مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال بیست و نهم/شماره ۱۶۰/هفته چهارم آذر ماه ۱۳۹۰ تاریخ دریافت: ۹۰/۳/۳۱ تاریخ پذیرش: ۹۰/۶/۱۰

ارتباط مشکلات پس از عمل جراحی بای‌پاس عروق کرونر با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۶ در بیماران ایرانی

یاسمن قائمی[۱]، دکتر علی‌محمد سبزقبایی[۲]، دکتر محسن میر محمد صادقی[۳]، دکتر محمد هاشمی[۴]، دکتر بهرام سلیمانی[۵]، دکتر حمید میر محمد صادقی[۶]

خلاصه

مقدمه: پلی‌مورفیسم ژن اینترلوکین ۶ (IL6) به عنوان یک سایتوکاین مهم التهابی می‌تواند یکی از عوامل تأثیرگذار در بروز مشکلات پس از عمل جراحی بای‌پاس عروق کرونر (Coronary artery bypass graft یا CABG) باشد. این مطالعه با هدف بررسی پلی‌مورفیسم ژن IL6 174 G>C با بروز مشکلات پس از عمل در بیماران تحت CABG انجام گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، نمونه‌ی خون تام از کلیه‌ی بیماران قلبی مراجعه کننده به بیمارستان سینای اصفهان جهت انجام CABG تهیه شد. ۵۰ بیمار دارای مشکلات پس از عمل (Postoperative complication یا POC) و ۴۸ بیمار فاقد این مشکلات (NPOC) در دو گروه از نظر سن و جنس همسان‌سازی شده، مورد مطالعه قرار گرفتند. اطلاعاتی چون سن، جنس، میزان خون‌ریزی بعد از عمل، مدت رمان ماندن در بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit یا ICU)، مدت زمان ونتیلاسیون و مدت زمان اینوتروپ بعد از عمل برای بیماران جمع‌آوری شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری Student-t و χ^2 انجام شد.

یافته‌ها: ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن IL6 و مشکلات پس از CABG وجود نداشت ($P = ۰/۱۲۶$)، ولی اختلاف دو ژنوتیپ GG و GC بین دو گروه مورد و شاهد معنی‌دار بود. برای ژنوتیپ GG $P = ۰/۰۵$ و برای ژنوتیپ GC $P = ۰/۰۳۵$ محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده ژنوتیپ GG می‌تواند یکی از عوامل التهاب و مشکلات پس از عمل باشد. علت تفاوت مشاهده شده در برخی از بخش‌ها در مقایسه با سایر مطالعات مرتبط، ممکن است به علت کمبود نمونه و یا نژاد مورد مطالعه‌ی ما (نژاد ایرانی) بوده باشد.

واژگان کلیدی: پلی‌مورفیسم، ژن اینترلوکین ۶، مشکلات پس از جراحی، عمل جراحی بای‌پس عروق کرونر.

مقدمه

بیماری‌های شریان کرونر (Coronary artery diseases یا CAD) ازجمله مهم‌ترین اشکال بیماری‌های قلبی می باشند که سبب انسداد شریان های خون‌رسان به ماهیچه‌ی قلب می گردند. آترواسکلروز و تشکیل پلاک از علل عمده‌ی این انسداد می‌باشند (۲-۱).

عمل جراحی بای پاس عروق کرونر (CABG یا Coronary artery bypass graft) یکی ازجراحی‌های مهم قلبی است. پس از این عمل، بیمار ممکن است دچار مشکلاتی چون خون‌ریزی غیرطبیعی (بیش از

[۱] دانشجوی دکترای داروسازی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] دانشیار، مرکز پژوهش‌های توکسیکولوژی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] استادیار، گروه جراحی قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۴]. دانشیار، گروه بیماری‌های قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۵] دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد، اصفهان، ایران.
[۶] دانشیار، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر حمید میر محمد صادقی
Email: h_sadeghi@pharm.mui.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

۵۰۰ میلی لیتر) (۴-۳)، نیاز به حمایت تنفسی بیش از حد طبیعی (بیش از ۱۲ ساعت) (۵، ۳)، آریتمی های بطنی (۶، ۳)، توقف طولانی در بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit یا ICU) (بیش از ۲ روز) و همچنین عفونت و التهابات بعد از عمل شود (۳). عوامل گوناگونی ممکن است در ایجاد این مشکلات درگیر باشند که مقدار بالای لیپوپروتئین a (۷)، سابقه‌ی قبلی سکته‌ی قلبی، ابتلا به دیابت (۹-۸) و پلی مورفیسم عوامل التهابی از آن جمله هستند (۳).

