Archive of SID

دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال نوزدهم، شماره ۴، صفحه ۶۴۳– ۶۲۹ (مهر و آبان ۱۳۹۵)

Iran South Med J 2016;19(4): 629-643

ارتباط پلی‌مورفیسم COX-2-1195 A →G با میگرن در بیماران با ازدواج خویشاوندی والدین

الهه مظفری [۱*]، مصطفی فغانی [۲]، رضا نعمتی [۳]، مرتضی مخلوعی [۴]

[۱] گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۲] گروه اصلاح نژاد دام، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
[۳] گروه نورولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران
[۴] گروه شیلات، دانشکده علوم کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۴/۲/۷- پذیرش مقاله: ۹۴/۸/۵)

چکیده

زمینه: میگرن یک سردرد ناتوان کننده رایج با حملات درد برگشت‌پذیر است که با تغییرات موقتی قطر رگ‌های خونی در سر ارتباط دارد و بر اساس تقسیم‌بندی جهانی جامعه بین‌المللی سردرد (IHS)، به دو گروه عمده با اورا (MA) و بدون اورا (MO) دسته‌بندی شده است. این پژوهش با هدف بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم ژن COX-2-1195A →G با ریسک ابتلا به میگرن و ارتباط آن با نوع ازدواج‌های والدین در دو گروه بیمار و کنترل انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه DNA مربوط به بافت خونی ۱۰۰ بیمار میگرنی و ۱۰۰ فرد سالم، تخلیص گردید. با استفاده از پرایمر اختصاصی COX-2-1195A→G (rs89466) و آنزیم محدودالاثر Pvu II در فرایند PCR- RFLP، ناحیه مد نظر از ژن COX-2 افراد تکثیر و برش داده شد.

یافته‌ها: پس از تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار SPSS، ویرایش ۲۰ مشاهده شد که تعداد افراد حامل ژنوتیپ‌های GG COX-2-1195 و AG COX-2-1195 به‌طور قابل ملاحظه‌ای در گروه بیماران نسبت به گروه شاهد بالاتر بود (به‌ترتیب ۹/۰ درصد و ۴۱/۰ درصد در بیماران و ۵/۰ درصد و ۲۴/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۱۰)). همچنین مشخص شد که فراوانی ژنوتیپ‌های نام برده، در گروه بیماران با والدین خویشاوند نسبت به گروه شاهد به طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر بوده است (به ترتیب ۸/۱ درصد و ۴۸/۶ درصد در بیماران با والدین خویشاوند و ۵/۰ درصد و ۲۴/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۱۱)).

نتیجه‌گیری: با توجه به شیوع بالای آلل پلی مورف (G) در بین بیماران با پدر و مادرهای خویشاوند، می‌توان نتیجه گرفت که ازدواج های خویشاوندی، خطر بروز این آلل و بیماری میگرن را بالا می‌برد. بنابراین لازم است مطالعات بیشتری برروی نمونه‌های گسترده‌تر با نژادهای مختلف در دیگر مناطق صورت گیرد تا نتایج بهتری از ژنتیک میگرن، به ویژه ژن COX-2، به دست آید.

واژگان کلیدی: میگرن، پلی‌مورفیسم، ژن COX-2، ازدواج‌های خویشاوندی

* شهرکرد، گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

E-mail: elahehsea@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

به طور کلی میگرن یک اختلال یا سردرد ناتوان کننده (۱) با حملات درد تکرار شونده است (۲) و معمولاً درد آن به‌صورت ضربانی (جهشی) و یک طرفه بوده (۳) و با انبساط و انقباض قطر عروق خونی سر، ارتباط دارد (۴).

