

ارتباط چند شکلی ژنی "5 T/C" پروموتورن GP1BA پلاکت با سکتة حاد قلبی زودرس در بیماران مراجعه کننده به مرکز قلب شهید رجایی تهران

عبدالباسط مولوی^۱، احمد کاظمی^۲، محمد نجفی^۳، محمد مهدی پیغمبری^۴

چکیده

سابقه و هدف

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

مواد و روش‌ها

در یک مطالعه توصیفی مقطعی در سال ۱۳۸۹، ۱۰۰ بیمار سکتة 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 ارزیابی‌های بالینی به وسیله پزشک متخصص انتخاب شدند. توزیع ژنوتیپ افراد مورد مطالعه به وسیله روش PCR-RFLP و با استفاده از DNA استخراج شده از گلبول‌های سفید انجام گرفت. یافته‌ها توسط نرم‌افزار SPSS ۱۳ و آزمون کای دو تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها

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، نشان‌دهنده تاثیر هموزیگوت CC در بروز سکتة قلبی زودرس بود (p= ۰/۵۶، OR= ۳/۰۶ و ۲۹/۹۴- CI= ۰/۳۱/۹۵).

نتیجه گیری

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

کلمات کلیدی: سکتة قلبی، گلیکوپروتئین، پلی مورفیسم (ژنتیک)

تاریخ دریافت: ۱۹/۱۲/۲۵

تاریخ پذیرش: ۹۰/ ۶/۱۵

- ۱- کارشناس ارشد هماتولوژی - بیمارستان حضرت فاطمه زهرا - قشم - ایران
- ۲- مؤلف مسؤل: PhD هماتولوژی - دانشیار دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران - ایران - صندوق پستی: ۶۱۸۳-۱۴۱۵۵
- 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

مقدمه

در وضعیت فیزیولوژیک طبیعی، پلاکت‌های گردش‌کننده در جریان خون، در حالت استراحت و غیر فعال هستند. آن‌ها به خودی خود تجمع نمی‌کنند و به سلول‌های اندوتلیال که سطوح داخلی عروق را پوشانیده‌اند، متصل نمی‌شوند. آسیب به یک رگ خونی، باعث می‌شود که لایه زیر اندوتلیال آن در معرض جریان خون قرار بگیرد، به طوری که پلاکت‌ها می‌توانند با کلاژن زیر اندوتلیال 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 بایستی قادر باشند در مواردی که عروق خونی آسیب می‌بینند، به سرعت فعال شوند تا عملکرد فیزیولوژیک خود را در تشکیل لخته انجام دهند. بنابراین فعالیت پلاکت‌ها بایستی 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 فعال‌کننده پلاکت شناخته می‌شوند که شامل ترومبین، آدنوزین دی‌فسفات (ADP)، کلاژن و اپی‌نفرین می‌باشند. از این میان، کلاژن به علت داشتن فعالیت قوی در القای چسبندگی و تجمع پلاکتی و وجود مقادیر زیاد آن در لایه زیر اندوتلیال، مهم‌ترین فعال‌کننده فیزیولوژیک پلاکت می‌باشد. پلاکت‌های فعال شده، نقش مهمی در هموستاز فیزیولوژیک و تشکیل لخته در محل آسیب عروق و آترو ترومبوز مانند بیماری شریان کرونر و سکنه مغزی بازی می‌کنند (۱، ۲). مسیرهای فعال شدن پلاکت اساساً به وسیله گیرنده‌های غشای پلاکتی به ویژه (Integrin $\alpha 2\beta 1$ ، GPIIb/IIIa، GPIb/IX/V، GPIIb/IIIa) و GPIV میانجیگری می‌شوند. این گلیکوپروتئین‌ها، در عملکردهای مختلف پلاکت در هموستاز فیزیولوژیک و روند آترو ترومبوز نظیر اتصال پلاکت به ماتریکس زیر اندوتلیال، 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/IX/V از چهار

زیر واحد تشکیل شده است: GPIb α ، GPIb β ، GPIIX و GPV. این زیر واحدها از ژن‌های متفاوتی ساخته می‌شوند (۳). نسبت زنجیره‌های GPIb α ، GPIb β و GPIIX مساوی بوده در حالی که تعداد نسخه‌های GPV نصف بقیه زنجیره‌ها می‌باشد. اتصال GPIb/IX/V به vWF از طریق زیر واحد GPIb α انجام می‌گیرد، بنابراین این گلیکوپروتئین نقش مهم و حیاتی در فعال شدن و چسبندگی پلاکت دارا می‌باشد (۴).