در صورتی که این جراحی با موفقیت پایان نپذیرد، فرد می‌تواند دچار علایم التهابی گردد و به احتمال زیاد تغییر در میزان سایتوکاین های التهابی رخ می‌دهد. اینترلوکین ۱ (IL1)، اینترلوکین ۶ (IL6) و عامل نکروز بافتی آلفا (Tumor necrotizing factor-α یا TNF-α) سایتوکاین‌های التهابی هستند که می‌توانند در مشکلات قلبی از جمله علایم مشکل‌زای پس از CABG تأثیرگذار باشند.

از جمله مهم‌ترین این سایتوکاین‌ها، IL6 می‌باشد (۳-۲). IL6 توسط سلول های T و ماکروفاژها برای تحریک پاسخ ایمنی در برابر تروما و آسیب های بافتی ترشح می‌شود. همچنین این سایتوکاین برای مقاومت نسبت به پاتوژن‌های خارجی مانند استرپتوکوک نومونیا (Streptococcus pneumonia) ترشح می‌گردد که این باکتری خود یکی از عوامل پریکاردیت می باشد. ترشح این سایتوکاین به دنبال آسیب هایی که در اثر عوامل خارجی، جراحی ها و عفونت‌ها به بافت قلب وارد می شود، افزایش می‌یابد که این خود می تواند رابطه‌ی آن با CAD را نشان دهد (۱۱-۱۰).

اثر فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک IL6 هم می‌تواند در جهت افزایش التهاب و هم کاهش آن باشد، که این اثر هم به صورت موضعی و هم سیستمیک می‌باشد. اثر ضد التهاب IL6 توسط اثر مهاری آن روی TNF-α و IL1، همچنین با فعال کردن IL1ra و IL10 واسطه گری می شود. این سایتوکاین باعث تکثیر و تمایز لنفوسیت های B و T می گردد و در پاسخ فاز حاد کبدی مؤثر می باشد. این پاسخ شامل اثر بر پروتئین واکنش C (C-reactive protein یا CRP) و PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor-1) و محصولات فیبرینوژنی آن است. به نظر می‌رسد این سایتوکاین که توسط ماهیچه های صاف عروقی ترشح می شود، ارتباط مستقیمی با بیماری‌های التهابی قلبی- عروقی داشته باشد. IL6 اندوتلیوم و لکوسیت دیواره‌ی عروقی را تحریک می کند. همچنین موجب تکثیر ماهیچه‌های صاف دیواره ی عروق می شود. همه‌ی این اعمال موجب رشد پلاک و ناپایداری در آترواسکلروز می‌شود (۱۲-۱۰).

با توجه به این که IL6 یک سایتوکاین التهابی بوده است و همچنین با عنایت به اثرات فیزیولوژیک آن که در بالا ذکرشد، به نظر می‌رسد که بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های کد کننده‌ی این واسطه با بروز مشکلات ثانویه ای که به دنبال CABG پیش می آید جهت پیش‌بینی آن‌ها قابل توجه باشد.

در رابطه با پلی‌مورفیسم IL6 و CABG مطالعات محدودی انجام شده است. Sanders و همکاران ارتباطی میان مشکلات پس از CABG وافزایش مقدار IL6 را نشان داده اند، ولی به ارتباط دقیقی بین این مشکلات و پلی‌مورفیسم این ژن دست نیافتند (۳)، در حالی که Podgoreanu و همکاران به رابطه‌ی این پلی مورفیسم و نکروز ماهیچه ای شدید بعد از CABG پی بردند و به این نتیجه رسیدند که شاید این پلی مورفیسم شاخصی برای قبل از عمل جراحی قلب

Archive of SID
www.SID.ir

برای افراد با خطر بالا و یک استراتژی جدید برای محافظت از قلب باشد (۹).

بنابراین با توجه به موارد اشاره شده فوق و تفاوت در نتایج به دست آمده و همچنین به علت محدودیت مطالعات در این زمینه و میزان بالای مرگ و میر ناشی از مشکلات پس از CABG و نقش احتمالی واسطه‌های التهابی به خصوص IL6، تصمیم گرفتیم تا ارتباط احتمال بروز مشکلات پس از عمل را با تفاوت‌های ژنوتیپی بیماران از نظر ژن کد کننده‌ی IL6 بررسی نماییم.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی نمونه‌ی خون تام از کلیه‌ی بیماران قلبی مراجعه کننده به بیمارستان سینا در شهر اصفهان جهت انجام CABG، از مهر ماه ۱۳۸۹ لغایت خرداد ماه ۱۳۹۰، تهیه شد. نمونه‌ها از دو گروه ۵۰ بیمار دارای مشکلات پس از عمل (POC یا Postoperative complication) و ۴۸ بیمار فاقد این مشکلات (NPOC) گرفته شد. از کلیه‌ی بیماران برای شرکت در مطالعه رضایت‌نامه اخذ شد. این مطالعه به تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های انسانی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید.