این بیماری هر دو جنس را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۵) ولی شیوع آن در زنان حدود سه برابر مردان است (۱۷/۱ درصد در زنان و ۵/۶ درصد در مردان). طبق استانداردهای جامعه بین‌المللی سردرد، طول مدت درد آن معمولاً بین ۷۲-۴ ساعت گزارش شده (۶) و با علائمی از جمله فوتو فوبی (حساسیت نسبت به نور)، فونو فوبی (حساسیت نسبت به صدا)، تهوع، استفراغ (۷)، شدت ناتوان کنندگی (۸)، همراه بوده (۹) و به دو دسته مهم با اورا (Aura) و بدون اورا تقسیم می‌شود (۱۰). میگرن با اورا با علائمی از جمله اورا یا پیش درآمد همراه بوده (۱۱) که شامل علائمی از جمله تغییر حالات و مزاج، گرفتگی و درد ماهیچه‌ها، ویار غذایی، احساس خستگی و علائم بینایی برگشت‌پذیر مانند مشاهده لکه‌ها، نورها، خطهای جرقه زن، احساس گزگز و کرختی در پوست می‌باشد (۱۲). سهم تقریبی میگرن با اورا از جمعیت بیماران میگرنی حدود ۳۰ درصد و این رقم برای میگرن بدون اورا، حدود ۷۰ درصد می‌باشد (۱۳). از نظر ژنتیکی هر دو گروه سابقه‌ای قوی و واضحی دارند، اما طبق یافته‌های اپیدمیولوژیکی اخیر، فاکتورهای ژنتیکی در میگرن با اورا بیشتر از میگرن بدون اورا دخیل بوده است (۱۴).

برخی منابع ذکر کرده‌اند که میگرن با اورا، با حالاتی همراه بوده (۱۵) که می‌تواند بروز حمله‌های سکته‌های گذرا را تشدید کند (۱۶) و در برخی موارد آن را با انواع بیماری‌های قلبی و ترومای سر (۱۷) مرتبط دانسته‌اند (۱۸). از نظر سابقه خانوادگی نیز دیده شده ۵۰ درصد افراد میگرنی، حداقل یک فامیل درجه یک مبتلا به میگرن در خانواده یا بستگان خود دارد، که در این خصوص در این بیماری، می‌توان به میگرن همی پلژیک خانوادگی اشاره کرد (۱۹).

شواهدی در دست است که پروستاگلاندین‌های سنتز شده به واسطه مسیرهای سیکلواکسیژناز (COX) در پاتوژنیسیتی (بیماری‌زایی) میگرن درگیرند (۲). در واقع پروستانوئیدها که توسط آنزیم‌های سیکلواکسیژناز، از ماده اولیه آراشیدونیک اسید سنتز می‌شوند، بهترین واسطه‌های لیپیدی شناخته شده هستند که درد شدید را به دنبال دارند. در میان پروستانوئیدها، پروستاگلاندین E2 (PGE2) و PGI2، بیشترین تأثیر را در پردازش سیگنال‌های درد دارند. داروهای غیراستروئیدی ضد التهاب مثل NSAIDs از طریق مهار مسیر COX-1 و COX-2 از تولید پروستانوئیدهایی چون PGE2 ممانعت کرده و در نتیجه شدت درد را در بیماران دچار تورم مفصلی، آماس استخوانی و میگرن کاهش می‌دهند (۲۰). بنابراین تنظیم سیکل COX-2 در مهار پاتوژنیسیتی و درمان میگرن شناخته شده است. به همین خاطر سال‌هاست که مهار کننده‌های غیراختصاصی COX-2، مثل استیل سالیسیلیک اسید، برای درمان میگرن استفاده می‌شود (۲). به علاوه، ثابت شده که یک مهار کنندهٔ اختصاصی COX-2 بنام رفوکوکسیب (Rofecoxib) بسیار مؤثر بوده و به‌طور کلی تحمل درد را برای بیماران میگرنی با و بدون اورا تسهیل بخشیده است (۲۱).

