خون
فصلنامه پژوهشی
دوره ۱۱ شماره ۴ زمستان ۹۳ (۲۹۴-۲۸۶)
مقاله پژوهشی

ارتباط بین پلی‌مورفیسم G-436 A (rs2333227) در پروموتر ژن میلوپراکسیداز و خطر ابتلا به گرفتگی عروق کرونر در بیماران ایرانی

پریسا محمدی[۱]، سعیده سلیمانی[۲]، زهره شریفی[۳]، آذین نوروزی[۴]، محمد نجفی[۵]

چکیده

سابقه و هدف

میلوپراکسیداز(MPO)، آنزیمی است که از لوکوسیت‌های چند هسته‌ای آزاد شده و یک عامل شناخته شده در بروز اختلالات التهابی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژنی است. در این مطالعه ارتباط بین پلی مورفیسم rs 2333227 (G-436 A) در پروموتر MPO و خطر ابتلا به تنگی عروق کرونر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه مقطعی، در مجموع ۱۶۰ نفر از جمعیت ایرانی(بیماران ۸۶ نفر و گروه شاهد ۷۴ نفر) بر اساس معیارهای مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. DNA از سلول‌های سفید خون استخراج شد و توزیع ژنوتیپ با استفاده از روش RFLP-PCR مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها توسط آزمون‌های t و کای‌دو و نرم‌افزار ۱۶ SPSS تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

فراوانی ژنوتیپ‌ها در جمعیت مورد مطالعه به صورت GG = ٪۵۳/۷ ، AG = ٪۳۹/۴ و AA = ٪۶/۹۰ بود. در فراوانی ژنوتیپی بین دو گروه و نیز بین افراد بیمار با یک، دو و سه رگ کرونری گرفته شده تفاوت معناداری مشاهده نشد. فراوانی آلل A در جمعیت بیمار ٪۲۵/۶ و در گروه کنترل ٪۲۷/۴ به دست آمد.

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج ما نشان دادند که در جمعیت مورد مطالعه ایرانی، توزیع ژنوتیپی و توزیع آللی در ایجاد تنگی عروق کرونر و هم‌چنین شدت آن نقشی ندارد.

کلمات کلیدی: **بیماری عروق کرونر، گونه‌های فعال اکسیژنی، تنگی عروق کرونر، فاکتورهای خطر**

تاریخ دریافت : ۹۲/۱۱/۲
تاریخ پذیرش : ۹۳/۳/۲۴

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی ـ دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی تکوین ـ مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۳- PhD ویروس‌شناسی ـ دانشیار مرکز تحقیقات انتقال خون ـ مؤسسه عالی آموزشی و پژوهشی طب انتقال خون ـ تهران ـ ایران
۴- PhD بیوشیمی ـ دانشگاه علوم پزشکی تهران ـ تهران ـ ایران
۵- مؤلف مسؤول: PhD بیوشیمی ـ دانشیار گروه بیوشیمی ـ مرکز تحقیقات ایمونولوژی دانشگاه علوم پزشکی ایران ـ تهران ـ ایران ـ صندوق پستی: ۵۹۸۳-۱۴۱۵۵

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

مقدمه

میلوپراکسیداز(MPO)، یک آنزیم گرانولی در لوکوسیت‌های چند هسته‌ای است که ۵٪ وزنی این سلول‌ها را تشکیل می‌دهد(۱). این آنزیم از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژنی(ROS)، نقش مهمی در فعالیت ضد میکروبی وابسته به اکسیژن دارد(۴-۲). تحریک لوکوسیت‌های چند هسته‌ای موجب انفجار تنفسی می‌شود و با تولید گونه‌های فعال از جمله HClo ، OH ، O_2 و ... و نیز فعال‌سازی آنزیم‌هایی هم چون الاستاز، NADPH اکسیداز و MPO همراه است(۱). از آن جایی که MPO نهایتاً موجب تولید گونه‌های فعال و اکسیداسیون مولکول‌های حیاتی مانند لیپید، پروتئین و ... می‌شود نقش مهمی در سیستم ایمنی و تنظیم التهاب ایفا می‌کند(۵).