بررسی های پس از جراحی روزانه تا زمان مرخصی بیمار از بیمارستان برای ثبت عوارض پس از CABG جهت شناسایی گروه POC انجام گرفت. این مشکلات شامل خون‌ریزی بعد از عمل (بیشتر از ۵۰۰ میلی لیتر)، ونتیلاسیون بیشتر از ۱۲ ساعت، حمایت Inotropic بیشتر از ۲۴ ساعت، طولانی شدن مدت ماندن در ICU (بیشتر از ۲ روز)، نارسایی کلیوی و نیاز به هموفیلتراسیون، عفونت ها (جراحت و زخم های تنفسی و ادراری) که نیاز به درمان با آنتی بیوتیک‌ها دارند، تب (بیشتر از ۳۸ درجه‌ی سانتی گراد)، نقایص نورولوژیک، دیس ریتمی های ونتریکولار که نیاز به مداخله‌ی درمانی شامل استفاده از داروهای آنتی آریتمی و شوک دارند، بودند. اطلاعات آنژیوگرافی شامل درصد گرفتگی عروق، سن، جنس، سابقه‌ی ابتلا به دیابت در فرد یا خویشاوندان درجه ی یک و دو، فشار خون سیستولی و دیاستولی، سیگار کشیدن، بروز مرگ بعد از عمل جراحی و قد و وزن برای کلیه‌ی بیماران جمع‌آوری شد. لازم به ذکر می باشد که به دلیل معمول بودن فیبریلاسون دهلیزها [Atrial fibrilation یا AF) پس از جراحی های قلبی (۱۳)] این عارضه به عنوان عارضه‌ی پس از عمل در نظر گرفته نشد.

۳ میلی‌لیتر خون تام بیماران در لوله‌های نمونه‌گیری مخصوص حاوی EDTA (اتیلن دی آمین ترا استات) ریخته و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

از کلیه بیماران به صورت آگاهانه رضایت‌نامه اخذ شد. روش انجام کار این مطالعه به تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های انسانی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید.

برای استخراج DNA از سلول‌های لکوسیت از کیت استخراجی DNA، که از شرکت Roche (آلمان) تهیه شده بود، استفاده گردید. ابتدا تمام وسایل مورد نیاز شامل سر سمپلرهای آبی و زرد، راک‌ها، میکروتیوب‌های ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌لیتر در اتوکلاو استریل شده و تا زمان استفاده در فور نگهداری شدند. نمونه‌ی خونی که در فریزر بود، بیرون آورده شد تا در دمای آزمایشگاه به آرامی ذوب شود.

۲۰۰ میکرولیتر از خون به آرامی با سمپلر آبی به داخل تیوب ۱/۵ میلی لیتری انتقال داده شد و به آن ۲۰۰ میکرولیتر بایندینگ بافر (Green cap) و ۴۰ میکرولیتر

Archive of SID
www.SID.ir

پروتئیناز K اضافه و با سمپلر به خوبی مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه ی سانتی گراد انکوبه گردید (جهت جلوگیری از تخریب، پروتئیناز K قبل از استفاده روی یخ نگهداری شد). پس از پایان ۱۰ دقیقه به مخلوط حاصل از مرحله‌ی قبل ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه و به خوبی مخلوط شد. در این مرحله مخلوط حاصل از مرحله ی قبل توسط سمپلر به یک High pur filter-collection tube منتقل و به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. فیلتر را در یک Collection tube جدید گذاشته، مواد Collection tube قبلی در ضایعات تخلیه گردید. به فیلتر ۵۰۰ میکرولیتر بافر مهار کننده‌ی Black cap (Inhibitor buffer) اضافه و به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. میکروتیوب فیلتر تعویض و فیلتر در یک میکروتیوب جدید قرار داده شد و به آن ۵۰۰ میکرولیتر بافر شستشو دهنده‌ی Blue cap (Wash buffer) اضافه کرده، به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. این مرحله ۲ بار تکرار گردید. پس از پایان دو مرحله‌ی شستشو، فیلتر را در Collection tube جدید گذاشته، به مدت ۱۰ ثانیه با حداکثر سرعت دستگاه سانتریفیوژ شد (۱۳۰۰ دور در دقیقه). فیلتر را از Collection tube خارج کرده، در داخل میکروتیوپ ۱/۵ میلی لیتری قرار داده، به آن ۵۰ میکرولیتر Elution buffer اضافه کرده، به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. Elution buffer پیش از آن در بن‌ماری ۷۰ درجه‌ی سانتی گراد قرار گرفته و به دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی گراد رسیده بود. این عمل را برای ۳ بار بر روی فیلتر انجام داده، هر بار ۵۰ میکرولیتر از این بافر داغ (۷۰ درجه ی سانتیگراد) روی آن ریخته شد. پس از سانتریفیوژ کردن، DNA استخراج شده به صورت محلول در Elusion buffer به دست آمد. پس از استخراج، ۵ میکرولیتر از این محلول در ژل ۰/۸ درصد آگارز در تانک الکتروفورز کاشته و توسط اتیدیوم بروماید مشاهده گردید تا از صحت انجام استخراج DNA اطمینان حاصل شود.