گزارش‌ها حاکی از این است که پلی‌مورفیسم پروموتر COX-2-1195A →G می‌تواند رونویسی ژن COX-2

www.SID.ir

Archive of SID

و سطوح mRNA را تغییر داده (۲۲) و در نتیجه بر تولید PGE2 تأثیر بگذارد (۲ و ۲۳). از آنجایی که شیوع میگرن و ازدواج‌های خویشاوندی در کشور ما بالاست و مطالعات ژنتیکی محدودی در این زمینه در دسترس است، لازم دانستیم با انجام این مطالعه و پژوهشی برروی این بیماران، گام مفیدی در زمینه ارتقا دانش ژنتیکی این بیماری برداریم. در این راستا، با در نظر گرفتن نقش مهم ژن COX-2 در تولید PGE2 و پاتوژنیسیتی میگرن، تصمیم گرفتیم در مورد این پلی‌مورفیسم عملکردی، ارتباط ژن COX-2 با ریسک ابتلا به میگرن و نوع ازدواج‌های والدین تحقیق کنیم. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم COX-2-1195A →G با خطر ابتلا به این بیماری در دو گروه بیماران بااورا و بدون اورا با پدر و مادرهای خویشاوند و غیرخویشاوند می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه‌ها

در این مطالعه پلی‌مورفیسم COX-2-1195A →G در ۱۰۰ بیمار میگرنی (۸۰ بیمار زن و ۲۰ بیمار مرد)، به عنوان گروه بیمار و ۱۰۰ فرد سالم (۸۰ داوطلب زن و ۲۰ داوطلب مرد) در دامنه سنی مشابه (بین ۶۰–۱۸ سال)، به عنوان گروه کنترل یا شاهد، مورد بررسی قرار گرفت. افراد این دو گروه از جنوب غربی ایران، استان بوشهر انتخاب شدند. افراد گروه سالم این مطالعه، از بین افراد داوطلب به اهدای خون در مرکز انتقال خون استان بوشهر انتخاب شده و بیماران مورد مطالعه، بین آن دسته از افرادی انتخاب شدند که جهت مداوا به کلینیک تخصصی درمانی حضرت ابوالفضل (ع) شهر بوشهر مراجعه کرده بودند و از نظر اطمینان از وضعیت سالم یا بیمار بودن، همه این افراد توسط یک پزشک متخصص نورولوژیست معاینه و طبق معیارهای گزارش شده، توسط IHS، از نظر وجود یا عدم وجود میگرن مورد تأیید قرار گرفتند. سپس همه آنها به پرسشنامه کتبی شامل سؤالاتی از جمله جنسیت، محل تولد، نژاد، مذهب، نوع ازدواج والدین، داشتن سردردهای شدید، سن شروع بیماری، سابقه خانوادگی میگرن، شدت، طول مدت و علایم همراه با درد، ایجاد اختلال در فعالیت‌های روزانه و غیره پاسخ دادند.

نهایتاً به منظور رعایت مبانی اخلاق در پژوهش، پس از کسب رضایت هر فرد، در تابستان و پاییز ۱۳۹۲، از اشخاص مورد مطالعه، ۲ میلی‌لیتر نمونه خون گرفته شد و در تیوب‌های آزمایش استریل حاوی ماده ضدانعقاد EDTA جمع‌آوری و به دمای ۲۰– درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد.

افراد گروه کنترل، از نظرسابقه بیماری، فاقد سردردهای میگرنی بوده و از بین بیماران، افرادی که از سردردهای شبه میگرنی، سردردهای خوشه‌ای یا سایر سردردهای حاصل از بیماری‌های روحی و عصبی رنج می‌بردند، حذف شدند. زنان دارای میگرن‌های حاملگی نیز که بیماری آنها ناشی از نوسانات هورمونی در طی دوران بارداری است، از این مطالعه حذف شدند. لازم به ذکر است که ۸۰ نفر از بیماران، از میگرن بدون اورا و ۲۰ نفر نیز از میگرن با اورا رنج می‌بردند.

