Archive of SID

(مقاله پژوهشی)

بررسی پلی مورفیسم Glu ۲۹۸ Asp ژن نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی و ارتباط آن با بیماری عروق کرونر قلب (CAD) و دیابت نوع II با و بدون CAD در کرمانشاه

رضا نوروزی راد*[۱]، زهره رحیمی**، حمید نعمانی***، محمد رضا سعیدی****، منصور رضایی+

چکیده

زمینه و هدف: برخی گزارشات نشان می دهند که پلی مورفیسم Glu ۲۹۸ Asp ژن نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی(eNOS) با بیماری عروق کرونر قلب (CAD) در ارتباط است. هدف مطالعه حاضر ارزیابی ارتباط احتمالی پلی مورفیسم Glu ۲۹۸Asp (G894T) ژن eNOS با CAD و دیابت می باشد.

روش بررسی: مطالعه از نوع مورد- شاهدی می باشد، پلی مورفیسمGlu ۲۹۸ Asp ژن eNOS با روشPCR-RFLP در ۲۰۳ بیمار دیابتی با و بدون CAD و ۱۰۵ بیمار غیر دیابتی مبتلا بهCAD و همچنین ۹۲ فرد سالم که بیماری و یا عدم بیماری آنها براساس آنژیوگرافی و تست های مربوطه به اثبات رسیده است، تعیین گردید. همه افراد شرکت کننده در مطالعه حاضر از استان کرمانشاه بودند.

یافته ها: فراوانی سه ژنوتیپ ژن eNOS(GG،GTوTT) در بیمارانCAD- دیابتی (به ترتیب:۵۳/۹٪، ۴۰/۲٪ و ۵/۹٪) در مقایسه با بیماران دیابتی (به ترتیب:۵۹/۴٪،۳۵/۶٪ و۵٪؛P=۰/۷۳۰) اختلاف معناداری را نشان نداد. ولی فراوانی این ژنوتیپ ها در بیماران CAD- دیابتی در مقایسه با کنترل (به ترتیب:۷۲/۸٪، ۲۶/۱٪ و۱/۱٪؛ P<۰/۰۵) اختلاف معناداری را نشان داد. اگرچه فراوانی ژنوتیپ های فوق در بیماران دیابتی در مقایسه با کنترل اختلاف معناداری را نشان نداد (P=۰/۰۸)، ولی افزایش غیر معنادار گونه موتانت در گروه دیابت نسبت به کنترل دیده شد. علاوه بر این به طور کلی از نظر توزیع فراوانی ژنوتیپ های eNOS بین گروه هایCAD- دیابتی وCAD در مقایسه با کنترل اختلاف معناداری وجود داشت (P<۰/۰۵).

نتیجه گیری: موتاسیون eNOS ۲۹۸ Asp در بیماران مبتلا بهCAD وCAD- دیابتی کرمانشاه شایع است و ممکن است با بروزCAD در بیماران با و بدون دیابت ارتباط داشته باشد.

م ع پ ۹؛۱۳۸۹ (۴): ۳۸۳- ۳۷۵

کلید واژگان: دیابت، بیماری عروق کرونر قلبی، نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی، موتاسیون

*کارشناس گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز

**دانشیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

***استادیار، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

****استادیار، گروه جراحی قلب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

+استادیار، گروه آمار، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه

۱- نویسنده مسوول: Email: rezaim72@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۹/۲۵ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۹/۲/۵ اعلام قبولی: ۱۳۸۹/۲/۲۹

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری های قلبی عروقی علاوه بر تحمیل هزینه های گزاف بر سیستم های بهداشتی، یکی از عوامل مهم مرگ و میر و از کارافتادگی در جامعه می باشند.

مطابق گزارش سال ۲۰۰۷ از سوی دانشکده قلب آمریکا و انجمن قلب آمریکا تقریبا ۱۶ میلیون آمریکایی دچار بیماری عروق کرونر قلب CAD (Coronary Artery Disease) می باشند، و CAD در راس کشنده ترین بیماری ها در بین زنان و مردان آمریکایی است و سالانه حدود ۵۰۰ هزار نفر در آمریکا در اثر این بیماری جان خود را از دست می دهند (۱).

بیماری‌های قلبی، عامل ۳۸ درصد مرگ و میرها در ایران است و سالانه بین ۳۵ تا ۵۰ هزار عمل جراحی قلب در ایران انجام می‌شود که معادل جراحی‌های قلب در کشور چین است. براساس پیش بینی ها تا سال ۲۰۲۰ بیماری های قلبی- عروقی در جامعه های در حال توسعه به صورت اپیدمی درمی آید (۲).