MPO (GeneID: 4353)، یک تترامر ۱۵۰ کیلو دالتونی است که از دو رشته سنگین و دو رشته سبک ساخته شده است (PDB: 1CXP) . پیش‌ساز ۹۰ کیلو دالتونی این آنزیم، دارای ۷۴۵ آمینواسید می‌باشد که طی فرآیند پروتئولیز به دو رشته سبک و سنگین شکسته می‌شود. حاصل اتصال این دو رشته، دایمری می‌شود که توسط اتصال دی‌سولفید به دایمر دیگر متصل و تترامر حاصل می‌شود(۶). ژن این آنزیم در ناحیه 17q23.1 قرار دارد و طول آن(bp ۱۱۰۸۰) ۱۱/۰۸۰ کیلو باز است. این ژن شامل ۱۲ اگزون و ۱۱ اینترون می‌باشد(۷).

نتایج برخی مطالعه‌ها نشان می‌دهد که MPO ممکن است یک بیومارکر برای سنجش خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی باشد و سطح سرمی این آنزیم، خطر انفارکتوس میوکارد را پیش‌بینی کند(۱۰-۸). به طوری که افراد با نقص در آنزیم MPO ، خطر کمتری در ابتلا به بیماری‌های قلبی ـ عروقی(CAD) دارند(۵).

MPO از طریق کمک به اکسیداسیون LDL و تسریع در تشکیل سلول کف‌آلود، کمک به اکسیداسیون HDL و غیر فعال‌سازی آن، ایجاد اختلال در عملکرد سلول‌های اندوتلیال به علت کاهش نیتریک اکسید در دسترس، فعال‌سازی متالوپروتئیناز ۷ و افزایش آپوپتوز سلول‌های عروقی که به جدا شدن و جابه‌جایی پلاک کمک می‌کند، خطر تصلب شرایین را افزایش می‌دهد(۱۱-۹ ، ۷).

میزان MPO در خون با سطح سلول‌های ایمنی، جنس، سن و بیماری‌های التهابی تغییر می‌نماید(۵). مطالعه‌های مختلفی بر روی پلی‌مورفیسم‌های این آنزیم و ارتباط آن‌ها با بیماری‌های مختلف به خصوص بیماری‌های التهابی صورت گرفته است(۱۲-۹، ۴، ۲). به طور کلی تعداد SNPهایی که تاکنون در این ژن شناسایی شده، ۳۱۵ جایگاه می‌باشد که ۱۰۴ جایگاه آن در منطقه کد شونده و ۳۵ جایگاه در پروموتر قرار دارد (http://www. ncbi. nlm. nih. gov/snp). یکی از جایگاه‌هایی که در مطالعه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته، پلی‌مورفیسم rs2333227G/A است که در پروموتر آنزیم قرار دارد. این SNP در مجاورت جایگاه اتصال فاکتور رونویسی Sp1 قرار داشته و احتمال می‌رود پلی‌مورفیسم در این جایگاه، که bp ۴۶۳ بالا دست محل شروع رونویسی است، بر بیان ژن و در نتیجه بر خطر برخی بیماری‌ها مؤثر باشد(۱۳). با توجه به این که نتایج مطالعه‌ها در این زمینه متفاوت می‌باشد، در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم rs2333227G/A با تنگی عروق کرونر مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه:

مطالعه از نوع بررسی مقطعی مقایسه‌ای(Comparative-descriptive study) بود. افراد مورد مطالعه در این پژوهش را مراجعه‌کنندگان به بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص) تشکیل می‌دادند که بعد از انجام عمل آنژیوگرافی و با نظر پزشک متخصص قلب، در دو گروه کنترل و بیمار جای می‌گرفتند. گروه کنترل(۷۴ نفر) شامل افرادی بود که بعد از انجام عمل آنژیوگرافی گرفتگی عروق کرونر آن‌ها کمتر از ۵٪ بود. گروه بیمار شامل ۸۶ نفر از افراد مورد مطالعه می‌شد که دارای گرفتگی عروق کرونر به میزان بیشتر از ۵۰٪ بودند و بر حسب شدت تنگی عروق در یکی از گروه‌های زیر قرار می‌گرفتند؛ بیماران با تنگی در یکی از عروق کرونر(1VD)، بیماران با تنگی در دو تا از عروق کرونر(2VD)، بیماران با تنگی در سه تا از عروق کرونر(3VD). از تمامی افرادی که وارد مطالعه می‌شدند، رضایت‌نامه کتبی گرفته شد و افراد سالم و بیمار با سابقه

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

پزشکی هیپرکلسترولمی، افراد مبتلا به دیابت، MI (حداقل تا سه ماه قبل از پژوهش) و نارسایی کلیوی و نیز افرادی که رضایت به همکاری نداشتند و یا دارای فرم جمع‌آوری اطلاعات ناقص یا تایید نشده توسط پزشک متخصص بودند، از مطالعه خارج شدند. اما در بررسی پرونده بیمار، بیماری‌های التهابی از جمله لوپوس و اتوایمیون ثبت نشده بود.