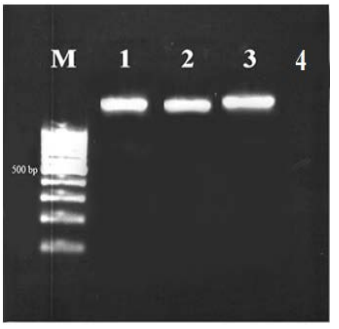
استخراج DNA

DNA ژنومی هر فرد با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت سینا ژن ایران (CinnaGen ،Iran، DNPTM) طبق دستورالعمل شرکت سازنده تخلیص و تا زمان مورد نیاز برای استفاده در دمای ۲۰– درجه

www.SID.ir

Archive of SID

سانتی‌گراد ذخیره گردید. کیفیت DNA تخلیص شده، پس از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱) کیفیت DNA استخراج شده بر روی ژل ۱ درصد. چاهک M مارکر 100 bp، چاهک شماره ۱، ۲ و ۳ نمونه‌های DNA و چاهک ۴، نمونه فاقد DNA بوده است.

PCR(Polymerase Chain Reaction)

جهت تکثیر ژن مورد نظر در افراد تحت مطالعه، پرایمر اختصاصی، با کسب اجازه از نویسنده مسئول مقاله (۲)، مورد سفارش قرار گرفت و سپس به منظور تکثیر قطعه هدف، تمام نمونه‌های DNA افراد در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf، Mastersycler Gradient) ساخت کشور آلمان، متحمل فرایند PCR شدند (جدول ۱). واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵ میکرولیتر PCR buffer 10 X، ۳/۵ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میلی‌مولار پرایمر، ۲ میکرومول dNTP، ۲ میلی‌مولار MgCl2 و ۱ واحد از آنزیم DNA پلیمراز Tag (شرکت سیناژن، ایران)، به ازای هر نمونه انجام گردید. سپس به منظور جلوگیری از آلودگی و تبخیر، ۱ تا ۲ قطره روغن معدنی استریل به مخلوط واکنش اضافه گردید.

جدول ۱) نام و توالی پرایمر، آنزیم برش دهنده و طول محصول PCR

نام پرایمر	توالی پرایمر	آنزیم محدودگر	طول محصولPCR
COX-2-*1195A →G* (rs89466)	5′CCCTGAGCACTACCCATGAT-3′ 5′-GCCTTCATAGGAGATACTGG-3′	*PvuII*	AA: 273 bp GG: 220 bp, 53 bp AG: 273 bp, 220 bp,53bp

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستگاه ترموسایکلر، با شرایط دمایی ۵ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و در ادامه ۳۲ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمر در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد برای پرایمر COX-2-1195A →G (rs89466) به مدت یک دقیقه، طویل شدن ابتدایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۵ دقیقه انجام شد. پس از پایان تکثیر قطعه مورد نظر از ژن COX-2، ۵ میکرولیتر از محصول PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد متشکل از ۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر اتیدیوم بروماید در بافر 1X TBE (محلول حاوی ۱۰/۸ گرم باز تریس، ۵/۵ گرم بوریک اسید و ۴ میلی‌لیتر EDTA)، ابتدا با ولتاژ ۱۱۰ ولت به مدت ۲ دقیقه و سپس با ولتاژ ۹۰ ولت به مدت ۱۵ دقیقه در تانک الکتروفورز، تحت عمل رانش الکتریکی قرار گرفت و باقیمانده محصول (۲۰ میکرولیتر) به منظور اضافه کردن آنزیم اندونوکلئاز Pvu II در مرحله بعدی آزمایش (RFLP) در دمای ۲۰- درجه

www.SID.ir

Archive of SID

سانتی‌گراد نگه داشته شد. پس از مشاهده و یادداشت نتایج توسط دستگاه uv doc، محصولات حاوی قطعه مورد نظر (قطعه با اندازه ۲۷۳ جفت بازی) انتخاب و محصولات فاقد قطعه مزبور، حذف شده و جهت انجام مجدد واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، مجدداً تحت عمل PCR قرار گرفتند. در نهایت تکرار آزمایش ها، موفق به تکثیر و انجام صحیح و دقیق این واکنش بر روی همه نمونه‌ها (بیمار و کنترل) گردید (شکل ۲).

