مقاله پژوهشی

بررسی ژنتیکی پلی‌مورفیسم Beta-Fibrinogen-455 G/A به‌عنوان عامل ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران

کیمیا کهریزی[۳]، کریستین آبرکانینز[۲*]، واله هادوی[۱]، بیتا بزرگمهر[۱]، حسین نجم آبادی[۳و۱]

۱- مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی‌نژاد-نجم‌آبادی، تهران، ایران
۲- آزمایشگاه تشخیصی ViennaLab، وین، اتریش
۳- مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران، ایران

چکیده

در این بررسی، ۲۰۸ فرد بدون علائم بالینی بیماری‌های قلبی-عروقی و سابقه ترومبوز وریدی، از نقاط مختلف ایران با نژادهای متفاوت، مطالعه شدند. جهت ارزیابی توزیع پلی‌مورفیسم β-Fibrinogen -455G/A، یکی از عوامل ژنتیکی ایجاد بیماری‌های قلبی عروقی در جمعیت ایران، از روش هیبریدیزاسیون معکوس برای تشخیص سریع و دقیق استفاده شد. اساس آزمون روش Multiplex PCR و هیبریدیزاسیون بر روی نوار آزمون است. این نوار شامل خطوط موازی حاوی پروب‌های الیگونوکلئوتیدی خاص آللی است. شیوع جهش FGB -455 G/A در جمعیت مورد بررسی ۰/۲۲ بود که با آمارهای گزارش‌شده از اروپا برابری می‌کند، اما بیشتر از فرکانس‌های گزارش‌شده از کشورهای منطقه آسیاست. در این مطالعه، نحوه توزیع آلل جهش‌یافته FGB -455 G/A در نژادهای مختلف جمعیت ایران بررسی شده و نتایج آن با مطالعات صورت‌گرفته مقایسه شده است. پژوهش اخیر تنها مطالعه‌ای است که تاکنون بر روی پلی‌مورفیسم ژنی FGB -455 G/A در ایران انجام شده است.

واژه‌های کلیدی: ترومبوز وریدی؛ پلی‌مرفیسم ژنی؛ فیبرینوژن؛ فرکانس ژنی؛ ایران.

مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی (CVD)[۱] به گروهی از نارسایی‌های چندگانه اطلاق می‌شود که در آنها قلب، سرخرگ‌ها و سیاهرگ‌ها عملکرد طبیعی خود را از دست می‌دهند. از میان این دسته از بیماری‌ها، ترومبوآمبولیسم وریدی (VTE)[۲] سومین عارضه قلبی-عروقی شایع در دنیاست که سالیانه ۱ در ۱۰۰۰ نفر را درگیر می‌سازد (۱). آبشار انعقادی مسیر اصلی محافظی است که با تنظیم واکنش‌های دقیق بین اجزاء دیواره عروق، پلاکت‌ها و پروتئین‌های پلاسما، باعث محدودیت در از دست رفتن خون می‌شود (۲). عدم تنظیم فعالیت این آبشار ممکن است به تشکیل ترومبوز وریدی و

* کریستین آبرکانینز، Ph.D
آزمایشگاه تشخیصی ViennaLab، وین، اتریش
E.mail: oberkanins@viennalab.co.at
تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۲۵

1. Cardiovascular Diseases 2. Venous Thromboembolism

Archive of SID
www.SID.ir

سرخرگی منجر شود و زندگی فرد را به‌خطر اندازد. ترومبوز وریدی ممکن است نتیجه اختلالات ژنتیکی باشد یا بر اثر تغییرات ایجادشده در روند لخته شدن خون یا بر اثر تعامل بین این دو ایجاد شود (۳). این عارضه یکی از علل عمده مرگ و میر در کشورهای توسعه‌یافته و عامل اصلی بیماری و مرگ‌ومیر در دوران بارداری، کودکی و در بدخیمی‌هاست (۴).