یکی دیگر از بیماری های غیر مسری شایع، دیابت می باشد. مطابق گزارش سال ۲۰۰۴ سازمان جهانی بهداشت بیش از ۱۵۰ میلیون نفر در سراسر جهان مبتلا به دیابت می باشند و تخمین زده شده است که این رقم تا سال ۲۰۲۵ میلادی دو برابر شود. براساس همین گزارش شیوع دیابت در آسیا و افریقا به شدت در حال گسترش است، به طوری که آمار دو برابر شده بالا تا سال ۲۰۲۵ عمدتاً شامل همین کشورها خواهد بود (۳).

یکی از عوارض دیابت، به خصوص دیابت نوع II، بیماری CAD می باشد. شیوع CAD در افراد دیابتی نوع II به شدت می تواند تحت تاثیر عوامل محیطی و ژنتیکی باشد. شیوع بیماری قلبی عروقی در افراد دیابتی بین ۱٫۲ تا ۴ برابر افراد غیر دیابتی است. دیابت مهمترین علت بروز بیماری‌های قلبی در ایران است که بین ۳۰ تا ۴۰ درصد این بیماران را در بر می‌گیرد. در حال حاضر دیابت ۱۰٫۶ درصد افراد بیشتر از ۳۰ سال را در ایران درگیر کرده است(۴). لذا شناخت دقیق پاتوژنز و اتیولوژی این عارضه مستلزم شناخت دقیق اساس مولکولی آن می باشد. تحقیقات بسیاری در شناخت اساس مولکولی و شیوع این عارضه در افراد دیابتی نوع II در مناطق مختلف جهان با زمینه ژنتیکی متفاوت صورت گرفته که می توان از بررسی پلی مورفیسم ژن نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی eNOS (Endothelial nitric oxide synthase) نام برد، که در اثر این جهش ژنی تغییراتی در نحوه و میزان فعالیت آنزیم ایجاد شده و بر پروسه هایی که این آنزیم در آن دخیل است تاثیر می گذارد (۵).

eNOS با ساخت و رها سازی NO و رادیکال های آن در عروق می تواند با تاثیر بر نفوذ پذیری و انعطاف پذیری(Flexibility) عروق به خصوص عروق کرونر قلبی روند آترواسکلروزیس را تسریع نماید و بر اساس این گزارش NO نقش محوری و اساسی در CAD را داراست (۶).

آنزیم نیتریک اکساید سنتاز(eNOS) یک آنزیم همودایمر بوده و علی رغم سادگی ملکول نیتریک اکساید، دارای ساختمان پیچیده ای است. آنزیم نیتریک اکساید سنتاز دارای سه ایزوفرم می باشد

- nNOS (Neuronal Nitric Oxide synthase) یا NOS I .
- iNOS (Inducible Nitric Oxide Synthase) یا Inducible, یا NOS II .
- eNOS (Endothelial Nitric Oxide Synthase) یا یا NOS III .

در دیابت قبل از تشکیل آتروما (athromas)، اتساع عروقی وابسته به NO مشتق شده از اندوتلیوم دچار نقص می شود (۷). مکانیسم های متعددی، مانند هیپرگلیسمی، در کاهش میزان در دسترس بودن NO مشتق شده از اندوتلیوم در دیابت دخیل هستند، که همزمان باعث افزایش تشکیل استرس اکسیداتیو Reactive Oxigen Species (ROS) نیز می شوند (۸). در دیابت نه تنها ظرفیت اتساع عروقی کاهش می

www.SID.ir

Archive of SID

یابد، بلکه منقبض کننده های عروقی مثل اندوتلین1 و آنژیوتانسینII ، زیاد می شوند. انقباض عروقی منجر به افزایش فشار خون و رشد سلولی عضلات صاف دیواره عروق می گردد (۹). در سال ۱۹۹۷ بدارد و همکاران پی بردند که تولید نیتریک اکساید در مجاورت سیتوکین های تومور نکروزیس آلفا، اینترفرون گاما و لیپوپلی ساکارید افزایش می یابد. از طریق RT-PCR معلوم شد که منبع تولید نیتریک اکساید، سلول های ماکروفاژ می باشند و بیان ژن iNOS در آنها زیاد می شود. در نهایت پی بردند که سیتوکین ها و لیپوپلی ساکارید ها با افزایش تولید نیتریک اکساید باعث افزایش انتقال گلوکز در میوسیت های L6 می گردند (۱۰). چون NO آتروپروتکتیو می باشد، افزایش ریسک CAD یا MI در افراد هموزیگوت برای Asp ۲۹۸ ممکن است به خاطر کاهش میزان و یا فعالیت آنزیم eNOS در چنین افرادی باشد. این ارتباط مشخص نیست که آیا پلی مورفیسم Glu ۲۹۸ Asp یک واریانت ژنتیکی- عملکردی است و یا مارکری برای واریانت عملکردی دیگری درون و یا کنار ژن مربوطه می باشد. در عوض به طور آشکار مشخص است که جابجایی Asp<-Glu سبب کاهش عملکرد پروتئین می شود (۱۱).