شکل ۲) مشاهده قطعات ۲۷۳ جفت‌بازی پس از انجام PCR توسط پرایمر COX-2-1195A→G (rs689466) بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد. چاهک M، مارکر 100 bp، چاهک‌های ۶-۱، قطعات ۲۷۳ جفت بازی.

Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

برای هضم آنزیمی محصول با روش RFLP، از آنزیم اندونوکلئاز محدودگر Pvu II (**Error! Bookmark not defined.**) که توالی اختصاصی CAG|CTG رشته‌های DNA را شناسایی و قطع می‌کند، استفاده شد (جدول ۱). به این صورت که ۲ میکرولیتر از آنزیم برش دهنده در ۲ میکرولیتر بافر مخصوص آنزیم را با ۲۰ میکرولیتر محصول PCR مخلوط کرده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ ساعت انکوبه شدند، سپس محصولات هضم آنزیمی روی ژل آگارز ۴ درصد با ولتاژ ۸۰ ولت الکتروفورز شده و باندهای ایجاد شده با نور ماورای بنفش مشاهده و با دستگاه ژل داکیومنتیشن عکس‌برداری و ثبت گردیدند (شکل ۳).

شکل ۳) نتایج هضم آنزیمی و مشاهده قطعات برش خورده توسط آنزیم PvuII بر روی ژل آگارز ۴ درصد. چاهک M، مارکر ۱۰۰ bp فرمنتاز، چاهک شماره ۱، ۳ و۴، DNA نرمال بدون پلی‌مورفیسم (AA) دارای باند طبیعی ۲۷۳ bp، چاهک ۲، DNA دارای پلی‌مورفیسم هموزیگوت (GG)، حاوی قطعات ۲۲۰ bp و ۵۳bp، چاهک‌های ۵ و ۶، DNAهای دارای پلی‌مورفیسم‌های هتروزیگوت (AG) حاوی قطعات ۵۳bp، ۲۲۰bp، ۲۷۳bp

آنالیز آماری

جداول به وسیله نرم‌افزارMicrosoft Word 2007 رسم شدند و نتایج به دست آمده در مورد اختلاف فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های COX-2A 1195 G در بین بیماران و افراد شاهد با استفاده از نرم‌افزار SPSS (USA, II, Chicago, SPSS Inc) ویرایش ۲۰، از طریق آزمون‌های آماری مربع کای و آنالیز واریانس (ANOVA) آنالیز گردید و P<۰/۰۵ به عنوان درجهٔ معنی‌داری در نظر گرفته شد. موارد اخلاقی در جهت محرمانه ماندن اطلاعات بیماران در تمام مراحل پژوهش، رعایت شده و پژوهشگران در هیچ یک از مراحل مطالعه به نام بیماران دسترسی نداشته‌اند.

