران

جمع کل	ژنوتیپ (%)			MI-TYPE
	CC	TC	TT	
۷۳	۱	۲۰	۵۲	STEMI
	(۱/۴)	(۲۷/۴)	(۷۱/۲)	
۲۷	۲	۳	۲۲	NSTEMI
	(۷/۴)	(۱۱/۱)	(۸۱/۵)	
۱۰۰	۳	۲۳	۷۴	جمع کل

با استفاده از مدل آماری رگرسیون لوگستیک چندگانه، نقش نسبی هر کدام از متغیرها به عنوان فاکتور خطر در ایجاد سکته قلبی، مشخص شد(جدول ۴).

با توجه به این که فراوانی ژنوتیپ CC در گروه بیماران سه برابر گروه کنترل بود، نقش پلی مورفیسم به صورت TT+TC/CC مورد بررسی قرار گرفت (OR= ۴/۰۳۶). هم چنین برای دیابت (OR= ۲/۹۶۸) و فشار خون (OR= ۱/۸۶۴)، OR قابل توجهی مشاهده شد.

از ۱۰۰ نفر مورد مطالعه، شامل:٪۷۴، TT =٪۲۳ و CC =٪۱۳ بود و در ۱۰۰ نفر گروه کنترل، توزیع ژنوتیپی:٪۲۲، TT =٪۷۷ و CC =٪۱ مشاهده شد(جدول ۴).

جدول ۴: توزیع فراوانی چند شکلی ژنی T/C-5 در جمعیت مورد مطالعه

مطالعه	فرافانی آللی در جمعیت مورد مطالعه		جمعیت مورد مطالعه
	C	T	
بیمار	۰/۱۴	۰/۸۶	
کنترل	۰/۱۲	۰/۸۸	
جمع کل	۰/۱۳	۰/۸۷	

توزیع فراوانی آللی جمعیت مورد مطالعه: فرافانی آلل موتانت C در گروه بیماران ۱۴٪ و در گروه کنترل ۱۲٪ مشاهده شد. در کل جمعیت مورد مطالعه، فرافانی آلل T =۰/۸۷ و فرافانی آلل C =۰/۱۳ بود.

توزیع ژنوتیپی چند شکلی ژنی T/C-5 در جمعیت بیماران NSTEMI و STEMI مورد مطالعه: از ۱۰۰ نفر بیمار مورد مطالعه، ۷۳ نفر با تشخیص سکته ST segment elevation myocardial (STEMI) نوع (infarction) و ۲۷ نفر دارای تشخیص Non ST segment elevation myocardial infarction (NSTEMI) بودند. توزیع

جدول ۴: ارتباط متغیرها با سکته قلبی بر اساس رگرسیون لوگستیک چندگانه

Odds Ratio	p-value	Standard Error	B	متغیر
۰/۹۹۷	۰/۶۷۱	۰/۰۰۷	-۰/۰۰۳	کلسیترول
۱/۸۶۴	۰/۲۵۴	۰/۰۴۶	۰/۶۲۳	فشار خون
۰/۹۴۱	۰/۹۱۰	۰/۰۴۱	-۰/۰۶۱	Sابقه خانوادگی CAD
۰/۱۷۰	۰/۰۰۲	۰/۰۸۵	-۱/۷۷۲	مصرف دخانیات
۱/۱۸۱	۰/۷۴۸	۰/۰۱۸	۰/۱۶۶	چربی خون
۲/۹۶۸	۰/۰۸۰	۰/۰۲۲	۱/۰۸۸	دیابت
۰/۱۶۱	۰/۰۰۰	۰/۰۴۸	-۱/۸۲۹	جنسيت
۰/۹۶۹	۰/۰۴۵	۰/۰۱۶	-۰/۰۳۱	VLDL
۴/۰۳۶	۰/۳۱۶	۱/۰۹۲	۱/۳۹۵	TT+TC/CC

بحث

به دنبال جدا شدن پلاک در محل آترواسکلروز عروق کرونر، ترومبوزهایی بر روی آن سوار می شود که مکانیسم پاتولوژیک اصلی در سندرم‌های حاد کرونر، آنژین ناپایدار، سکته قلبی و مرگ ناگهانی تلقی می شود و با توجه به میزان و وسعت ترومبوز تشکیل شده، نتایج بالینی نهایی را تحت تاثیر قرار می دهد.^(۹)

عملکرد گیرنده‌های GPIb/IX/V در یک محیط با نیروی برشی زیاد و هم چنین تغییر در اتصال به γWF به علت دگرگونی در ساختار و یا میزان بیان سطحی گیرنده، ممکن است با ترومبوزهای کرونر و متعاقب آن سکته قلبی همراه باشد.