نمونه گیری و استخراج:

به منظور بررسی چند شکلی(rs2333227 G>A) که در موقعیت ۴۶۳- پروموتر ژن MPO واقع شده، از تمام افراد گروه بیمار و کنترل ۵ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد و در لوله‌های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. اطلاعات دموگرافیک و نیز پروفایل لیپیدی از پرونده پزشکی بیماران گردآوری شد. پس از انجام سانتریفوژ (۳۰۰۰rpm و ۱۵ دقیقه)، بافی‌کوت نمونه‌ها جداسازی و در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس DNA نمونه‌ها با استفاده از روش استخراج نمکی(Salting Out) مطرح شده توسط میلر و همکارانش استخراج شد و ژنوتایپینگ جایگاه مذکور با استفاده از روش PCR-RFLP صورت گرفت(۱۴).

روش ژنوتایپینگ:

بعد از گرفتن توالی ژن MPO از NCBI ، آغازگرهای لازم برای تکثیر قطعه حاوی این پلی‌مورفیسم با کمک نرم‌افزار Genamics Expression طراحی گردید و صحت موقعیت این آغازگرها با استفاده از برنامه Primer Blast (ncbi Database) مورد بررسی قرار گرفت.

آغازگرها(5-CCTTTCAAAGGAACCCTGGATAA-3 و3 - CCCTAGCCTCTAGCCACATCATCA – 5) در شرکت متابیون آلمان ساخته شدند و هریک با غلظت نهایی ۱ میکرومولار مورد استفاده قرار گرفتند. حجم نهایی هر واکنش PCR ، ۲۵ µL بود که در هر میکروتیوب ۲ µL نمونه و ۲۳ µL مسترمیکس ریخته شد و پس از ورتکس نمودن هریک از میکروتیوب‌ها، نمونه‌ها در ترموسایکلر تکثیر گردیدند. مقدار هر ترکیب در هر میکروتیوب بدین شرح بود: ۲/۵ µL بافر ۱۰X، ۱/۵ µL (۱/۵ mM) $MgCl_2$ ، ۱/۵ µL (۱۰ mM each) dNTP ، هر یک از آغازگرها µL ۲/۵ ، ۲/۵ U آنزیم تگ پلی‌مراز(پاستور، ایران)، آب µL ۲/۵، واکنشگرها در ترموسایکلر(اپندورف آلمان) در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شدند. سپس تعداد ۳۵ سیکل با برنامه ۳۰ ثانیه ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱:۳۰ ثانیه ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۱ دقیقه ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام شد و ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از تکثیر برای اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر(۳۶۱ bp)، ۵ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شد و پس از تایید تکثیر آن‌ها، نمونه‌های PCR شده به منظور بررسی چند شکلی G/A در ناحیه پروموتر ژن MPO به شرح زیر مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۱۰ U آنزیم محدود بر SsiI (AciI) (فرمنتاز لهستان)، ۲µL بافر O X ۱۰، ۱۸ µL آب دیونیزه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد بنماری در محیط بافری به مدت ۱۶ ساعت انکوبه گردید. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، این محصولات هضم شده در کنار محصولات هضم نشده، روی ژل آگارز ۳٪ حاوی DNA Green viewer (پاستور، ایران) و ۱ X TBE (pH = ۸ ، Tris Boric acid EDTA) به مدت ۴۰ دقیقه در ولتاژ ثابت ۱۲۰ ولت، الکتروفورز گردید و در دستگاه Geldoc مشاهده شد. آنزیم AciI محصول ۳۶۱ جفت باز به دست آمده از PCR را تنها در حضور آلل G برش می‌دهد. بنابراین DNA حاصل از انکوباسیون آنزیمی بر روی ژل آگارز(۳٪) ۳ حالت را نشان می‌دهد : ژنوتیپ GG دو قطعه(۲۰۳ bp + ۱۵۸ bp) روی ژل نشان می‌دهد، در ژنوتیپ AA برشی صورت نمی‌گیرد بنابراین همان قطعه ۳۶۱ جفت بازی را نشان می‌دهد و ژنوتیپ AG شامل هر سه قطعه می‌باشد.