فیبرینوژن، به‌عنوان عامل اصلی هموستاز، در آخرین مرحله آبشار انعقاد خون قرار گرفته است. سطح بالای فیبرینوژن پلاسما باعث خطر افزایش انعقاد خون می‌شود. سطح فیبرینوژن پلاسما نقش مهمی در ایجاد بیماری قلبی–عروقی، ایسکمی قلبی و مرگ‌ومیر ناشی از آنها دارد (۵). فیبرین که از فیبرینوژن حاصل می‌شود، بخش عمده‌ای از پلاک‌های آتروماتو و ترومبوزهای انسدادی است (۶).

فیبرینوژن از سه زنجیره پلی‌پپتیدی Aα، Bβ و γ تشکیل شده است که ژن‌های آنها به‌صورت خوشه‌ای در کنار هم و بر روی کروموزوم 4q قرار گرفته‌اند. زنجیره β تولید فیبرینوژن را محدود می‌سازد و دارای دو هاپلوتیپ است (۷). توجه محققان بیشتر به دی‌مورفیسم‌های β455G/A و β148C/T در پروموتر زنجیره β معطوف شده است که پیوستگی ژنی کاملی[3] با یکدیگر دارند (۸). دی‌مورفیسم 455G/A- در پروموتر بتافیبرینوژن (FGB)[4] با سطوح مختلف فیبرینوژن پلاسما همراه است (۹). جهش شایع پروموتر بتافیبرینوژن (G-455βA) در سیاهپوستان کمتر دیده می‌شود؛ در حالی که در سفیدپوستان، آلل A با سطوح بالاتر فیبرینوژن پلاسما همراه است (۱۰ تا ۱۳).

ارتباط بین عوامل محیطی و بیماری‌های قلبی–عروقی در ایران به‌خوبی بررسی شده است، اما نقش مارکرهای ژنتیکی، به‌عنوان عامل مهم در بروز این‌گونه بیماری‌ها، هنوز در ایران ناشناخته است. تاکنون مطالعه‌ای بر روی شیوع پلی‌مورفیسم β-Fibrinogen -455G/A در جمعیت ایران صورت نگرفته است. هدف از این بررسی تعیین فراوانی پلی‌مورفیسم یادشده در جمعیت ایران است که بتواند عوامل ژنتیکی تأثیرگذار بر ایجاد بیماری‌های قلبی–عروقی را در ایران مشخص و اطلاعات اپیدمیولوژیکی را برای مطالعات آتی فراهم کند.

مواد و روش‌ها

در پژوهش اخیر ۲۰۸ فرد سالم و بدون علائم بیماری‌های قلبی–عروقی و سابقه ترومبوز وریدی، شامل ۱۰۳ مرد و ۱۰۵ زن، در محدوده سنی بین ۱۸ تا ۵۵ سال، از افراد مراجعه‌کننده به مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه بهزیستی و توانبخشی تهران، ارزیابی شدند. افراد به‌گونه‌ای انتخاب شدند که کلیه قومیت‌های مختلف ایرانی را در برگیرند و در ضمن، کلیه مناطق جغرافیایی کشور را پوشش دهند. کلیه افرادی که در مطالعه شرکت کردند، ابتدا رضایت خود را با پر کردن فرم رضایت‌نامه اعلام کردند. نمونه‌های خون محیطی مخلوط با سدیم EDTA از افراد تهیه شد. با استفاده از روش نمک اشباع DNA ژنومی استخراج شد (۱۴). شناسایی ناقلان با روش هیبریدیزاسیون معکوس انجام شد. در این روش، از کیت ViennaLab (CVD StripAssay، اتریش) استفاده شد و بقیه مراحل بر اساس پروتکل کیت مورد آزمایش انجام شد (۱۵).

یافته‌ها

دویست و هشت نفر از نقاط مختلف ایران با نژادهای مختلف بررسی شدند. ژنوتیپ و فراوانی آللی پلی‌مورفیسم در نقاط مختلف ایران و نژادهای مختلف در جدول ۱ و ۲ ذکر شده است. جدول ۳ بیانگر شیوع پلی‌مورفیسم در جمعیت‌های مختلف، طبق آمارهای گزارش‌شده از محققان مختلف، در مقایسه با ایران است. شایع‌ترین آلل در بررسی اخیر β-Fibrinogen -455G (با فراوانی ۰/۷۸) بود. در گروه مورد مطالعه، فراوانی حالت هموزیگوت ژنوتیپ جهش‌یافته β-Fibrinogen -455 G/A ۳/۸٪ به‌دست آمد.