کمپلکس GPIb/IX/V دو نقش اصلی در هموستاز به عهده دارد که اهمیت آن را مشخص می‌کند: یکی این است که با واسطه vWF اتصال پلاکت‌ها به نواحی زیراندوتلیوم آسیب دیده را میانجیگری می‌کند و دیگر این که فعال‌سازی پلاکت‌ها را در غلظت پایین ترومبین 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 جمع‌آوری شده نشان می‌دهد که این گلیکوپروتئین‌های پلاکتی، چند شکلی‌های ژنی دارند که در پیوند با آترو ترومبوز بوده و هم چنین با تغییرپذیری در عملکرد پلاکت و تفاوت در حساسیت پلاکت افراد مختلف به داروهای ضد پلاکتی، مرتبط می‌باشند (۶).

در حال حاضر اهمیت بالینی و اثرات عملکردی چند شکلی ژنی گلیکوپروتئین‌های پلاکتی به منظور جلوگیری از آترو ترومبوز و ارائه فواید درمانی مورد ارزیابی می‌باشد. تاکنون چندین مورد چند شکلی ژنی در ژن GPIb α (GPIbA) شناسایی شده است. یکی از این موارد، چند شکلی ژنی "5 T/C" است که در توالی کوزاک قرار داشته و در مقدار بیان و تراکم GPIb α 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 شکل‌گیری توده‌های پلاکتی القایی توسط تنش 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.

GTG TAC AGG 5' AAG و CTG CAG GCA AGG 3'
AGG TTC TCA CTC 3' انجام گرفت.

هر واکنش PCR، حاوی $25/6 \mu\text{L}$ از مستر میکس (دانمارک، آمپیکون) بود، هر کدام از آغازگرها به میزان $0/5 \mu\text{L}$ با غلظت $0/4 \text{ pM}/\mu\text{L}$ و DNA به مقدار $2 \mu\text{L}$ با غلظت $200 \text{ ng}/\mu\text{L}$ بودند که با آب مقطر به حجم نهایی $25/5 \mu\text{L}$ رسانده شدند. جهت انجام PCR توسط دستگاه ترموسایکلر، پس از ۵ دقیقه انکوباسیون در 94°C ، تعداد ۳۵ سیکل با برنامه ۳۰ ثانیه 94°C ، ۳۰ ثانیه 60°C و ۳۰ ثانیه 72°C مورد استفاده قرار گرفت. پس از انجام PCR، برای اطمینان از تکثیر شدن قطعه مورد نظر (۳۵۳ bp)، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شده و سپس بعد از تأیید تکثیر آن‌ها، نمونه‌های PCR شده مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با آنزیم محدودالایتر Psp5II (PpuMI) (فرمتاز، لیتوانی) برای بررسی چند شکلی ژنی 5T/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 ۳٪ حاوی سایبر گرین (DMA safe stain) در بافر $0/5 \times \text{TBE}$ (Tris Boric acid EDTA) به مدت ۳۵ دقیقه در ولتاژ ثابت ۱۵۰ ولت الکتروفورز و در دستگاه Gel Documentation System مشاهده گردید. آنزیم Psp5II محصول ۳۵۳ bp حاصل تکثیر توسط PCR را تنها در صورت حضور آلل 5T- به دو قطعه ۱۶۲ bp و ۱۹۱ bp می‌شکند، بنابراین ژنوتیپ CC اصلاً نمی‌شکند و در صورت وجود ژنوتیپ TC، سه قطعه ۳۵۳ bp، ۱۶۲ bp و ۱۹۱ bp ایجاد می‌شود (شکل ۱).

محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۳ انجام شد. اطلاعات کمی به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ ارائه گردید. فرضیه توزیع نرمال برای متغیرهای کمی به وسیله آزمون کولموگراف - اسمیرنوف 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 5T/C- توالی کوزاک پروموتور ژن GPIba، به عنوان یک فاکتور خطر در سکتة 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 آنژیوگرافی عروق کرونر، Normal Coronary تشخیص داده شده بودند و عدم گرفتگی عروق قلبی در آن‌ها به وسیله پزشک متخصص قلب تأیید شده بود. در این گروه ۱۰۰ مورد از افرادی که با احتمال گرفتگی عروق کرونر، در بیمارستان قلب شهید رجائی تهران پذیرش شده و آنژیوگرافی 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 سکتة 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 GPIba (rs2243093)، 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. DNA نمونه‌ها با استفاده از کیت QIAamp DNA Mini Kit شرکت کیاژن آلمان استخراج شد. عمل ژنوتایپینگ با روش PCR-RFLP و با استفاده از آغازگرهای 5'TAG TTT TAA GTT

جدول ۱: ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه

عوامل مستعد کننده	گروه کنترل (n= ۱۰۰)	گروه بیمار (n= ۱۰۰)	p value
سن (سال)	۴۴/۷۷ ± ۶/۸۰	۴۶/۳۲ ± ۵/۲۰	۰/۰۷۲
جنسیت (مرد) (%)	٪۴۱	٪۸۴	۰/۰۰۰۱
سابقه خانوادگی CAD (%)	٪۱۶	٪۳۱	۰/۰۰۰۹
دیابت (%)	٪۱۰	٪۱۷	۰/۱
فشار خون بالا (%)	٪۱۴	٪۲۶	۰/۲۵
مصرف دخانیات (%)	٪۱۰	٪۴۹	۰/۰۰۰۱
چربی خون بالا (%)	٪۲۹	٪۴۳	۰/۰۵
کلسترول (mg/dL)	۱۷۰/۲۵ ± ۳۸/۷۶	۱۸۲/۶۳ ± ۴۸/۲۶	۰/۰۴۷
تری گلیسرید (mg/dL)	۱۳۴/۶۰ ± ۵۸/۳۲	۱۹۲/۸۶ ± ۱۱۸/۲۳	۰/۰۱
LDL (mg/dL)	۹۱/۶۶ ± ۲۸/۴۹	۹۶/۸۵ ± ۲۸/۴۲	۰/۲
HDL (mg/dL)	۴۰/۰۵ ± ۹/۱۳	۳۸/۸۶ ± ۹/۴۸	۰/۳
VLDL (mg/dL)	۳۱/۱۵ ± ۱۵/۰۶	۴۰/۹۵ ± ۲۲/۵۹	۰/۰۰۲

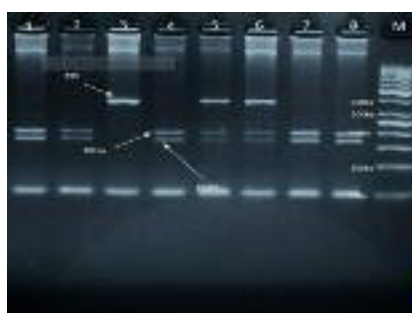
- بیماری عروق کرونر یا مرگ ناگهانی در مرد خویشاوند درجه یک زیر ۵۵ سال و زن خویشاوند درجه یک زیر ۶۵ سال.
- بر اساس تاریخچه دیابت ملیتوس بیمار؛ قند خون ناشتا (FBS) بیشتر از ۱۲۵ (۶/۹ mmol/L) mg/dL و یا مصرف داروهای پایین آورنده گلوکز.
- بر اساس تاریخچه فشار خون بالای بیمار؛ فشار خون بالای ۹۰/۱۴۰ mmHg و یا مصرف داروهای ضد فشار خون بالا.
- بر اساس تاریخچه بیمار؛ سیگار کشیدن به طور منظم (حداقل ۵ نخ در روز) یا ترک سیگار در ۱۲ ماه گذشته.
- 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).

یافته‌ها

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 ± ۶/۸۰ گروه کنترل). سابقه خانوادگی بیماری عروق کرونر در گروه بیماران نسبت به کنترل دارای تفاوت معنادار بود (۳۱٪ به ۱۶٪ و ۰/۰۰۰۹ p=).