پرایمر به کار رفته در واکنش PCR (Polymerase chain reaction) پس از بررسی مقالات معتبر (۱۴، ۲) سفارش داده شد. طول قطعه‌ی تکثیر شده توسط این پرایمر ۱۹۸ bp بود و شامل ۲ قطعه‌ی Forward و Reverse بود. پرایمر جلوبرنده شامل 5'-TGACTTCAGCTTTACTCTTTGT-3' و همچنین پرایمر معکوس نیز شامل 5'-CTGATTGGAAACCTTATTAAG-3' بود.

با استفاده از ۲ میکرولیتر DNA ژنومی استخراج شده و مواد لازم جهت انجام PCR شامل ۱۶ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (× ۱۰)، ۲/۸ میکرولیتر منیزیم کلراید (۲۵ میکرومول)، ۰/۵ میکرولیتر d NTP، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر forward، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر reverse و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم DNA polymerase Taq (که همگی این مواد از شرکت fermentas لهستان تهیه شده بودند) واکنش PCR انجام شد. مرحله‌ی Initial denaturation به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس ۳۰ مرحله‌ی تکراری به این ترتیب انجام شد:

مرحله‌ی Denaturation به مدت ۱ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی Annealing به مدت ۲ دقیقه در ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و مرحله‌ی Extention به مدت ۳ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. در انتها مرحله‌ی Final extention به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گردید (۱۵).

Archive of SID
www.SID.ir

پس از استخراج، ۵ میکرولیتر از محصول PCR در ژل ۰/۸ درصد آگارز در تانک الکتروفورز کاشته شد و توسط اتیدیوم بروماید مشاهده گردید.

برای انجام DNA digestion توسط آنزیم SfaNI بر اساس روش پیشنهادی شرکت Fermentas (لهستان) در یک تیوب ۱۰ میکرولیتری از محصول PCR را با ۱۸ میکرولیتر آب فاقد آنزیم نوکئاز، ۲ میکرولیتر بافر (۱۰×) Tango و ۱ تا ۲ میکرولیتر آنزیم SfaNI (LweI) به خوبی توسط پیپت مخلوط کرده، سپس لوله در بن‌ماری در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ تا ۱۶ ساعت انکوبه گردید و در نهایت برای مشاهده‌ی نتایج از ژل پلی آکریلامید (۱۰ درصد) استفاده شد.

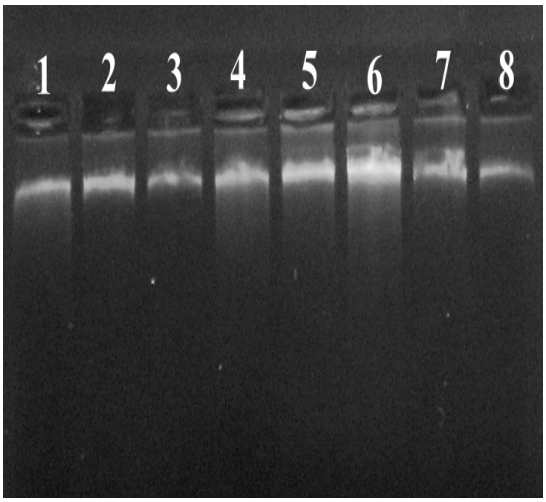
پس از جمع‌آوری اطلاعات از جمله ژنوتیپ و سایر متغیرهای کمی و کیفی جدول متغیرها مربوط به هر دو گروه مورد و شاهد، این اطلاعات وارد نرم افزار SPSS نسخه‌ی ۱۱/۵ (version 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL) شد. سپس اطلاعات توسط آزمون های آماری Student-t و χ^2 آنالیز شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها

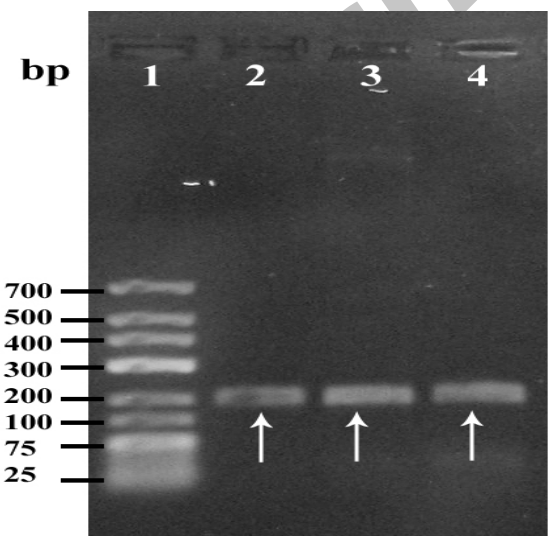
تعداد ۹۸ بیمار در دو گروه مورد (۵۰ بیمار) و شاهد (۴۸ بیمار) مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه در گروه مورد، ۳۴ مرد و ۱۶ زن و در گروه شاهد، ۴۰ مرد و ۸ زن مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی افراد در گروه مورد ۱۰/۳۸ ± ۶۲/۶۶ و در گروه شاهد ۸/۵۱ ± ۵۷/۹۴ سال بود.

DNA ژنومی طبق روش ذکر شده از نمونه‌های خون فریز شده استخراج شد و پس از آن روی ژل ۸ درصد آگارز مشاهده گردید. باندهای نشان داده شده در شکل ۱، استخراج موفق DNA را نشان می‌دهند.

DNAPCR ژن IL6 با استفاده از پرایمر و روش گفته شده انجام گرفت. قطعات DNA به طول ۱۹۸ bp بر اساس محل قرار گرفتن پرایمر روی ژن IL6 و محاسبه‌ی طول آن به دست آمد (شکل ۲).



شکل ۱. استخراج DNA ژنومی‌از نمونه‌های خون
نمونه‌های موجود در چاهک‌های ۱ تا ۸ حاوی DNA گرفته شده از خون بیماران است که به صورت باندهای مشخص فاقد اسمیر هستند و نشانه‌ی سالم بودن نمونه‌ی DNA استخراج شده می‌باشند.

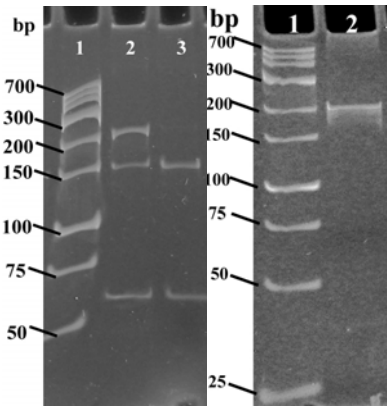


شکل ۲. مشاهده‌ی محصول PCR ژن IL6
در چاهک شماره‌ی ۱ DNA مارکر (Ladder) و در چاهک‌های ۲ تا ۴ قطعات ۱۹۸ bp حاصل از واکنش PCR دیده می‌شوند.

Archive of SID
www.SID.ir

آنزیم SfaNI، ژن IL6 را بـر روی نوکلئوتیـد ۱۷۴ برش می‌دهد. در این واکـنش موتاسـیون 174 G > C بررسی شد (۱۴، ۳-۲). در شکل A-۳ و B-۳ مشـاهده می‌شود که آنزیم SfaNI، قطعات ژنی تکثیر شده را در مکان هایی به این شرح برش داد: ژنوتیپ هموزیگوت CC: ۱۹۸ bp، ژنوتیپ هتروزیگـوت GC: ۱۴۰ + ۱۹۸ + ۵۸ bp و ژنوتیپ هموزیگـوت GG: ۱۴۰ + ۵۸ bp. قطعات به دست آمده روی ژل آکریلامیـد ۱۰ درصـد مشاهده گردید و ژنوتیپ بیماران در هر ۲ گروه مـورد و شاهد مشخص شد (شکل ۳).

اطلاعات به دست آمده توسط آزمـون آمـاری χ^2، میزان پلی‌مورفیسم IL6 را در ۲ گـروه مـورد و شـاهد مقایسه کرد. نتایج به دسـت آمـده در جـدول ۱ نشـان داده شده است.



شکل ۳. ژنوتیپ بیماران پس از برش نمونه‌ها توسط آنزیم SfaNI

شکل A: در چاهک ۱ Ladder، چاهک ۲ نمونه‌ی ژنوتیپ CC (آنزیم SfaNI قادر به برش ژن نبود و قطعه‌ای با طول ۱۹۸ bp) مشاهده می‌شود.