هدف مطالعه کنونی بررسی ارتباط جهش در ژن آنزیم eNOS در افراد دیابتی با و بدون CAD ، افراد غیر دیابتی دارای CAD در مقایسه با گروه کنترل با ایجاد CAD و یا دیابت می باشد. نتایج مطالعه کنونی علاوه بر شناخت اساس مولکولی این عارضه در افراد دیابتی و افراد دارای CAD می تواند در توجیه، عدم پاسخ به درمان با استفاده از قرص های پایین آورنده چربی در افراد دیابتی موثر باشد(۱۲). بر این اساس در مطالعه حاضر ارتباط پلی مورفیسم ژن eNOS در ناحیه اگزون شماره ۷ که ناشی از موتاسیونG۹۸۴T (Glu ۲۹۸Asp) می باشد با CAD و دیابت و یا وقوع همزمان آنها مورد ارزیابی قرار گرفته است. این پلی مورفیسم به سه شکل ژنوتیپی GG (Glu۲۹۸)، GT (Glu ۲۹۸Asp) و TT (۲۹۸ASP) دیده می شود.

روش بررسی

مطالعه حاضر به صورت موردی – شاهدی می باشد. جامعه مورد مطالعه از میان مراجعین به بیمارستان امام علی و مرکز متابولیسم کرمانشاه بدون هیچ گونه رابطه خویشاوندی انتخاب شدند که شامل ۱۰۱ بیمار مبتلا به دیابت نوع II یا T2DM (۵۱ مرد و ۵۰ زن میانگین سنی ۹/۸ ± ۵۶/۵ سال)، ۱۰۲ بیمار مبتلا به دیابت و CAD یا T2DM/CAD (۵۲ مرد و ۵۰ زن، میانگین سنی ۸/۸ ± ۵۷/۶۴ سال) که با آنژیوگرافی و سایر آزمایشات دارای CAD و دیابت تشخیص داده شده بودند. ۱۰۵ بیمار مبتلا به CAD و بدون دیابت یا CAD/ND (۶۱ مرد و۴۴ زن، میانگین سنی۹/۴ ± ۵۵/۸۳ سال) که ابتلای آنها به CAD توسط آنژیوگرافی(که بیش از ۵۰ درصد گرفتگی Stenosis در یکی یا بیشتر از یکی در عروق کرونر قلب را دارا بودند) تایید شد. گروه کنترل شامل ۴۷ مرد و ۴۵ زن با میانگین سنی ۸/۵ ± ۵۴/۳۴ سال بود که براساس اندازه گیری سطح قند خون ناشتا غیر دیابتی تشخیص داده شدند و در طی آنژیوگرافی انجام شده جهت جستجوی CAD دارای عروق کرونر سالم بودند. گروه کنترل از نظر سن و جنس با سه گروه بیمار هم سان انتخاب شدند. افراد مورد مطالعه از میان مراجعین به بخش کاردیوگرافی مرکز آموزشی درمانی امام علی(ع) دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه که برای اولین بار جهت بررسی عروق کرونر (CAD) آنژیوگرافی می شدند و مراجعین به مرکز متابولیسم کرمانشاه انتخاب شدند. به منظور جلوگیری از تاثیر شرایط استرس در حالت اورژانس فقط بیمارانی که به صورت انتخابی جهت آنژیوگرافی مراجعه می کردند انتخاب شدند. بیماری یا عدم بیماری افراد مورد مطالعه توسط پزشک متخصص قلب و پزشک متخصص غدد تایید شد.

www.SID.ir

Archive of SID

بیمارانی که دارای بیماری های دریچه قلب و بیمارهای احتقانی قلب و بیماری های کاردیومیوپاتی بودند از مطالعه حذف شدند. وجود دیابت در بیماران بر اساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی (۱۳) تایید شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه تایید گردیده است و قبل از گرفتن نمونه رضایت نامه آگاهانه از بیماران گرفته شد.