بین دو گروه از نظر ابتلا به دیابت و فشار خون بالا اختلاف معناداری وجود نداشت. از نظر مصرف سیگار بین دو گروه بیمار و کنترل، تفاوت معنادار بود (۴۹٪ به ۱۰٪ و ۰/۰۰۰۱ p=). از نظر سابقه ابتلا به چربی خون بالا بین دو گروه بیمار و کنترل، تفاوت معناداری مشاهده شد (۴۳٪ نسبت 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



شکل ۱: نمونه‌ای از محصولات PCR-RFLP بر روی ژل آگارز ۳٪ چاهک‌های شماره ۱، ۲، ۴، 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 5-T/C در جمعیت مورد مطالعه:

توزیع ژنوتیپی چند شکلی ژنی 5-T/C در گروه بیماران

ژنوتیپی چند شکلی ژنی در بیماران STEMI شامل: $71/2\%$ ، $TT = 27/4\%$ ، $TC = 1/4\%$ و $CC = 81/5\%$ در مقابل $TT = 11/1\%$ ، $TC = 7/4\%$ و $CC = 81/5\%$ 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 بیماران STEMI و NSTEMI

جمع کل	ژنوتیپ (%) T/C n-5			MI-TYPE
	CC	TC	TT	
۷۳	۱ (۱/۴)	۲۰ (۲۷/۴)	۵۲ (۷۱/۲)	STEMI
۲۷	۲ (۷/۴)	۳ (۱۱/۱)	۲۲ (۸۱/۵)	NSTEMI
۱۰۰	۳	۲۳	۷۴	جمع کل

با استفاده از مدل آماری رگرسیون لجستیک چندگانه، نقش نسبی هر کدام از متغیرها به عنوان فاکتور خطر در ایجاد سکتة 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 ($OR = 4/036$). هم چنین برای دیابت ($OR = 2/968$) و فشار خون ($OR = 1/864$) OR قابل توجهی مشاهده شد.

جدول ۴: ارتباط متغیرها با سکتة قلبی بر اساس رگرسیون لجستیک چندگانه

متغیر	B	Standard Error	p-value	Odds Ratio
کلسترول	-۰/۰۰۳	۰/۰۰۷	۰/۶۷۱	۰/۹۹۷
فشار خون	۰/۶۲۳	۰/۵۴۶	۰/۲۵۴	۱/۸۶۴
سابقه خانوادگی CAD	-۰/۰۶۱	۰/۵۴۱	۰/۹۱۰	۰/۹۴۱
مصرف دخانیات	-۱/۷۷۲	۰/۵۸۵	۰/۰۰۲	۰/۱۷۰
چربی خون	۰/۱۶۶	۰/۵۱۸	۰/۷۴۸	۱/۱۸۱
دیابت	۱/۰۸۸	۰/۶۲۲	۰/۰۸۰	۲/۹۶۸
جنسیت	-۱/۸۲۹	۰/۴۹۸	۰/۰۰۰	۰/۱۶۱
VLDL	-۰/۰۳۱	۰/۰۱۶	۰/۰۴۵	۰/۹۶۹
TT+TC/CC	۱/۳۹۵	۱/۳۹۲	۰/۳۱۶	۴/۰۳۶

از ۱۰۰ نفر مورد مطالعه، شامل: $TT = 74\%$ ، $TC = 23\%$ و $CC = 3\%$ بود و در ۱۰۰ نفر گروه کنترل، توزیع ژنوتیپی: $TT = 77\%$ ، $TC = 22\%$ و $CC = 1\%$ مشاهده شد (جدول ۲).

جدول ۲: توزیع فراوانی چند شکلی ژنی T/C-5 در جمعیت مورد مطالعه

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

توزیع فراوانی آلی جمعیت مورد مطالعه:

فراوانی آلی موتانت C در گروه بیماران 14% و در گروه کنترل 12% مشاهده شد. در کل جمعیت مورد مطالعه، فراوانی آلی $T = 87\%$ و فراوانی آلی $C = 13\%$ بود.

توزیع ژنوتیپی چند شکلی ژنی T/C-5 در جمعیت بیماران STEMI و NSTEMI مورد مطالعه:

از ۱۰۰ نفر بیمار مورد مطالعه، ۷۳ نفر با تشخیص سکتة قلبی نوع STEMI (ST segment elevation myocardial infarction) و ۲۷ نفر دارای تشخیص NSTEMI (Non ST segment elevation myocardial infarction) بودند. توزیع

بحث

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

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

فرض بر این است که چند شکلی ژنی‌های 5 T/C- در سکناس کوزاک از ژن GPIBA، ممکن است میزان چسبندگی پلاکت را در عروق ریز تغییر دهند. اگر این فرض درست باشد، احتمال می‌رود که توزیع ژنتیکی به طور معناداری بین گروه بیماران سکنه قلبی و گروه کنترل متفاوت باشد(۸). اخیراً مشخص شده است که حضور آلل C به جای آلل T در موقعیت 5- از سکناس کوزاک ژن GPIBA، منجر به افزایش تراکم کمپلکس گیرنده GPIb/IX/V بر روی پلاکت می‌شود. بنابراین فرض بر این است که این موتاسیون دارای اهمیت بالینی نیز می‌باشد(۱۰).