محاسبات آماری:

با استفاده از نرم‌افزار SPSS ۱۶ یافته‌ها تجزیه و تحلیل شدند. اطلاعات کمی به صورت Mean ± SD ارایه گردید. آنالیز آماری جهت مقایسه پارامترهای کلینیکی بین گروه‌ها با استفاده از آزمون t-test و مقایسه متغیرهای رتبه‌ای بین

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

گروه‌ها و درستی قانون هاردی واینبرگ با استفاده از آزمون کای‌دو انجام شد. از رگرسیون برای بررسی رابطه خطر فاکتورها با بیماری استفاده شد.

یافته‌ها

اطلاعات دموگرافیک گروه‌های مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. بر اساس این نتایج، بین دو گروه بیمار و کنترل، از نظر سن تفاوت معنادار بود(گروه بیمار ۱۶/۱۲ ± ۵۴/۵۱ سال و گروه کنترل ۱۲/۶۳ ± ۶۱/۲۸ سال، p< ۰/۰۱).

هم چنین مقدار لیپوپروتئین با چگالی پایین در گروه بیمار(mg/dL ۳۰/۹۱ ± ۱۱۵/۵) و در گروه کنترل(mg/dL ۳۱/۲۱ ± ۹۶/۳۲) و کلسترول در گروه بیمار(mg/dL ۳۹/۹۹ ± ۱۶۴/۷) و در گروه کنترل(mg/dL ۳۸/۰۷ ± ۱۸۰/۵) اختلاف معناداری داشت(p= ۰/۰۱). اما از نظر ابتلا به دیابت و فشار خون بالا تفاوت معناداری بین دو گروه مشاهده نشد.

در مورد پارامترهایی که بین دوگروه اختلاف معناداری

جدول ۱: اطلاعات دموگرافیک گروه‌های مورد مطالعه

پارامتر	بیمار تعداد (درصد)	کنترل تعداد (درصد)	p value
جنس مرد(نفر)	۶۳ (۷۳/۳)	۲۵ (۳۳/۸)	< ۰/۰۱
جنس زن(نفر)	۲۳ (۲۳/۷)	۴۹ (۶۶/۲)	
سن (سال)	۱۶/۱۲ ± ۵۴/۵۱	۱۲/۶۳ ± ۶۱/۲۸	< ۰/۰۱
فشار خون سیستولی(mmHg)	۲۰/۶۴ ± ۱۳۰/۵	۱۶/۳۳ ± ۱۲۲/۷	۰/۸۲
فشار خون دیاستولی(mmHg)	۱۳/۴۱ ± ۸۰/۲۱	۲۲/۸۱ ± ۷۵/۲۳	۰/۱۰
شاخص توده بدن ($kg.m^{-2}$)	۴/۶۱۲ ± ۲۵/۳۵	۶/۸۳۳ ± ۲۷/۰۴	۰/۰۸
LDL کلسترول(mg/dL)	۳۰/۹۱ ± ۱۱۵/۵	۳۱/۲۱ ± ۹۶/۳۲	< ۰/۰۱
HDL کلسترول(mg/dL)	۱۲/۸۴ ± ۴۰/۵۵	۹/۸۸۹ ± ۴۰/۲۲	۰/۸۶
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۸۴/۹۵ ± ۱۸۶/۳	۶۹/۶۶ ± ۱۷۰/۱	۰/۱۹
کلسترول (mg/dL)	۳۹/۹۹ ± ۱۶۴/۷	۳۸/۰۷ ± ۱۸۰/۵	۰/۰۱
دیابت (تعداد)	۱۶ (۶۹/۶)	۷ (۳۰/۴)	۰/۱۰

جدول ۲ : ارتباط متغیرها با گرفتگی عروق کرونر بر اساس رگرسیون چندگانه

پارامتر	نسبت شانس‌ها (OR)	p value	خطای استاندارد	β
جنس (مرد/زن)	۰/۲۸	< ۰/۰۱	۰/۳۹۶	۱/۳۵
سن (سال)	۱/۰۴	۰/۰۲	۰/۰۱۶	۰/۰۴
مصرف سیگار (بلی ۰ و خیر ۱)	۲/۹۵	۰/۰۴	۰/۵۲۲	۱/۰۸
LDL کلسترول (mg/dL)	۱/۰۳	۰/۰۲	۰/۰۱۱	۰/۰۳
کلسترول (mg/dL)	۱/۰۰	۰/۹۷	۰/۰۰۹	۰/۰۰
تری‌گلیسرید (mg/dL)	۱/۰۰	۰/۸۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰
AA/AG+GG	۰/۹۷	۰/۴۹	۰/۲۴	۱/۰۳