DNA ژنومی با استفاده از روش فنل کلروفرم از لوکوسیت های خونی استخراج گردید. ناحیه ۲۴۸ جفت بازی هدف از ژن eNOS به روش PCR با استفاده از پرایمر I:

5'- AAG ACA GGA GCC AGT GGA TGG-3'

و پرایمر II، 5'- CAC AGT CAA ACC CTT TGG TGC TCA- 3' تکثیر شد.

مخلوط PCR شامل اجزاء زیر بود: ۱۰µg از DNA ژنومی، ۲۰ pmol از هر کدام از پرایمرها، ۲۰۰µmol/L از dNTPS، بافر PCR1X ، ۱ واحد آنزیم Taq DNA polymerase، که حجم آن به وسیله آب مقطر استریل به ۲۵µl رسانده بود. شرایط PCR بدین ترتیب بود که بعد از دناتوراسیون DNA در $95^{o}c$ برای سه دقیقه، ۳۵ سیکل که هر سیکل شامل دناتوراسیون در $94^{o}c$ برای ۱ دقیقه، جفت شدن annealing در $61^{o}c$ یک دقیقه، تکثیر در $72^{o}c$ برای یک دقیقه و تکثیر نهایی در $72^{o}c$ به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. جهت انجام RFLP محصول (۲۴۸bp) PCR با استفاده از ۵U از آنزیم محدودالاثر Mbo1 و انکوبه کردن در $37^{o}c$ به مدت ۱۶ ساعت هضم گردید. محصول هضم شده بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد الکتروفورز گردید و بعد از رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید به وسیله Gel documention عکسبرداری شد. بر حسب ژنوتیپ شخص (طبیعی، هتروزیگوت و هموزیگوت) به ترتیب: یک قطعه ۲۴۸ جفت بازی، سه قطعه ۲۴۸، ۱۵۸ و ۹۰ جفت بازی و یا دو قطعه ۱۵۸ و ۹۰ جفت بازی ایجاد شد (شکل ۱).

اندازه گیری های بیوشیمیایی (قند خون و پروفایل لیپیدی) براساس روش های استاندارد و دستگاه اتوآنالایزور RA1000 صورت گرفت. میزان Stenosis براساس گزارش آنژیوگرافی و بر مبنای تعداد گرف ثبت گردید.

در این بررسی برای مقایسه ژنوتیپ ها در چهار گروه، از آزمون مربع کای و آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. برای تعیین خطر نسبی بروز عوارض قلبی و ژنوتیپ ها در گروه ها، از محاسبه نسبت برتری (Odds Ratio)، به وسیله روش رگرسیون لجستیک استفاده گردید. نرم افزار مورد استفاده SPSS نگارش ۱۱/۵ بود.

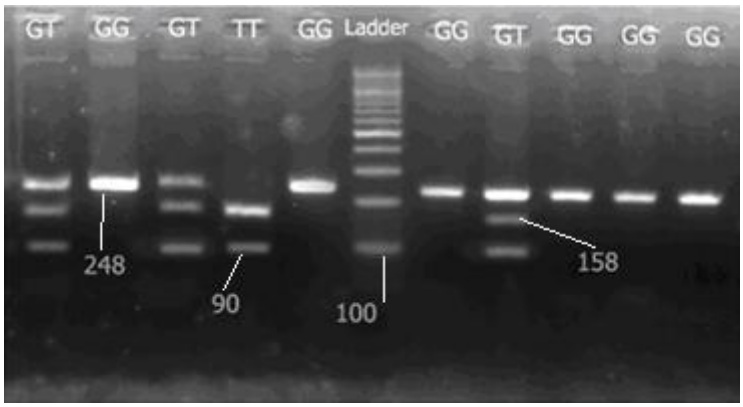
یافته ها

مشخصات دموگرافیک افراد مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. در مجموع ۴۰۰ نفر از لحاظ وجود ژنوتیپ های مختلف eNOS مورد بررسی قرار گرفتند. فراوانی ژنوتیپ های مختلف eNOS در گروه های مورد مطالعه و به تفکیک جنس در جدول های ۲ و ۳ آورده شده اند. بر این اساس از لحاظ آماری بین ژنوتیپ های GG و TT در دو گروه CAD-Diabetes و Control اختلاف معناداری وجود نداشت؛ P =۰/۰۶۹ (OR=۷/۳۰۹ ؛ CI: ۰/۸۵۴-۶۲/۵۴۹)، ولی بین ژنوتیپ های GG و GT در دو گروه فوق اختلاف معناداری وجود داشت P=۰/۰۲۰ (OR=۲/۰۸۱ ؛CI: ۱/۱۲۳-۳/۸۵۸). همچنین بین ژنوتیپ های GG و TT در دو گروه CAD و کنترل اختلاف معناداری وجود داشت. P=۰/۰۱۹ (OR=۱۲/۰۸۲ ؛ CI : ۱/۵۱۵-۹۶/۳۵۲)؛ ولی بین ژنوتیپ های GG و GT در دو گروه فوق اختلاف معناداری وجود نداشت P=۰/۲۰۰ (CI: ۰/۸۰۴-۲/۸۳۵ ؛OR=۱/۵۱). بین ژنوتیپ های GG، TT در دو گروه Diabetes و Control اختلاف معناداری وجود نداشت، P=۰/۱۲۱ (CI: ۰/۶۳۴-۴۹/۱۵۱؛ OR=۵/۵۸)، که می تواند به دلیل تعداد اندک ژنوتیپ های TT در گروه کنترل باشد. به علاوه بین ژنوتیپ های GG و GT