شکل B: در چاهک ۱ Ladder، چاهک ۲ نمونه‌ی ژنوتیپ GC (این ژن دارای نوکلئوتید G و C است. آنزیم قادر به برش ژن در محل نوکلئوتید C نبود. بنابراین قطعه‌ی ۱۹۸ bp ایجاد شد. این آنزیم ژن را در نوکلئوتید G برش داده و قطعه‌ی ۱۴۰ و ۵۸ bp را ایجاد کرده است) و چاهک ۳ نمونه‌ی ژنوتیپ GG (در اثر برش آنزیم مذکور در محل نوکلئوتید ۱۹۸ bp، ۲ قطعه با طول‌های ۱۴۰ و ۵۸ bp ایجاد شد) دیده می‌شود.

بحث

CABG یکی از جراحی‌های مهم قلبی می‌باشد. پس از

جدول ۱. فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد مطالعه

	مورد	شاهد	مقدار P
ژنوتیپ‌های GG، GC و CC:			
• GG	۲۷ (۵۴)	۱۷ (۳۵/۴)	۰/۱۲۶
• GC	۱۸ (۳۶)	۲۷ (۵۶/۳)	
• CC	۵ (۱۰)	۴ (۸/۳)	
ژنوتیپ‌های GG:			
• ژنوتیپ GC و CC	۲۳ (۴۶)	۳۱ (۶۴/۶)	< ۰/۰۵
• ژنوتیپ GG	۲۷ (۵۴)	۱۷ (۳۵/۴)	
ژنوتیپ‌های GC:			
• ژنوتیپ GG و CC	۳۲ (۶۴)	۲۱ (۴۳/۸)	< ۰/۰۳۵
• ژنوتیپ GC	۱۸ (۳۶)	۲۷ (۵۶/۳)	
ژنوتیپ CC:			
• ژنوتیپ GG و GC	۴۵ (۹۰)	۴۴ (۹۱/۷)	۰/۵۲۶
• ژنوتیپ CC	۵ (۱۰)	۴ (۸/۳)	

Archive of SID
www.SID.ir

این عمل، بیمار ممکن است دچار مشکلاتی همچون خون‌ریزی بعد از عمل بیش از ۵۰۰ میلی‌لیتر و نیاز به ونتیلاسیون بیش از ۱۲ ساعت شود (۶-۳). عوامل گوناگونی چون میزان بالای لیپوپروتئین a و سابقه ی سکته‌ی قلبی در بیمار ممکن است در ایجاد این مشکلات درگیر باشند (۹، ۷، ۳). همان طور که گفته شد یکی از این عوامل سایتوکاین‌های التهابی هستند که از جمله مهم‌ترین این سایتوکاین ها، IL6 می باشد (۳-۲). در مقالات زیادی به ارتباط میان سطح سرمی این سایتوکاین و پلی‌مورفیسم ژن آن با بروز بیماری های قلبی عروقی چون انفارکتوس میوکارد، بای‌پاس کرونری- ریوی (Coronary pulmonary bypass یا CPB) و CABG اشاره شده است (۱۷-۱۶).

این مطالعه بر روی بیماران اصفهانی که تحت عمل CABG قرار گرفته بودند، در دو گروه مورد و شاهد صورت گرفت و برای اولین بار در ایران انجام شد. پس از انجام مطالعات آماری، تفاوت معنی‌داری بین جنس بیماران و قرار گرفتن آن ها در ۲ گروه مورد و شاهد وجود نداشت. پس می توان نتیجه گیری کرد که جنس بیماران عامل تعیین کننده‌ی مشکلات پس از عمل نبوده است.

اصلی ترین هدف این مطالعه که همان تعیین رابطه ی بین پلی مورفیسم ژنی IL6 با عوارض پس از CABG در بیماران بود، نیز مورد بررسی قرار گرفت که ارتباط معنی‌داری بین دو گروه دیده نشد (P = ۰/۱۲۶).

مطالعات بسیاری در جمعیت‌های متفاوت این نتیجه را تصدیق کردند. از جمله مطالعه‌ی انجام شده توسط Sanders و همکاران بود. در نهایت آن‌ها به ارتباط دقیقی در این مورد پی نبردند و تنها اعلام کردند ارتباط معنی داری بین وقوع مشکلات پس از عمل و افزایش سطح سرمی پروتئین IL6 در این بیماران وجود دارد (۳).