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

مشاهده شد، به منظور بررسی اثر این پارامترها بر متغیر وابسته، نسبت شانس(OR) محاسبه گردید و نیز با استفاده از مدل آماری رگرسیون لوجستیک چندگانه، نقش نسبی هر یک از این پارامترها به عنوان فاکتور خطر در ابتلا به تنگی عروق کرونر مشخص شد(جدول ۲). نتایج نشان داد که جنسیت بر خطر بیماری اثر دارد به طوری که مقدار نسبت شانس ۰/۲۸ و مقدار β برای آن ۱/۳۵- به دست آمد. سن نیز با نسبت شانس ۱/۰۴ ، بر ابتلا به بیماری مؤثر است. مصرف سیگار در گروه بیمار نزدیک به سه برابر کنترل است و این نشان می‌دهد که مصرف سیگار احتمال ابتلا به تنگی عروق را سه برابر افزایش می‌دهد. نقش کلسترول و تری‌گلیسرید در افزایش احتمال ابتلا به تنگی عروق دیده نشد. ژنوتیپ AA نیز نسبت شانس نزدیک به یک (OR = ۰/۹۷) داشت.

توزیع فراوانی پلی‌مورفیسم rs233322 در جمعیت مورد مطالعه:

توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs2333227 در گروه بیماران شامل AA = ٪۴/۰۴ ، GG =٪۳۰/۶ و AG=٪۱۸/۸۰ بود و در گروه کنترل به صورت AA = ٪۲/۵۰ ، ٪۳۳/۱ =GG و AG = ٪۲۰/۶ مشاهده شد(جدول ۳). اختلاف معناداری بین توزیع ژنوتیپی دو گروه مشاهده نشد. تعادل هاردی واینبرگ بین ژنوتیپ‌ها در جمعیت مورد مطالعه بر قرار بود(p= ۰/۹۰).

جدول ۳: توزیع ژنوتیپی چند شکلی ژنی rs2333227 در جمعیت مورد مطالعه

ژنوتیپ‌ها	گروه کنترل تعداد (درصد)	گروه بیمار تعداد (درصد)	جمع	نسبت شانس‌ها (دامنه بالا ـ دامنه پایین)	p value
AA	۴ (۲/۵)	۷ (۴/۰۴)	۱۱ (۶/۹۰)	۲/۳–۰/۱۸	۰/۴۹
AG	۳۳ (۲۰/۶)	۳۰ (۱۸/۸۰)	۶۳ (۳۹/۴)	۲/۸–۰/۷۹	۰/۲۱
GG	۳۷ (۲۳/۱)	۴۹ (۳۰/۶۰)	۸۶ (۵۳/۷)	۱/۴–۰/۴۰	۰/۳۷

جدول ۴: توزیع فراوانی آللی در جمعیت مورد مطالعه

آلل‌ها	گروه کنترل	گروه بیمار	جمع
A	۴۱ (۲۷/۷)	۴۴ (۲۵/۶)	۸۵ (۲۶/۶)
G	۱۰۷ (۷۲/۳)	۱۲۸ (۷۴/۴)	۲۳۵ (۷۳/۴)

جدول ۵: توزیع ژنوتیپی بین بیماران با شدت‌های مختلف تنگی عروق کرونر

ژنوتیپ‌ها	۱ VD تعداد (درصد)	۲ VD تعداد (درصد)	۳ VD تعداد (درصد)	جمع تعداد (درصد)	p value
AA	۲ (۲/۳)	۱ (۱/۲)	۴ (۱۴/۷)	۷ (۸/۱)	۰/۷۱
AG	۵ (۵/۸)	۱۰ (۱۱/۶)	۱۵ (۱۷/۴)	۳۰ (۳۴/۹)	
GG	۱۰ (۱۱/۶)	۱۹ (۲۲/۱)	۲۰ (۲۳/۳)	۴۹ (۵۷/۰)	
جمع	۱۷ (۱۹/۸)	۳۰ (۳۴/۹)	۳۹ (۴۵/۳)	۸۶ (۱۰۰)	

VD ۱: افراد با گرفتگی در یکی از عروق کرونر، VD ۲ : افراد با گرفتگی در دو تا از عروق کرونر، VD ۳ : افراد با گرفتگی در سه تا از عروق کرونر.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

جدول ۶: توزیع ژنوتیپی rs2333227 با تفکیک سن و جنس

افراد مورد مطالعه به تفکیک سن و جنس	گروه کنترل			گروه بیمار			جمع	p value
	AA	AG	GG	AA	AG	GG		
زنان زیر ۴۵ سال	۰	۴	۲	۰	۰	۱	۷	۰/۴۳
زنان بالای ۴۵ سال	۳	۱۹	۲۱	۲	۱۰	۱۰	۶۵	۰/۹۴
مردان زیر ۴۵ سال	۰	۱	۵	۰	۲	۱	۹	۰/۲۳
مردان بالای ۴۵ سال	۱	۹	۹	۵	۱۸	۳۷	۷۹	۰/۳۷