www.SID.ir

Archive of SID

در دو گروه فوق اختلاف معناداری نیز مشاهده نشد، P=۰/۱۰۵ (CI: ۰/۸۹۸–۳/۱۲۳؛ OR=۱/۶۷۵). بین ژنوتیپ های GG و TT در دو گروه CAD-Diabetes و Diabetes اختلاف معناداری وجود نداشت، P=۰/۶۷۱ (CI: ۰/۳۷۸–۴/۵۳۲؛ OR=۱/۳۰۹)؛ علاوه بر این بین ژنوتیپ های GG و GT در دو گروه فوق اختلاف معناداری وجود نداشت P=۰/۴۶۲ (CI: ۰/۶۹۷–۲/۲۱۵؛ OR=۱/۲۴۲). بین ژنوتیپ های GG و TT در دو گروه CAD-Diabetes و CAD اختلاف معناداری مشاهده نشد؛ P=۰/۳۵۲ (CI: ۰/۲۱۰–۱/۷۴۵؛ OR=۰/۶۰۵)، همچنین بین ژنوتیپ های GG و GT در دو گروه فوق اختلاف معناداری وجود نداشت؛ P=۰/۲۸۳ (CI: ۰/۷۶۷–۲/۴۷۵؛ OR=۱/۳۷۸). همان گونه که جدول ۳ نشان می دهد از نظر فراوانی ژنوتیپ های مختلف eNOS اختلاف معناداری میان زنان و مردان، در مقایسه با هم در هر گروه مشاهده نشد.



شکل ۱: الکتروفورز ژنوتیپ های مختلف eNOS سه ستون سمت راست تکثیر قطعه ۲۴۸bp مربوط به ژنوتیپ wild یا طبیعی eNOS یعنی GG می باشد. ستون چهارم تکثیر قطعات ۲۴۸bp، ۱۵۸bp و ۹۰bp مربوط به ژنوتیپ هتروزیگوت eNOS یعنی GT را نشان می دهد. ستون هشتم تکثیر قطعات ۱۵۸bp و ۹۰bp مربوط به ژنوتیپ هتروزیگوت NOS یا TT می باشد.

جدول۱: مشخصات دموگرافیک، سابقه سیگار، پروفایل لیپید سرمی، تعداد عروق گرفته و BMI افراد مورد مطالعه در چهار گروه متمایز

		CAD-Diabetes	CAD	Diabetes	Control	P
سن(سال)		۵۷/۶۴	۵۵/۸۳	۵۶/۵۰	۵۴/۳۴	۰/۰۹
جنس	تعداد مرد (٪)	۵۲(٪۵۱)	۶۱(٪۵۸/۱)	۵۱(٪۵۰/۵)	۴۷(٪۵۱/۱)	۰/۶۵
	تعداد زن(٪)	۵۰(٪۴۹)	۴۴(٪۴۱/۹)	۵۰(٪۴۹/۵)	۴۵(٪۴۸/۹)	۰/۶۵
افراد سیگاری(٪)		٪۱۱/۸	٪۲۹/۵	٪۳	٪۱۳	۰/۰۰
افراد دارای سابقه فشارخون بالا(٪)		٪۵۱/۵	٪۴۸/۶	٪۲۸/۷	٪۲۶/۱	۰/۰۰
FBS(mg/dl)		۱۶۷/۸±۶۴/۷	۱۰۵/۴±۳۲/۱	۱۶۲/۹±۷۱/۳	۹۷/۰±۲۰/۱	۰/۰۰
TG(mg/dl)		۲۰۲/۲±۸۷/۹	۱۵۱/۸±۸۳/۲	۲۰۰/۸±۹۹/۳	۱۶۱/۵±۶۴/۵	۰/۰۰
TC(mg/dl)		۲۰۷/۶±۱۸۵/۴	۱۸۲/۸±۳۶/۱	۱۸۵/۹±۴۵/۸	۱۷۶/۸±۲۵/۸	۰/۱۴۱
LDL(mg/dl)		۹۷/۸±۳۰/۸	۹۴/۱±۲۵/۹	۹۸/۵±۳۸/۴	۸۲/۸±۱۷/۸	۰/۰۰۱
HDL(mg/dl)		۴۴/۷±۱۰/۵	۴۹/۲±۷/۵	۴۵/۲±۱۰/۲	۴۹/۸±۵/۸	۰/۰۰
٪ (>=۳) Stenosis		٪۴۸	٪۴۵/۷	۰/۰	۰/۰	۰/۰۰
BMI(Kg/m^2)		۲۵/۶±۴	۲۶/۲±۲/۷	۲۶±۲/۷	۲۶/۶±۳/۷	۰/۷۶۵