مطالعه‌ی دیگر توسط Podgoreanu و همکاران انجام گرفت. در این مطالعه، به رابطه‌ی این پلی مورفیسم و نکروز ماهیچه‌ای شدید و سکته ی قلبی بعد از CABG پی بردند و به این نتیجه رسیدند که شاید این پلی‌مورفیسم شاخصی برای بررسی قبل از عمل CABG درافراد در معرض خطر و یک استراتژی جدید برای محافظت از قلب باشد. همچنین ارتباط این پلی‌مورفیسم را با افزایش سطح سرمی IL6 در بیماران تأیید کردند (۹).

مطالعه‌ی دیگر توسط Georges و همکاران انجام گرفت. آن ها در نهایت به ارتباط میان این پلی موفیسم و فراوانی بروز سکته ی قلبی بعد از این عمل پی بردند و بیان کردند افرادی که دارای آلل C می باشند، بیشتر در گروه مورد قرار دارند. همچنین بیان کردند بیمارانی که دارای آلل C در ژن IL6 خود بودند، میزان کمتری از IL6 را ترشح می‌کنند (۱۸).

ما در این مطالعه علاوه بر بررسی رابطه‌ی بین پلی‌مورفیسم ژن IL6 و مشکلات پس از عمل، به بررسی اختلاف بیماران در ۲ گروه مورد و شاهد از نظر ۳ نوع ژنوتیپ مربوطه پرداختیم و به این نتیجه رسیدیم که بین ۲ گروه مورد و شاهد از نظر ژنوتیپ GG وهمچنین از نظر ژنوتیپ GC اختلاف معنی داری وجود داشت، ولی این اختلاف در مورد ژنوتیپ CC وجود نداشت.

همان طور که گفته شد افرادی که دارای ژنوتیپ GG بودند نسبت به افرادی که دارای ژنوتیپ GC

Archive of SID
www.SID.ir

بودند، بیشتر در گروه مورد قرار داشتند. به صورت غیر مستقیم می‌توان بیان کرد که بیماران با ژنوتیپ GG نسبت به بیماران با ژنوتیپ GC دارای فراوانی عوارض بیشتری خواهند بود.

در مجموع با وجود این که نتوانستیم ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن IL6 174 G > C و عوارض پس از عمل به دست آوریم، توانستیم نشان دهیم بین ۲ گروه مورد و شاهد از نظر ژنوتیپ GG و GC تفاوت وجود دارد. هم در مطالعه‌ی ما و هم در سایر مطالعات معتبر نشان داده شد که ژنوتیپ GG می تواند عامل التهاب و مشکلات پس از عمل باشد. علت تفاوت مشاهده شده در برخی از بخش ها در مقایسه با سایر مطالعات مرتبط، ممکن است به علت کمبود نمونه و یا نژاد مورد مطالعه‌ی ما (نژاد ایرانی) بوده باشد.

References

1. Libby P, Braunwald E, Bonow RO, Zipes DP. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 8th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2008.
2. Banerjee I, Pandey U, Hasan OM, Parihar R, Tripathi V, Ganesh S. Association between inflammatory gene polymorphisms and coronary artery disease in an Indian population. J Thromb Thrombolysis 2009; 27(1): 88-94.
3. Sanders J, Hawe E, Brull DJ, Hubbart C, Lowe GD, Rumley A, et al. Higher IL-6 levels but not IL6 -174G>C or -572G>C genotype are associated with post-operative complication following coronary artery bypass graft (CABG) surgery. Atherosclerosis 2009; 204(1): 196-201.
4. Ueno M, Higashi A, Sakatai R. Rare bleeding complication of the radial artery conduit after coronary artery bypass grafting with endoscopic harvesting. Ann Thorac Cardiovasc Surg 2011; 17(2): 201-3.
5. Faritous ZS, Aghdaie N, Yazdanian F, Azarfarin R, Dabbagh A. Perioperative risk factors for prolonged mechanical ventilation and tracheostomy in women undergoing coronary artery bypass graft with cardiopulmonary bypass. Saudi journal of anaesthesia 2011; 5(2): 167-9.
6. Tomaszuk-Kazberuk A, Lewczuk A, Sobkowicz B, Goscicka K, Kozuch M, Dobrzycki S, et al. Is contrast echocardiography safe and useful for the assessment of left ventricular function in the perioperative period after cardiac surgery? A pilot study. Kardiol Pol 2011; 69(7): 680-6.
7. Ezhov MV, Safarova MC, Afanas'eva OI, Il'ina LN, Liakishev AA, Pokrovskii SN. [High level of lipoprotein (a) as a predictor of poor long-term prognosis after coronary artery bypass surgery]. Kardiologiia 2011; 51(1): 18-22.
8. Matsuo Y, Kuwabara M, Tanaka-Totoribe N, Kanai T, Nakamura E, Gamoh S, et al. The defective protein level of myosin light chain phosphatase (MLCP) in the isolated saphenous vein, as a vascular conduit in coronary artery bypass grafting (CABG), harvested from patients with diabetes mellitus (DM). Biochem Biophys Res Commun 2011; 412(2): 323-7.
9. Podgoreanu MV, White WD, Morris RW, Mathew JP, Stafford-Smith M, Welsby IJ, et al. Inflammatory gene polymorphisms and risk of postoperative myocardial infarction after cardiac surgery. Circulation 2006; 114(1 Suppl): I275-I281.
10. Olivieri F, Antonicelli R, Cardelli M, Marchegiani F, Cavallone L, Mocchegiani E, et al. Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and myocardial infarction in the elderly. Mech Ageing Dev 2006; 127(6): 552-9.
11. Male DK, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. Immunology. 7th ed. Canada: Mosby Elsevier; 2006.
12. Abbas AK, Lichtman AH. Basic Immunology: functions and disorders of the immune system. Philadelphia, Pa: Saunders; 2006.
13. Ommen SR, Odell JA, Stanton MS. Atrial arrhythmias after cardiothoracic surgery. N Engl J Med 1997; 336(20): 1429-34.
14. Fernandez-Real JM, Broch M, Vendrell J, Richart C, Ricart W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. J Clin Endocrinol Metab 2000; 85(3): 1334-9.