جدول ۷: توزیع ژنوتیپی به تفکیک جنس

	گروه کنترل			گروه بیمار			جمع	p value
	AA	AG	GG	AA	AG	GG		
زن	۳ (۴/۲۰)	۲۳ (۳۱/۹)	۲۳ (۳۱/۹)	۲ (۲/۸۰)	۱۰ (۱۳/۹)	۱۱ (۱۵/۳)	۷۲	۰/۹۱
مرد	۱۱ (۱/۱)	۱۴ (۱۵/۹)	۱۴ (۱۵/۹)	۵ (۵/۷۰)	۲۰ (۲۲/۷)	۳۸ (۴۳/۲)	۸۸	۰/۶۶

توزیع فراوانی آللی نیز بین دو گروه اختلاف معناداری نداشت(جدول ۴). همان طور که مشاهده می‌شود آلل A در گروه کنترل(۲۷/۷٪) بیشتر از گروه بیمار است اما این اختلاف معنادار نیست.

توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs2333227 در بین گروه‌های بیمار که بر اساس گرفتگی در ۱ ، ۲ و ۳ رگ از عروق کرونر(Left anterior descending ، Right coronary arteries و Left circumflex) دسته‌بندی شدند(جدول‌ها):

توزیع ژنوتیپی در بین گروه‌هایی با گرفتگی در ۱ ، ۲ و ۳ رگ تفاوت معناداری نداشت و ژنوتیپ‌ها تقریباً به طور یکنواخت بین گروه‌ها پراکندگی داشتند. با توجه به این که سن و جنس نیز ممکن است به طور مستقل در ابتلا به تنگی عروق کرونر نقش داشته باشند، در جداول ۶ و ۷ توزیع ژنوتیپی به تفکیک سن و جنس آورده شده تا با حذف اثر سن و جنس، نقش پلی‌مورفیسم مورد مطالعه قرار گیرد که در اینجا نیز اختلاف بین گروه‌های کنترل و بیمار معنادار نبود.

بحث

از مهم‌ترین مکانیسم‌های شکل‌گیری آترواسکلروز، رادیکال‌های آزاد و آسیب‌های ناشی از آن‌هاست(۲). یکی از عوامل تولید اندوژن رادیکال‌های آزاد، آنزیم میلوپراکسیداز است(۳). بنابراین گمان می‌رود MPO یک بیومارکر برای بیماری‌های قلبی عروقی باشد(۵، ۴). در این مطالعه ارتباط بین پلی‌مورفیسم جایگاه A-463G (rs2333227) و تنگی عروق کرونر مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این که این پلی‌مورفیسم در توالی "آلو" قرار دارد و در محل قرارگیری فاکتور رونویسی است، انتظار می‌رود جابه‌جایی نوکلئوتید A با G ، موجب کاهش بیان این آنزیم شود. مطالعه‌های *in vitro* این فرضیه را تایید کرده و بر نقش حفاظتی آلل A و در خطر بودن افراد با ژنوتیپ GG دلالت دارد(۳، ۲). مطالعه‌های مختلفی روی ارتباط این پلی‌مورفیسم و بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های التهابی صورت گرفته است. "چانیان هی" و همکارانش در یک مطالعه مورد شاهدی، رابطه بین پلی‌مورفیسم این جایگاه و سرطان سینه و نیز رابطه ژن- ژن و ژن- محیط را بررسی کردند اما ارتباط معناداری بین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs2333227 و بیماری سرطان سینه یافت نشد. آنان احتمال دادند سطح آنتی‌اکسیدانت‌های سرم و نیز آنتی‌اکسیدانت‌های رژیم