جدول ۱: ژنوتیپ‌ها (٪) و فراوانی آللی پلی‌مورفیسم β-Fibrinogen-455G/A در نقاط مختلف ایران

ژنوتیپ	مرکز	شمال	شمال شرق	شمال غرب	جنوب	جنوب شرق	جنوب غرب	غرب	جمع
GG	۵۴/۸	۵۸/۶	۷۶/۹	۵۵/۹	۸۰/۰	۷۱/۴	۵۹/۰	۵۵/۲	۶۰/۶
GA	۴۱/۹	۳۱/۰	۲۳/۱	۴۴/۱	۲۰/۰	۲۵/۰	۳۵/۹	۴۱/۴	۳۵/۶
AA	۳/۲	۱۰/۳	–	–	–	۳/۶	۵/۱	۳/۴	۳/۸
آلل G	۰/۷۵۸	۰/۷۴۲	۰/۸۸۴	۰/۷۸۰	۰/۹۰۰	۰/۸۳۹	۰/۷۷۰	۰/۷۵۹	۰/۷۸۴
آلل A	۰/۲۴۲	۰/۲۵۸	۰/۱۱۶	۰/۲۲۰	۰/۱۰۰	۰/۱۶۱	۰/۲۳۰	۰/۲۴۱	۰/۲۱۶

3. Complete Linkage Disequilibrium
4. β-fibrinogen

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲: ژنوتیپ‌ها (٪) و فراوانی آللی پلی‌مورفیسم β–Fibrinogen–455G/A در نژادهای مختلف جمعیت ایران

ژنوتیپ	فارس	آذری	لر	کرد	بلوچ	گیلک	عرب	جمع
GG	۶۵/۳	۵۵/۲	۵۵/۶	۵۵/۶	۶۵/۲	۶۱/۵	۵۲/۶	۶۰/۶
GA	۳۰/۷	۴۴/۸	۴۴/۴	۳۸/۹	۳۰/۴	۳۰/۸	۴۲/۱	۳۵/۶
AA	۴/۰	–	–	۵/۶	۴/۳	۷/۷	۵/۳	۳/۸
آلل G	۰/۸۰۶	۰/۷۷۶	۰/۷۷۸	۰/۷۵۰	۰/۸۰۵	۰/۷۶۹	۰/۷۳۶	۰/۷۸۴
آلل A	۰/۱۹۴	۰/۲۲۴	۰/۲۲۲	۰/۲۵۰	۰/۱۹۵	۰/۲۳۱	۰/۲۶۴	۰/۲۱۶

به‌طورکلی، بالاترین شیوع آلل جهش‌یافته A متعلق به شمال، مرکز، غرب، جنوب غرب و شمال غرب ایران بود (به‌ترتیب، با فراوانی ۰/۲۵، ۰/۲۴، ۰/۲۴، ۰/۲۳ و ۰/۲۲) (جدول ۱). از میان نژادهای مختلف فارس، لر، کرد، گیلک، بلوچ، آذری و عرب مورد بررسی، آلل جهش‌یافته A در نژادهای عرب، کرد، گیلک، آذری و لر با بالاترین فراوانی‌ها (به‌ترتیب ۰/۲۶، ۰/۲۵، ۰/۲۳، ۰/۲۲ و ۰/۲۲) و در نژاد بلوچ و فارس با کمترین فراوانی‌ها (هر کدام ۰/۱۹) دیده شد (جدول ۲). جمعیت مورد بررسی از تعادل هاردی–واینبرگ برخوردار بود.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری‌های قلبی–عروقی سریع و ناگهانی بروز می‌کنند و یکی از عمده‌ترین مشکلات بهداشتی کشورهای در حال توسعه، مانند ایران، هستند. این دسته از بیماری‌ها با شیوع ۳۹ درصدی نخستین علت مرگ‌ومیر در ایران به‌شمار می‌آیند (۱۶). تنها در آمریکا، هر سال بیش از ۳۰۰۰۰۰ نفر به‌طور ناگهانی، به‌علل عوارض قلبی، می‌میرند. با اینکه شیوه‌های درمانی بیماری‌های قلبی–عروقی توسعه و بهبود یافته است، شیوع آن همچنان روندی صعودی دارد (۱۶).