Archive of SID
www.SID.ir

15. Moller SG, McPherson MJ. PCR. 2nd ed. Taylor & Francis; 2006.
16. Maitra A, Shanker J, Dash D, John S, Sannappa PR, Rao VS, et al. Polymorphisms in the IL6 gene in Asian Indian families with premature coronary artery disease--the Indian Atherosclerosis Research Study. Thromb Haemost 2008; 99(5): 944-50.
17. Sarecka-Hujar B, Zak I, Krauze J. Carrier-state of two or three polymorphic variants of MTHFR, IL-6 and ICAM1 genes increases the risk of coronary artery disease. Kardiol Pol 2008; 66(12): 1269-77.
18. Georges JL, Loukaci V, Poirier O, Evans A, Luc G, Arveiler D, et al. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. J Mol Med (Berl) 2001; 79(5-6): 300-5.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 29, No 160, 4th week, December 2011 Received: 21.6.2011 Accepted: 1.9.2011

Evaluation of the Association between Interleukin-6 Gene Polymorphism (IL6 174 G>C) with the Complications after the Coronary Artery Bypass Graft Surgery in Iranian Patients

Yasaman Ghaemi[1], Ali Mohammad Sabzghabaee PharmD[2], Mohsen Mirmohammad Sadeghi MD[3], Mohammad Hashemi MD[4], Bahram Soleimani PhD[5], Hamid Mirmohammad Sadeghi PhD[6]

Abstract

Background: Interleukin-6 (IL6) gene polymorphism is an important inflammatory cytokine. It may play a major role in complications observed after CABG surgery. Therefore, the present study was designed to study the relationship between IL6 174G>C gene polymorphism and complications after CABG. The aim of this study was to investigate any probable relationship between IL6 174 G >C polymorphism and complications observed after CABG surgery.

Methods: In this case-control study, whole blood samples were obtained from all patients hospitalized for CABG surgery in Sina Hospital, Isfahan. Subject were divided into two groups of patients with (POC) or without (NPOC) complications. Information such as age, sex, degree of hemorrhage after the surgery, time spent in the intensive care unit (ICU), ventilation time, and inotropic support after the surgery was collected. Statistical analysis of the obtained data was performed using t-test and chi-square test.

Findings: We did not find a correlation between IL6 gene polymorphism and complications after CABG surgery (P = 0.126). However, a significant difference was observed**.** This difference for GG was P = 0.05 and for GC was P = 0.035 between two groups.

Conclusion: GG genotype may play a role for the inflammation and complications after CABG. Further studies with larger number of patients are recommended.

Keywords: Polymorphism, IL6 Gene, Post operative Complications, CABG.

Archive of SID

[1] PharmD Candidate, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Associate Professor, Isfahan Clinical Toxicology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[3] Assistant Professor, Department of Cardiothoracic Surgery, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[4] Associate Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[5] Associate Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Medicine, Najaf Abad Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
[6] Associate Professor, Department of Medicinal Biotechnology, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Hamid Mirmohammad Sadeghi PhD, Email: h_sadeghi@pharm.mui.ac.ir

www.SID.ir