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

غذایی ممکن است در ارتباط بین پلی‌مورفیسم MPO و سرطان سینه دخالت داشته باشد(۴). اما در مورد ارتباط این پلی‌مورفیسم با بیماری‌های قلبی عروقی در *in vivo* نتایج متفاوت بود. برزو نیکپور و همکارانش نشان دادند که آلل A ژن MPO در بیماران قلبی - عروقی(CAD) فراوانی کمتری دارد و افراد با ژنوتیپ AA ، خطر کمتری در ابتلا به CAD دارند(۰/۴۷۴-۰/۰۴۰ ، ۹۵٪ CI ، ۰/۱۳۷ OR). آنان اعلام کردند که پلی‌مورفیسم این جایگاه با CAD ارتباط دارد و این ارتباط ممکن است به علت نقش این پلی‌مورفیسم بر میزان بیان ژن باشد(۶). در مطالعه‌ای دیگر وینستیاین ار . وی و همکارانش ارتباط بین شدت بیماری‌های عروق کرونر و پلی‌مورفیسم جایگاه ۴۶۳- را در ۱۱۸ بیمار در "برزیل" مورد بررسی قرار دادند، اما رابطه معناداری بین ژنوتیپ‌ها و شدت بیماری یافت نشد(۷). در مطالعه حاضر نیز نتایج مشابهی به دست آمد. یعنی بین ژنوتیپ گروه‌های بیمار و کنترل و نیز در بین بیماران که بر اساس تعداد گرفتگی عروق کرونر به سه دسته تقسیم شده بودند، ارتباط معناداری یافت نشد. با این که طبق انتظار، آلل A در جمعیت کنترل(۲۷/۷٪) بیشتر از جمعیت بیمار(۲۵/۶٪) بود اما این اختلاف معنادار نبود. لذا این بیشتر بودن نمی‌تواند نشان‌دهنده نقش محافظتی آلل A باشد. همان طور که نتایج مطالعه "چانیان هی" نقش آنتی‌اکسیدانت‌های سرم را در ارتباط بین این پلی‌مورفیسم و سرطان سینه نشان داد، نتایج این مطالعه نیز می‌تواند تحت تاثیر آنتی‌اکسیدانت‌های سرم و نیز رژیم غذایی قرار گرفته باشد. زیرا همان طور که در بخش یافته‌ها نشان داده شده، توزیع ژنوتیپی هنگامی که جمعیت بر حسب سن و جنس تفکیک شد نیز بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معناداری نداشت پس نتایج نمی‌تواند تحت تاثیر سن و جنسیت قرار گرفته باشد. اگر چه نتایج مطالعه حاضر همسو با نتایج وینستیاین ار . وی بود و ژنوتیپ‌ها تقریباً به طور یکنواخت بین دو گروه پراکنده شده بودند و از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که نوع ژنوتیپ بر پیشرفت بیماری اثر قابل ملاحظه‌ای ندارد. این نتیجه نیز درتایید نتایج مطالعه وینستیاین ار . وی است و نقش عوامل محیطی را پررنگ تر از عوامل ژنتیکی نشان می‌دهد. اما برای دست‌یابی به یافته‌های جامع‌تر ممکن است نیاز به مطالعه‌های بیشتری باشد که نقش تغذیه و عوامل آنتی‌اکسیدانی را نیز مورد بررسی قرار دهد.

نتیجه‌گیری

به طور کلی نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که در جمعیت مورد مطالعه ایرانی، توزیع ژنوتیپی و توزیع آللی در ایجاد تنگی عروق کرونر و هم چنین شدت تنگی عروق نقشی ندارد. به علاوه نتایج این مطالعه نشان دادند که مهم‌ترین علت در تنگی عروق کرونر و شدت آن، فاکتورهای خطر کلاسیک از جمله پروفایل لیپیدی و فاکتورهای دموگرافیک بود به طوری که مردان در سنین بالاتر و با سطح LDL پلاسمایی بیشتر به مراتب در معرض تنگی عروق کرونر بالاتری هستند.

تشکر و قدردانی

این طرح با کد(۲۰۳۱۹) در دانشگاه علوم پزشکی تهران تصویب شد و در بخش ویروس‌شناسی سازمان انتقال خون و دانشگاه علوم پزشکی ایران به اجرا در آمد. جا دارد در این جا از کلیه پرسنل این سازمان تشکر به عمل آوریم.

References :

1- Kothari N, Keshari RS, Bogra J, Kohli M, Abbas H, Malik A, *et al*. Increased myeloperoxidase enzyme activity in plasma is an indicator of inflammation and onset of sepsis. J Crit Care 2011; 26(4): 435. e1-7.
2- Mäkelä R, Loimaala A, Nenonen A, Mercuri M, Vuori I, Huhtala H, *et al*. The association of myeloperoxidase promoter polymorphism with carotid atherosclerosis is abolished in patients with type 2 diabetes. Clin Biochem 2008; 41(7-8): 532-7.
3- Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, *et al*. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. JAMA 2001; 286(17): 2136-42.
4- He C, Tamimi RM, Hankinson SE, Hunter DJ, Han J. A prospective study of genetic polymorphism in MPO, antioxidant status, and breast cancer risk. Breast Cancer Res Treat 2009; 113(3): 585-94.
5- Wainstein RV, Wainstein MV, Ribeiro JP, Dornelles LV, Tozzati P, Ashton-Prolla P, *et al*. Association between myeloperoxidase polymorphisms and its