فیبرینوژن یکی از پروتئین‌های اصلی پلاسما است که در هموستاز نقش دارد و سطح بالای آن در پلاسما با افزایش خطر ترومبوز وریدی همراه است. فیبرینوژن با تشکیل رسوب متشکل از سلول‌های ماهیچه‌ای صاف دیواره عروق، لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها، به‌صورت ترومبوز، بر دیواره عروق نقش اصلی خود را در ایجاد تصلب شرائین ایفاء می‌کند. این عمل باعث تغییر دیواره عروق، ایجاد پلاک و ترومبوز، و در نهایت انسداد وریدی می‌شود. پلی‌مورفیسم β455G/A در پروموتر زنجیره β ژن فیبرینوژن بر روی سطح فیبرینوژن پلاسما تأثیر می‌گذارد، به‌صورتی‌که آلل β-455 A در حالت هوموزیگوت، باعث ایجاد سطح بالاتری از فیبرینوژن پلاسما، در مقایسه با حالت هوموزیگوت آلل β-455 G و هتروزیگوت β-455 G/A، می‌شود (۱۷).

آلل A فیبرینوژن β-455 با پیشرفت سریع‌تر بیماری قلبی عروقی و سکته قلبی در ارتباط است. همان‌طوری که در جدول ۳ مشاهده می‌کنید، فراوانی به‌دست‌آمده برای آلل β-Fibrinogen-455A در این بررسی ۰/۲۲ بود که با مقادیر گزارش‌شده از قبرس (۰/۲۳)، لبنان (۰/۲۳)، ترکیه (۰/۲۳)، ایتالیا (۰/۲۳)، اسپانیا (۰/۲۲) و اروپای مرکزی (۰/۲۷–۰/۲۱) و آفریقا (۰/۱۹) برابری می‌کند. این رقم کمتر از آمارهای گزارش‌شده از یونان (۰/۳۰) و چین (۰/۵۳)، اما بیشتر از کشورهای شرق آسیاست (۰/۱۰) (۱۸ تا ۲۳). در ایران نیز، همچون بسیاری از کشورهای همسایه، پیش از این مطالعه‌ای بر روی میزان شیوع پلی‌مورفیسم β-Fibrinogen-455G/A صورت نگرفته بود. فراوانی هوموزیگوسیتی به‌دست‌آمده برای β-Fibrinogen-455A در این بررسی ۳/۸٪ بود (جدول ۱).

ازآنجایی که اطلاعات مشابهی از میزان جهش β-Fibrinogen-455G/A در کشورهای همسایه نظیر آذربایجان، پاکستان، عراق و عربستان سعودی وجود

جدول ۳: فراوانی آللی پلی‌مورفیسم β-Fibrinogen -455G/A در جمعیت‌های مختلف در مقایسه با ایران

جمعیت (مرجع)	فراوانی آللی	
	G	A
یونان (۱۸)	۰/۷۰	۰/۳۰
لبنان (۲۰)	۰/۷۷	۰/۲۳
ترکیه (۱۹)	۰/۷۷	۰/۲۳
ایران (بررسی حاضر)	۰/۷۸	۰/۲۲
شرق آسیا (۲۱)	۰/۹۰	۰/۱۰

Archive of SID
www.SID.ir

ندارد، نتیجه‌گیری اینکه فراوانی این جهش از غرب به شرق کاهش می‌یابد یا خیر، مشکل به‌نظر می‌رسد. فراوانی بالای β-Fibrinogen-455G/A، مخصوصاً در حالت هوموزیگوت، و همراهی آن با افزایش خطر ترومبوز وریدی در این افراد، اهمیت بررسی این پلی‌مورفیسم‌ها را در جمعیت ایران بیش از پیش روشن می‌سازد. به مطالعات و بررسی‌های بیشتر، به‌منظور تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم β-Fibrinogen-455G/A با بیماری‌های قلبی–عروقی، سرخرگی و ترومبوز وریدی در جمعیت ایران، نیاز است.