فرض بر این است که چند شکلی ژنی‌های T/C 5- در سکانس کوزاک از ژن GP1BA، ممکن است میزان چسبندگی پلاکت را در عروق ریز تغییر دهد. اگر این فرض درست باشد، احتمال می‌رود که توزیع ژنتیکی به طور معناداری بین گروه بیماران سکته قلبی و گروه کترل تفاوت مهمی نداشته است. هم چنین فراوانی چند شکلی ژنی در افراد زیر ۶۰ سال نیز در گروه بیماران تفاوتی با گروه کترل نداشته است. در این مطالعه ادعا شده است که فراوانی آلل C در جمعیت آسیای خاوری بیشتر از بقیه جمعیت‌ها می‌باشد. فراوانی آلل C در جمعیت ژاپنی ۲۸/۳٪ و در جمعیت کره‌ای ۲۱/۹٪ گزارش شده است.^(۱۰).

فراوانی آلل موتانت C-5 از این ژن در جمعیت‌های مختلف تفاوت چندان زیادی با یکدیگر ندارند و در همه مطالعه‌ها، فراوانی آلل C کمتر از آلل T آن گزارش شده است.

برای مثال فراوانی آلل C در سفیدپوستان فرانسوی ۱۳/۲٪، در جمعیت فلاندی ۱۷/۱٪، بریتانیایی ۱۳/۷٪، آمریکایی‌های آفریقایی تبار ۱۷/۱٪، بومیان استرالیا ۷/۹٪ و در جمعیت ژاپنی ۲۸/۳٪ گزارش شده است.^(۱۱).

در مطالعه کنونی، فراوانی آلل C در گروه کترل ۱۲٪، در گروه بیماران سکته قلبی ۱۴/۵٪ و در مجموع دو گروه ۱۳/۲٪ بود که در مقایسه با جمعیت‌های دیگر، با جمعیت سفیدپوست فرانسه و بریتانیا هم خوانی بیشتری داشت. هم چنین از لحاظ وجود یا عدم وجود ارتباط بین آلل پلی‌مورفیک با سکته قلبی زودرس، نتایج زیر حاصل شد:

در مطالعه ای اولین بار در جمعیت ایرانی مورد مطالعه قرار گرفت. در گزارش‌هایی که در مطالعه‌های قبلی در کشورها و جمعیت‌های مختلف انجام شده، آمارها و نتایج مختلفی در مورد وجود یا عدم وجود رابطه بین این چند شکلی ژنی و بیماری ارایه شده است.^(۶).

در مطالعه‌ای که توسط آیشیدا و همکارانش در سال ۲۰۰۰ در ژاپن انجام شد، ۳۱۴ نفر با قومیت ژاپنی و کره‌ای مورد مطالعه قرار گرفتند که ۱۵۶ بیمار آنژیوگرافی شده با تشخیص بیماری شریان کرونر (CAD) و ۱۵۸ فرد سالم بودند. بیماران شامل ۱۰۷ مورد سکته قلبی، ۱۶ مورد آنژین ناپایدار و ۳۳ مورد آنژین پایدار بودند. متوسط سن بیماران ۵۹/۳ سال و متوسط سن افراد کترل ۵۱/۵ سال گزارش شده بود. نتیجه‌ای که این گروه ارایه کردند مبنی بر این بود که فراوانی چند شکلی ژنی در بین بیماران و گروه کترل تفاوت مهمی نداشته است. هم چنین فراوانی چند شکلی ژنی در افراد زیر ۶۰ سال نیز در گروه بیماران تفاوتی با گروه کترل نداشته است. در این مطالعه ادعا شده است که فراوانی آلل C در جمعیت آسیای خاوری بیشتر از بقیه جمعیت‌ها می‌باشد. فراوانی آلل C در جمعیت ژاپنی ۲۸/۳٪ و در جمعیت کره‌ای ۲۱/۹٪ گزارش شده است.^(۱۲).

فراوانی آلل موتانت C-5 از این ژن در جمعیت‌های مختلف تفاوت چندان زیادی با یکدیگر ندارند و در همه مطالعه‌ها، فراوانی آلل C کمتر از آلل T آن گزارش شده است.

برای مثال فراوانی آلل C در سفیدپوستان فرانسوی ۱۳/۲٪، در جمعیت فلاندی ۱۷/۱٪، بریتانیایی ۱۳/۷٪، آمریکایی‌های آفریقایی تبار ۱۷/۱٪، بومیان استرالیا ۷/۹٪ و در جمعیت ژاپنی ۲۸/۳٪ گزارش شده است.^(۱۱).