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲: فراوانی ژنوتیپ های مختلف eNOS در گروه های مورد مطالعه

بیماران	TT		TG		GG	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
CAD/Diabetes	۶*	۵/۹	۴۱*	۴۰/۲	۵۵	۵۳/۹
CAD	۱۱*	۱۰/۵	۳۳*	۳۱/۴	۶۱	۵۸/۱
Diabetes	۵	۵	۳۶	۳۵/۶	۶۰	۵۹/۴
Control	۱	۱/۱	۲۴	۲۶/۱	۶۷	۷۲/۸

* P< ۰/۰۵ در مقایسه با کنترل

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپ های مختلف eNOS در گروه های مورد مطالعه به تفکیک جنس

بیماران	TT		TG		GG	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
CAD/Diabetes						
مرد	۳	۵۰	۲۲	۵۳/۷	۲۷	۴۹/۱
زن	۳	۵۰	۱۹	۴۶/۳	۲۸	۵۰/۹
CAD						
مرد	۷	۶۳/۶	۱۸	۵۴/۵	۳۶	۵۹
زن	۴	۳۶/۴	۱۵	۴۵/۵	۲۵	۴۱
Diabetes						
مرد	۵	۱۰۰	۱۹	۵۲/۸	۲۷	۴۵
زن	۰	۰	۱۷	۴۷/۲	۳۳	۵۵
Control						
مرد	۰	۰	۹	۳۷/۵	۳۸	۵۶/۷
زن	۱	۱۰۰	۱۵	۶۲/۵	۲۹	۴۳/۳

بحث

در مطالعه کنونی فراوانی ژنوتیپ های eNOS در دو گروه CAD/Diabetes (۵۳/۹ درصد=GG و ۵/۹ درصد=TT) و Control ۷۲/۸ درصد=GG و ۱/ ۱ درصد=TT) نشان داد که بین دو گروه اختلاف معناداری وجود ندارد؛ P =۰/ ۰۶۹ (۰/۸۵۴-۶۲/۵۴۹ CI: ؛ OR=۷/۳۰۹)، اما با توجه به OR ژنوتیپ TT به طور غیر معناداری یک فاکتور خطر برای ابتلاء به CAD می باشد. بین فراوانی ژنوتیپ های GG و GT (۴۰/۲ درصد)، (۲۶/۱ درصد) در دو گروه فوق اختلاف معناداری وجود داشت؛ P=۰/۰۲۰ (۳/۸۵۸-۱/۱۲۳: CI ؛ OR=۲/۰۸۱) به این معنی که در گروه CAD-Diabetes خطر CAD یا دیابت در حضور آلل موتانت T، در حدود ۲ برابر نسبت به کنترل می باشد. همچنین در گروه CAD بین فراوانی ژنوتیپ های GG (۵۸/۱

www.SID.ir

Archive of SID

درصد) و TT (۵ درصد) و کنترل اختلاف معناداری وجود داشت، P=۰/۰۱۹ (۹۶/۳۵۲-۱/۵۱۵ : CI ؛ OR=۱۲/۰۸۲) که نشان دهنده افزایش ۱۲ برابری خطر CAD در حضور آلل T در گروه CAD نسبت به گروه کنترل می باشد؛ ولی بین فراوانی ژنوتیپ های GG و GT در دو گروه فوق اختلاف معناداری وجود نداشت P=۰/۲۰۰ (۲/۸۳۵-۰/۸۰۴ :CI ؛ OR=۱/۵۱). و این بدان معنی است که گونه موتانت eNOS (TT) ممکن است سبب افزایش خطر CAD در افراد گروه CAD شده باشد (جدول ۲،۳).