References

1. Menon J, Salman MM, Md GH. Venous thrombolysis: Current perspectives. Curr Treat Options Cardiovasc Med 2004;6:159-68.
2. Konkle BA. Bleeding and thrombosis. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al. Editors. Harrison's principles of internal medicine. 17th ed. New York: McGraw Hill; 2008.P.363-9.
3. Cardiovascular disease: prevention and control [Internet]. World Health Organization. Avwilable from: http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/Fact/cvd/en.
4. Reitsma PH, Rosendaal FR. Past and future of genetic research in thrombosis. J Thromb Haemost 2007;S1:264–9.
5. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, et al. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European concerted action on thrombosis and disabilities angina pectoris study group. N Engl J Med 1995;332:635–41.
6. Bini A, Fenoglio JJ, Mesa Tejada R, et al. Identification and distribution of fibrinogen, fibrin, and fibrin(ogen) degradation products in atherosclerosis. Use of monoclonal antibodies. Arteriosclerosis 1989;9:109–21.
7. Behague I, Poirier O, Nicaud V, et al. Beta fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM study. Etude cas-temoins sur l'infarctus du myocarde. Circulation 1996;93:440–9.
8. van 't Hooft FM, von Bahr SJ, Silveira A. et al. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:3063–70.
9. Thomas AE, Green FR, Kelleher CH, et al. Variation in the promoter region of the β fibrinogen gene is associated with plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers. Thromb Haemost 1991;65:487–90.
10. Folsom AR, Qamhieh HT, Flack JM, et al. Plasma fibrinogen: levels and correlates in young adults: The coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study. Am J Epidemiol 1993;138:1023–36.
11. Thomas AE. Genetic variation at the alpha-beta-fibrinogen loci and its association with plasma fibrinogen levels; ethnic differences and environmental interactions. [phD dissertation]. London: London University;1995.
12. Humphries SE, Thomas A, Montgomery HE, et al. Geneenvironment interaction in the determination of plasma levels of fibrinogen. Fibrinolysis Proteolysis 1997;11(S1):3–7.
13.Tybjaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, et al. A common mutation (G-455 to A) in the beta-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischaemic heart disease. A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen city heart study. J Clin Invest 1997;99:3034–9.
14. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acid Res. 1988;16:1215.
15. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online 2005;1:47-50.
16. Khosravi A, Rao C, Naghavi M, et al. Impact of misclassification on measures of cardiovascular disease mortality in the Islamic Republic of Iran: a cross-sectional study. Bulletin WHO 2008;86:688–

Archive of SID

www.SID.ir

96.
17. Renner W, Cichocki L, Forjanics A, et al. G-455A polymorphism of the fibrinogen beta gene and deep vein thrombosis. Eur J Clin Invest 2002;32:755–8.
18. Gialeraki A, Politou M, Rallidis L, et al. Prevalence of prothrombotic polymorphisms in Greece. Genetic Testing 2008;12:541-7.
19. Mahfouz RA, Otrock ZK, Ghasham MA, et al. Oral contraceptive pills and inherited thrombophilia in a young woman with deep venous thrombosis. East Mediterr Health J 2009;15:235-8.
20. Shammaa DM, Sabbagh AS, Taher AT, et al. Frequency distribution of the G/A alleles of the beta-fibrinogen gene in the Lebanese population. Mol Biol Rep 2008;35:453–7.
21. Lerman A, Suwaidi JA, Velianou JL. et al. A novel therapy for coronary artery disease? Expert Opin Investig Drugs 1999;8:1785-93.
22. deGaetano G, Di Castelnuovo A, Donati MB, et al. The mediterranean lecture: from epidemiology to physiology and back. Pathophysiol Haemost Thromb 2003;33:466–71.
23. Rees DC, Chapman NH, Webster MT, et al. Born to clot: the European burden. Br J Haematol 1999;105:564–6.

Archive of SID

www.SID.ir