در مطالعه کنونی، فراوانی آller C در گروه کترل ۱۲٪، در گروه بیماران سکته قلبی ۱۴/۵٪ و در مجموع دو گروه ۱۳/۲٪ بود که در مقایسه با جمعیت‌های دیگر، با جمعیت سفیدپوست فرانسه و بریتانیا هم خوانی بیشتری داشت.

هم چنین از لحاظ وجود یا عدم وجود ارتباط بین آلل پلی‌مورفیک با سکته قلبی زودرس، نتایج زیر حاصل شد:

در مورد آلل T/C 5-، با توجه به OR، p-value و

تشکیل لخته در محل گسیلن پلاک آترواسکلروتیک، یک مشخصه غالب در سندرم‌های حاد کرونر می‌باشد. مداخلات کرونر که با آسیب به پوشش اندوتیالی محافظ در دیواره شریان‌ها همراه است، این شریان‌ها را برای ترومبوز مستعد می‌کند.

چسبندگی و تجمع پلاکتی و ترومبوز ممکن است منجر به آنژین ناپایدار و پیشرفت به سوی سکته قلبی شود. تماس بین GPIb/IX/V و γWF ، یک گام اساسی در این روند می‌باشد. بنابراین این مساله که در حاملین آلل C-5C افزایش خطر برای سندرم‌های حاد کرونر مشاهده شود، امری غیر قابل انتظار نیست.^(۱۱).

در این مطالعه چند شکلی ژنی T/C 5- سکانس کوزاک از ژن GP1BA در بین بیماران سکته قلبی زودرس و افراد

بیماران از ۳ مورد ژنوتیپ CC یافت شده، ۱ مورد دارای STEMI و ۲ مورد دارای NSTEMI بودند. البته برای اظهار نظر در مورد ارتباط ژنوتیپ CC با NSTEMI نیاز به مطالعه با تعداد بیشتری از بیماران می‌باشد.

تاکنون مطالعه‌های متعددی بر روی چند شکلی ژنی‌های ژن GP1BA و ارتباط آن با بیماری‌های ترومبوتیک مختلف مانند بیماری شریان کرونر، سکته قلبی و سکته مغزی انجام شده است که قسمت عمده آن بر روی چند شکلی ژنی T/C-5 از سکانس کوزاک این ژن بوده است.

همان طور که قبلًا اشاره شد، علی‌رغم این که مطالعه‌های متعددی در جمیعت‌های مختلف در مورد ارتباط این چند شکلی ژنی و بیماری‌های ترومبوتیک به ویژه سکته قلبی انجام شده است، نتایجی متفاوت و گاهی متضاد با یکدیگر گزارش شده است.

در سال ۲۰۰۲ نتایج یک مطالعه دیگر که در انگلستان انجام شده بود و توسط دوگلاس و همکارانش منتشر شد، نتیجه‌ای عکس مطالعه انجام شده توسط میشل ارایه نمود. آن‌ها ۲۵۶ بیمار بین سنین ۳۳-۸۰ سال (شامل ۱۸۰ سفیدپوست و ۷۶ هندی تبار) که به تازگی عمل کاتتراسیون قلب تشخیصی بر روی آن‌ها انجام گرفته بود را، مورد مطالعه قرار دادند. بیماران را به دو گروه A و B تقسیم کردند. گروه A بیمارانی بودند که بر اساس ECG و پرتونگاری بطنی قلب، قبلًا سکته قلبی در آن‌ها تایید شده بود و گروه B بیمارانی بودند که شواهدی مبنی بر سکته قلبی در آن‌ها وجود نداشت. در مطالعه‌ای که برای تعیین ژنوتیپ چند شکلی ژنی T/C-5 بر روی این دو گروه انجام گرفت، آنالیز ژنوتیپ‌ها ارتباط قوی بین ژنوتیپ هموزیگوت TT و وقوع سکته قلبی نشان داد (در گروه A: ۵C-5C بود که آن ۱۰۰۰ فرد سالم به عنوان کنترل که از نظر جنسیت و سن با گروه بیماران یکسان بودند، برای این چند شکلی ژنی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتیجه‌ای که گزارش شد این بود که آن ۵C-5C از این چند شکلی ژنی، ممکن است به عنوان فاکتور خطر در شرایط بالینی که در آن ترومبوز نقش مهمی بازی می‌کند، نظیر سکته قلبی، عمل کند (۱۳).)