در مطالعات مختلف ده پلی مورفیسم متفاوت در ژن eNOS شرح داده شده است. سه تا در قسمت ۵`- flanking region، دو تا در ناحیه توالی کدون و ۵ تا در نواحی اینترونی. مطالعات تعیین ارتباط بالینی بین پلی مورفیسم های متفاوت ژن eNOS و بیماریهای قلبی - عروقی، مانند CAD، فشار خون، سکته و ترومبوز ورید های عمقی (DVT) با نتایج متناقضی همراه بوده است (۱۴) جمعیت های دارای قومیت های متفاوت می تواند یکی از دلایل آن باشد.

در مطالعه هینگورانی و همکاران هموزیگوت بودن برای پلی مورفیسم (TT) NOS3 یا Asp ۲۹۸ به عنوان ریسک فاکتورCAD در آنژیوگرافی و MI گزارش شده است (۱۵). افراد هموزیگوت برای واریانت Asp ۲۹۸ حدود ۴ برابر ریسک بالاتری برای CAD نسبت به افراد هموزیگوت برای Glu ۲۹۸ داشته اند. علاوه بر این نسبت فوق در حدود ۲/۵ برابر برای MI حاد گزارش شده است (۱۵).

در مطالعه لمبو و همکاران، افراد با پلی مورفیسم Asp ۲۹۸ دو برابر بیشتر نسبت به گروه کنترل دچار پلاک های کاروتید می شوند و در واریانت Glu۲۹۸ تفاوتی با گروه کنترل ندارند. به علاوه افراد هتروزیگوت نسبت به گروه کنترل ریسک بالاتری برای پلاک های کاروتید نداشتند. در مطالعه آنها افراد هموزیگوت برای Asp ۲۹۸ سه برابر ریسک بیشتری نسبت به افراد هموزیگوت Glu ۲۹۸ برای پلاک های کاروتید داشتند (۱۶). در مطالعه حاضر ریسک CAD در افراد دیابتی مبتلا به CAD با ژنوتیپ GT (هتروزیگوت) دو برابر گروه کنترل بود. ولی افراد هموزیگوت اختلاف معناداری با گروه کنترل نداشتند که می تواند به علت تعداد اندک افراد با ژنوتیپ هموزیگوت (TT) در جامعه مورد مطالعه کنونی باشد. ولی در گروه CAD ریسک CAD با دیابت در حدود ۱۲ برابر گروه کنترل می باشد که ریسک بالاتری را نسبت به دو مطالعه هینگورانی و لمبو نشان می دهد.

نتیجه گیری

دلیل اختلاف ریسک CAD در مطالعه ما با سایر مطالعات می تواند به خاطر زمینه ژنتیکی و یا شرایط محیطی (مثل نوع تغذیه) در افراد مورد مطالعه ما باشد. ولی به هر حال با توجه به نتایج مطالعه حاضر، پلی مورفیسم ژن eNOS ممکن است باعث افزایش ریسک CAD یا دیابت در افراد مورد مطالعه ما شده باشد. میزان خطر CAD یا دیابت در مطالعات به طور متفاوتی ذکر گردیده است. لذا پیشنهاد می شود چنین مطالعاتی با توجه به زمینه ژنتیکی هر جامعه و شرایط محیطی موجود در آن منطقه انجام گیرد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1-Harvey S, Zieve D. Coronary Artery Disease. Available from:http://www.walgreens.com /library/ contents . html?docid=000003&doctype=10

2-Hatmi ZN, Tahvildari S, Gafarzadeh Motlag A, Sabouri Kashani A. Prevalence of Coronary Artery Disease Risk Factors in Iran: a Population Based Survey. BMC Cardiovasc Disord.;7:32.

3-World Health Organization. Available from: http://www. historymania.com /american_ history/ World_ Health _Organisation.

4-Ghaedi M, Haji Zeinali AM, Boroumand MA, Abbasi SH. Homocysteine level in CAD patients of Iranian population. Iranian Cardiovascular Research Journal 2007; 1(2):92-7.

5-Cook S. Coronary Artery Disease, Nitric Oxide and Oxidative Stress: The "Yin-Yang" Effect--a Chinese Concept for a Worldwide Pandemic. Swiss Med Wkly. 2006;136(7-8):103-13.

6-Shabani M, Afarideh B, Firoozrai M, Pazouki H.R. The Effect of Lipopolysaccharide (LPS) on Nitric Oxide (NO) and Glucose Concentration in the Serum of SD Rats (Sprague Dawley). Iran University of Medical Sciences Journal 2006; 13(52):145-50.