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

plasma levels with severity of coronary artery disease. Clin Biochem 2010; 43(1-2): 57-62.
6- Banerjee M, Banerjee N, Ghosh P, Das JK, Basu S, Sarkar AK, *et al*. Evaluation of the serum catalase and myeloperoxidase activities in chronic arsenic-exposed individuals and concomitant cytogenetic damage. Toxicol Appl Pharmacol 2010; 249(1): 47-54.
7- Kizaki M, Miller CW, Selsted ME, Koeffler HP. Myeloperoxidase (MPO) gene mutation in hereditary MPO deficiency. Blood 1994; 83(7): 1935-40.
8- Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and cardiovascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005; 25(6): 1102-11.
9- Chevrier I, Tregouet DA, Massonnet-Castel S, Beaune P, Loriot MA. Myeloperoxidase genetic polymorphisms modulate human neutrophil enzyme activity: genetic determinants for atherosclerosis? Atherosclerosis 2006; 188(1): 150-4.
10- Videm V, Olsen GD. No relationship between neutrophil granulocyte activation and the myeloperoxidase gene - 129 G>A and - 463 G>A promoter polymorphisms: implications for investigations of cardiovascular disease. Coron Artery Dis 2009; 20(7): 446-52.
11- Zotova E, Lyrenas L, de Faire U, Morgenstern R, Gigante B, Bennet AM. The myeloperoxidase gene and its influence on myocardial infarction in a Swedish population: protective role of the -129A allele in women. Coron Artery Dis 2009; 20(5): 322-6.
12- Ergen A, Isbir S, Timirci O, Tekeli A, Isbir T. Effects of myeloperoxidase *-463 G/A* gene polymorphism and plasma levels on coronary artery disease. Mol Biol Rep 2011; 38(2): 887-91.
13- Nikpoor B, Turecki G, Fournier C, Theroux P, Rouleau GA. A functional myeloperoxidase polymorphic variant is associated with coronary artery disease in French-Canadians. Am Heart J 2001; 142(2): 336-9.
14- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988; 16(3): 1215.

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]

Sci J Iran Blood Transfus Organ 2015; 11(4): 286-294

Original Article

Association between *G-436 A (rs2333227)* polymorphism at myeloperoxidase gene promoter and coronary artery disease risk in Iranian patients

Mohammadi P.[1], Soleimani S.[2], Sharifi Z.[2], Nouruzi A.[3], Najafi M.[4]

[1]*Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[2]*Blood Transfusion Research Center, High Institute for Research and Education in Transfusion Medicine, Tehran, Iran*
[3]*Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
[4]*Immunology Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

Abstract

Background and Objectives

Polymorphonuclear cell-derived myeloperoxidase (MPO) is a known agent in the progression of inflammatory disorders via the production of reactive oxygen species. In this study, we investigated the association between *rs2333227* polymorphism (*G-436 A*) within the MPO gene promoter and coronary artery stenosis.

Materials and Methods

A total of 160 Iranian subjects (patients = 86 and controls = 74) were introduced on the basis of the study criteria. DNA was extracted from white blood cells and the genotype distribution was evaluated by PCR-RFLP technique.

Results

The AA, AG and GG genotype frequencies in study population were calculated to be 6.90%, 39.4% and 53.7%, respectively ($p > 0.21$). There was no significant difference between the genotype distribution and the extent of coronary stenosis in patients with 1VD, 2VD and 3VD ($p = 0.71$). The A allele frequencies were 25.6% and 27.4% in patients and controls, respectively.

Conclusions

In general, our results indicate that the Iranian population genotype and allele distribution do not play a role in the development and severity of coronary artery disease.

Key words: Coronary Artery Disease, Reactive Oxygen Species, Coronary Stenosis, Risk Factors

Received: 22 Jan 2014
Accepted:14 Jun 2014

Correspondence: Najafi M., PhD of Biochemistry. Associate Professor of Immunology Research Center, Iran University of Medical Sciences.
P.O.Box: 14155-5983, Tehran, Iran. Tel: (+9821) 86703107; Fax: (+9821) 86703107
E-mail: *nbsmmsbn@tums.ac.ir*

[Downloaded from bloodjournal.ir on 2026-01-31]