لذا در این مطالعه، میزان بروز ژنوتیپ CC در بیماران سکته قلبی نوع STEMI و NSTEMI مورد بررسی قرار گرفت که نتایج جالب توجهی مشاهده شد:

از ۱۰۰ بیمار سکته قلبی مورد مطالعه، ۷۳ نفر STEMI و تنها ۲۷ نفر NSTEMI، داشتند در حالی که در این گروه کنترل بود (میزان ۱۴/۵٪ نسبت به ۱۲٪). با توجه به این که بررسی آللی هر دو فرم ژنوتیپی، هموزیگوت C (CC) و هتروزیگوت را در بر می‌گیرد، در این مطالعه اقدام به بررسی نسبت فراوانی ژنوتیپ CC به عنوان آلل هموزیگوت موتانت در گروه بیماران و گروه کنترل شد و مشاهده گردید که از تعداد ۴ مورد هموزیگوت C، ۳ مورد آن متعلق به گروه بیماران و تنها یک مورد آن در گروه کنترل قرار داشت.

در نتیجه این فرضیه مطرح شد که ژنوتیپ هموزیگوت CC می‌تواند در بیماری‌زایی نقش داشته باشد. بنابراین OR (٪۹۵)، برای چنین حالتی محاسبه شد که نتایج به دست آمده حاکی از تاثیرپذیری ژنوتیپ CC بر بروز سکته قلبی بود (برای ۰/۳۱-۲۹/۹۴٪ = ۰/۹۵٪) و CI (٪۹۵) = ۳/۰۶. هم چنین زمانی که نسبت به محاسبه نقش هر کدام از متغیرها با استفاده از مدل آماری رگرسیون لوگستیک چندگانه اقدام گردید، برای فرم CC نسبت به TT + TC، $OR = 4/03$ به دست آمد که حتی بیشتر از مقدار به دست آمده برای دیابت (OR = ۲/۹۶) و فشار خون بالا (OR = ۱/۸۶) می‌باشد.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۱ در آلمان توسط میشل و همکارانش انجام گرفت، ۱۰۰۰ بیمار مبتلا به بیماری شریان کرونر که بیماری آن‌ها با آنتیوگرافی تایید شده بود، در کنار ۱۰۰۰ فرد سالم به عنوان کنترل که از نظر جنسیت و سن با گروه بیماران یکسان بودند، برای این چند شکلی ژنی مورد مطالعه قرار گرفتند. نتیجه‌ای که گزارش شد این بود که آن ۵C-5C از این چند شکلی ژنی، ممکن است به عنوان فاکتور خطر در شرایط بالینی که در آن ترومبوز نقش مهمی بازی می‌کند، نظیر سکته قلبی، عمل کند (۱۳).

از ۱۰۰ بیمار سکته قلبی مورد مطالعه، ۷۳ نفر STEMI و تنها ۲۷ نفر NSTEMI، داشتند در حالی که در این

مورد وجود ندارد. مطالعه حاضر از نظر نتیجه به دست آمده به مطالعه‌هایی مانند مطالعه میشل که معتقد به وجود ارتباط بین آلل C و بیماری‌های ترومبوزدهنده مانند سکته قلبی می‌باشد، نزدیکتر است. البته با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه شاید بتوان گفت آلل C در فرم هموژیگوت خود می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر عمل کند و در حالت هتروژیگوت TC چندان تفاوتی با فرم هموژیگوت TT به عنوان آلل وحشی این چند شکلی ژنی نداشته باشد.

گروه B که گروه کنترل محسوب می‌شود، هیچ موردی از ژنوتیپ CC وجود نداشته است، با توجه به این که بروز آلل C باعث افزایش بیان سطح سلولی GPIba می‌شود، این یافته می‌تواند مؤید نقش بیماری‌زای این ژنوتیپ باشد، هر چند ارایه‌دهنگان این مطالعه چنین استنباطی ندارند.

نتیجه‌گیری

همان طور که گفته شد، مطالعه‌های مختلف نتایج متفاوتی از ارتباط چند شکلی ژنی با بیماری‌های ترومبوزدهنده گزارش کرده‌اند و هنوز اتفاق نظری در این

References :

- Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340(2): 115-26.
- Jurk K, Kehrel BE. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31(4): 381-92.
- Siedlecki CA, Lestini BJ, Kottke-Marchant KK, Eppell SJ, Wilson DL, Marchant RE. Shear-dependent changes in the three-dimensional structure of human von Willebrand factor. *Blood* 1996; 88(8): 2939-50.
- Girma JP, Takahashi Y, Yoshioka A, Diaz J, Meyer D. Ristocetin and botrocetin involve two distinct domains of von Willebrand factor for binding to platelet membrane glycoprotein Ib. *Thromb Haemost* 1990; 64(2): 326-32.
- López JA, Andrews RK, Afshar-Kharghan V, Berndt MC. Bernard-Soulier syndrome. *Blood* 1998; 91(12): 4397-418.
- Meisel C, López JA, Stangl K. Role of platelet glycoprotein polymorphisms in cardiovascular diseases. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 2004; 369(1): 38-54.
- Kuijpers RW, Faber NM, Cuypers HT, Ouwehand WH, von dem Borne AE. NH2-terminal globular domain of human platelet glycoprotein Ib alpha has a methionine 145/threonine145 amino acid polymorphism, which is associated with the HPA-2 (Ko) alloantigens. *J Clin Invest* 1992; 89(2): 381-4.
- Douglas H, Michaelides K, Gorog DA, Durante-Mangoni E, Ahmed N, Davies GJ, et al. Platelet membrane glycoprotein Ibalpha gene -5T/C Kozak sequence polymorphism as an independent risk factor for the occurrence of coronary thrombosis. *Heart* 2002; 87(1): 70-4.
- Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH. The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes. *N Engl J Med* 1992; 326(5): 310-8.
- Afshar-Kharghan V, Li CQ, Khoshnevis-Asl M, López JA. Kozak sequence polymorphism of the glycoprotein (GP) Ibalpha gene is a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GP Ib-IX-V complex. *Blood* 1999; 94(1): 186-91.
- Afshar-Kharghan V, Li CQ, Khoshnevis-Asl M, López JA. Kozak sequence polymorphism of the glycoprotein (GP) Ibalpha gene is a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GP Ib-IX-Vcomplex. *Blood* 1999; 94(1): 186-91.
- Ishida F, Ito T, Takei M, Shimodaira S, Kitano K, Kiyosawa K. Genetic linkage of Kozak sequence polymorphism of the platelet glycoprotein Ib alpha with human platelet antigen-2 and variable number of tandem repeats polymorphism, and its relationship with coronary artery disease. *Br J Haematol* 2000; 111(4), 1247-9.
- Meisel C, Afshar-Kharghan V, Cascorbi I, Laule M, Stangl V, Felix SB, et al. Role of Kozak sequence polymorphism of platelet glycoprotein Ibalpha as a risk factor for coronary artery disease and catheter interventions. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38(4): 1023-7.

Original Article

Relationship between -5T/C polymorphism of platelet GP1BA gene promoter and premature acute myocardial infarction in patients referred to Rajaee Heart Center

Molavi A.¹, Kazemi A.², Najafi M.², Peyghambari MM.^{2,3}

¹Fatima Zahra Hospital, Gheshm, Iran

²Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³Shahid Rajaee Cardiovascular Medical & Research Center, Tehran, Iran

Abstract

Background and Objectives

Some platelet membrane glycoprotein gene polymorphisms have been reported as potential factors related to cardiovascular complications. Recently, the -5T/C polymorphism located at the initiation element (Kozak sequence) of the platelet glycoprotein Iba (GPIba) translation was suggested to increase the platelet surface levels of GPIb-IX-V receptor; however, its function in the occurrence of arterial thrombotic disease is unknown. In this study, we evaluated the role of the GP Iba -5T/C polymorphism in premature myocardial infarction among Iranian patients.

Materials and Methods

Two hundred subjects who underwent coronary angiography were studied on the basis of the study protocol through 2010. Patients (n=100) selected by WHO criteria and matched on age parameter with controls (n=100; Men <50 years old and Women> 55 years old). The genotype distribution of GP Iba -5T/C polymorphism was evaluated by PCR-RLFP technique.

Results

There were no significant differences in age, hypertension, and diabetes between the patients and controls. However, the sex, family history of CAD, smoking and hyperlipidemia had a significant difference between the two groups. The allele frequencies of C and T were calculated to be 0.13 and 0.87, respectively. In addition, the CC genotype showed to be a potential factor for the occurrence of myocardial infarction (p=0.56, OR = 3.06 , CI(95%) = 0.31-29.94).

Conclusions

Although no significant association was observed between the -5C/T polymorphism and premature myocardial infarction, we considered that the C allele may be an effective factor for premature myocardial infarction.

Key words: Myocardial Infarction, Glycoprotein, Polymorphism(Genetics)

Received: 16 Mar 2011

Accepted: 6 Sep 2011

Correspondence: Kazemi A., PhD of Hematology. Associate Professor of Hematology Department, Tehran University of Medical Sciences.
P.O.Box: 14155-6183, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 88622576; Fax : (+9821) 88054355
E-mail: a-kazemi@tums.ac.ir