7-Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM, Cusco JA, Lee BK, Creager MA. Impaired endothelium-Dependent Vasodilation in Patients with Insulin-Dependent Diabetes Mellitus.Ciculation 1993; 88:2510-6.

8-De Vries AS, Verbeuren TJ, Van de Voorde J, Lameire NH, Vanhoutte PM. Endothelial Dysfunction in Diabetes. Br J Pharmacol 2000;130(5):963-74.

9-Hopfner RL, Gopalakrishnan V. Endothelin: Emerging role in Diabetic Vascular Complications.Diabetologia 1999; 42(12):1383-94.

10-Bédard S, Marcotte B, Marette A. Cytokines Modulate Glucose Transport in Skeletal Muscle by Inducing the Expression of Inducible Nitric Oxide Synthase. Biochem Journal 1997; (Pt 2):487-93.

11-Eng C, smith DP, Mulligan LM, Healey CS, Zvelebil MJ, Stonehouse TJ, et al. A Novel Point Mutation in the Tyrosine Kinase Domain of the RET Proto-oncogene in Sporadic Medullary Thyroid Carcinoma and in a Family with FMTC. Oncogen 1995; 10(3):509-13.

12-Cai H, Wilcken DE, Wang XL. The Glu-298-->Asp (894G-->T) Mutation at Exon 7 of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene and Coronary Artery Disease. J Mol Med 1999; 77(6):511-4.

13-Hunt SC, Williams CS, Sharma AM, Inoue I, Williams RR, Lalouel JM. Lack of Linkage Between the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene and Hypertension. J Hum Hypertens 1996; 10(1):27-30.

14-Wang XL, Wang J. Endothelial Nitric Oxiade Synthase Gene Sequence Variations and Vascular Disease. Mol Genet Metab 2000; 70(4):241-51.

15-Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A. A Common Variant of the Endothelial Nitric Oxide Synthase (Glu298-->Asp) is a Major Risk Factor for Coronary Artery Disease in the UK. Ciculation 1999; 100(14):1515-20.

16-Lembo G, De Luca N, Battagli C, Iovino G, Aretini A, Mucicco M, et al. A Common Variant of Endothelial Nitric Oxide Synthase (Glu298Asp) is an Independent Risk Factor for Carotid Atherosclerosis. Stroke 2001; 32(3):735-40.

www.SID.ir

Archive of SID

Evaluation of Glu298Asp Polymorphism of the Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene and Its Relationship with Coronary Artery Disease and Type II Diabetes Mellitus with/without CAD in Kermanshah

Norouzi Rad R[*1], Rahimi Z [2], Nomani H[2], Saeidi M[3], Rezaei M[4]

[1]Department of Biochemistry, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences Ahvaz, Iran, [2]Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, [3] Department of Heart Surgery, [4] Department of Statistic, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences Kermanshah, Iran.

Abstract

Background and Objective: There are some reports indicating that the Glu298Asp polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene is associated with coronary artery disease (CAD). The aims of the present study were to evaluate possible association between the endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene polymorphism of Glu298Asp (G894T) and occurrence of CAD and diabetes in type II diabetic patients with and without CAD.

Subjects and Methods: In this case-control study, the polymorphism of eNOS Glu298Asp was detected using PCR-RFLP method in 203 diabetic patients with/without CAD, 105 CAD patients and 92 healthy subjects according to angiographic evidence. All studied individuals were from Kermanshah, a city in western Iran.

Results: The frequencies of three eNOS genotypes of GG, GT and TT were not significantly different in diabetic patients with CAD (53.9%, 40.2% and 5.9%, respectively) compared to those without CAD (59.4%, 35.6% and 5%, respectively, P= 0.730). But the frequencies of these genotypes in diabetic patients with CAD were significantly different compared to those of control subjects (72.8%, 26.1% and 1.1%, respectively, P=0.013). Although the frequencies of these genotypes in diabetic patients without CAD were not significantly different compared with those of control subjects (P=0.08), the mutant allele in diabetic patients was seen more.

Conclusion: The eNOS 298Asp mutation is common in diabetic patients with CAD and also in CAD patients from Kermanshah. This might be associated with occurrence of CAD in patients with or without diabetes .

Sci Med J 2010; 9(4):375-383

Keywords: Diabetes, Coronary Artery Disease, Endothelial Nitric Oxide Synthase, Mutation.

Received: Dec 16, 2009 **Revised: Apr 25, 2010** **Accepted: May 19, 2010**

[*]Corresponding author email: rezaim72@yahoo.com

www.SID.ir