تشکیل لخته در محل گسستن پلاک آترواسکلروتیک، یک مشخصه غالب در سندرم‌های حاد کرونر می‌باشد. مداخلات کرونر که با آسیب به پوشش اندوتلیالی 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 سکنه قلبی شود. تماس بین GPIbIX/V و vWF، یک گام اساسی در این روند می‌باشد. بنابراین این مساله که در حاملین آلل 5C- یک افزایش خطر برای سندرم‌های حاد کرونر مشاهده شود، امری غیر قابل انتظار نیست(۱۱).

در این مطالعه چند شکلی ژنی 5T/C- سکناس کوزاک از ژن GPIBA در بین بیماران سکنه قلبی زودرس و افراد

طبیعی برای 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 سکنه قلبی، ۱۶ مورد آنژین ناپایدار و ۳۳ مورد آنژین پایدار بودند. متوسط سن بیماران ۵۹/۳ سال و متوسط سن افراد کنترل 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 کنترل تفاوت مهمی نداشته است. هم چنین فراوانی چند شکلی ژنی در افراد زیر ۶۰ سال نیز در گروه بیماران تفاوتی با گروه کنترل 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 5C- 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 فنلاندی 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 کنترل ۱۲٪، در گروه بیماران سکنه قلبی ۱۴/۵٪ و در مجموع دو گروه ۱۳/۲٪ بود که در مقایسه با جمعیت‌های دیگر، با جمعیت سفیدپوست فرانسه و بریتانیا هم‌خوانی بیشتری داشت.

هم چنین از لحاظ وجود یا عدم وجود ارتباط بین آلل پلی‌مورفیک با سکنه قلبی زودرس، نتایج زیر حاصل شد: در مورد آلل 5 T/C-، با توجه به p-value، OR و

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 GPIBA 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 قبلاً اشاره شد، علی‌رغم این که مطالعه‌های متعددی در جمعیت‌های 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 ۸۰-۳۳ سال (شامل ۱۸۰ سفیدپوست و ۷۶ هندی تبار) که به تازگی عمل کاتراسیون 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 پرتونگاری بطنی قلب، قبلاً 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: $TT = 85/2\%$ ، $TC = 12/5\%$ و $CC = 2/3\%$ در مقابل گروه B با: $TT = 67/3\%$ ، $CT = 32/7\%$ و هیچ مورد CC با $p = 0/001$)، بنابراین دوگلاس و همکارانش پیشنهاد دادند که ژنوتیپ TT در بیماری شریان کرونر منتهی به سکته قلبی، فاکتور معناداری محسوب می‌شود (۸).

نکته قابل توجه در مطالعه دوگلاس و همکارانش این است که ژنوتیپ CC تنها در گروه A گزارش شده و در

۹۵٪ CI به دست آمده، ارتباط معناداری میان آلل C و بروز سکته قلبی زودرس دیده نشد. اما علی‌رغم عدم اختلاف معنادار، فراوانی آلل C در بین گروه بیماران کمی بیشتر از 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 و CI (۹۵٪) برای چنین حالتی محاسبه شد که نتایج به دست آمده حاکی از تاثیرپذیری ژنوتیپ CC بر بروز سکته قلبی بود ($OR = 3/06$ و $CI (95\%) = 0/31 - 29/94$). هم چنین زمانی که نسبت به محاسبه نقش هر کدام از متغیرها با استفاده از مدل آماری رگرسیون لجستیک 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 ($OR = 2/96$) و فشار خون بالا ($1/86$) 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 آنژیوگرافی 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 آلل C 5- 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

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 سکنه قلبی می‌باشند، نزدیک‌تر است. البته با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه شاید بتوان گفت آلل C در فرم هموزیگوت خود می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر عمل کند و در حالت هتروزیگوت TC چندان تفاوتی با فرم هموزیگوت 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 GPIb α می‌شود، این یافته می‌تواند مؤید نقش بیماری‌زای این ژنوتیپ باشد، هر چند ارایه‌دهندگان 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 Ibalph 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) Ibalph 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) Ibalph gene is a major determinant of the plasma membrane levels of the platelet GP Ib-IX-V complex. *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 Ibalph 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