www.SID.ir

Archive of SID

یافته‌ها

در اولین بخش از یافته‌ها، نتیجه استخراج DNA افراد به وسیله کیت استفاده شده، مورد مشاهده قرار گرفت (شکل ۱) که پس از مشاهده و مقایسه باندهای سنگین DNA و باندهای مارکر ۱۰۰bp، نتیجه گرفتیم که فرایند تخلیص DNA به طور صحیح انجام شده است، چرا که DNAهای استخراج شده به صورت یک باند نسبتاً پهن و بالاتر از باندهای مارکر قرار گرفته بودند. به دنبال آن قطعات تکثیر شده در فرایند PCR توسط دستگاه ژل داکیومنتیشن مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت که باندهای حاصله در این مرحله نیز به صورت نوارهایی با اندازه ۲۷۳bp دیده شد، چرا که پس از مقایسه با باندهای DNA مارکر، مشاهده شد که این نوارها، در موقعیتی بالاتر از نوار ۲۰۰bp و اندکی پایین‌تر از نوار ۳۰۰ bp مربوط به مارکر ۱۰۰ bp، واقع شده بودند (شکل ۲). نهایتاً قطعات ژنی تکثیر شده در مرحله PCR که در روش RFLP به وسیله آنزیم محدودالاثر *Pvu II* مورد هضم یا برش آنزیمی قرار گرفته بودند، مطابق آنچه در شکل ۳ دیده می‌شود، به رؤیت رسید که در این شکل نیز الگوی مربوط به سه ژنوتیپ AA، AG و GG، به ترتیب با اندازه‌های ۲۷۳ bp، ۲۲۰ bp و ۵۳ bp مورد مشاهده و تفسیر قرار گرفت که نمونه‌های با ژنوتیپ AA، به عنوان ژنوتیپ نرمال هموزیگوت، AG، به عنوان ژنوتیپ پلی‌مورف هتروزیگوت و GG، به عنوان ژنوتیپ پلی‌مورف هموزیگوت معرفی می‌شوند. نمونه‌های با ژنوتیپ نرمال (AA)، پس از مواجهه با آنزیم، مورد برش قرار نگرفت و نمونه‌های با ژنوتیپ پلی‌مورف هموزیگوت (GG)، تحت تأثیر آنزیم *Pvu II*، شکسته شده و به ترتیب دو باند ۲۲۰ bp و ۵۳ bp و افراد حامل ژنوتیپ پلی‌مورف هتروزیگوت (AG)، تحت تأثیر آنزیم نام برده، سه باند ۲۷۳ bp، ۲۲۰ bp و ۵۳ bp نشان دادند (شکل ۳).

با تجزیه و تحلیل داده‌ها بعد از تأیید صحت آزمایش‌های مولکولی، توسط نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc، Chicago، Il، USA) ویرایش ۲۰ (جدول ۲)، مشاهده شد که فراوانی ژنوتیپ *COX-2-1195 AA* به طور قابل ملاحظه‌ای در گروه کنترل نسبت به گروه بیماران بالاتر بود (به‌ترتیب ۷۱/۰ درصد در گروه کنترل نسبت به ۵۰/۰ درصد در بیماران) که نتیجه گرفتیم این ژنوتیپ نرمال، ریسک ابتلا به میگرن را کاهش می‌دهد و با بروز این بیماری ارتباط غیرمستقیم دارد. همچنین فراوانی همین ژنوتیپ در بین بیماران میگرنی با اورا (MA) و بدون اورا (MO)، به طور جداگانه با گروه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت و تفاوت به دست آمده در بین هر دو گروه بیماران (MA و MO) و گروه کنترل، یک تفاوت معنی‌دار و قابل قبول بود (به ترتیب ۷۱/۰ درصد در گروه کنترل، ۵۰/۰ درصد در بیماران MA (P<۰/۰۴۲) و ۷۱/۰ درصد در گروه کنترل، ۵۰/۰ درصد در بیماران MO (P<۰/۰۱۴))، این نکته نیز بیانگر اهمیت ژنوتیپ نرمال (AA) در کاهش ریسک ابتلای به میگرن بااورا و بدون اورا می‌باشد. اما پس از مقایسه دو گروه بیماران با یکدیگر، برخلاف آنچه تصور می‌شد، P به دست آمده از نظر آماری، معنی‌دار و قابل قبول نبود (۵۰/۰ درصد در بیماران MA، ۵۰/۰ درصد در بیماران MO و (P=۰/۱۲۹)).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲) فراوانی شیوع ژنوتیپ‌های COX-2-1195A→G در بیماران بااورا، بدون اورا و گروه کنترل

ژنوتیپ/ آلل	کنترل N:۱۰۰		MA N:۲۰		MO N:۸۰		کل بیماران		P1	P2	P3	P4
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد				
COX-2 1195 AG												
AA	۷۱	۷۱/۰	۱۰	۰/۰	۴۰	۰/۰	۵۰	۵۰/۰				
GG	۵	۵/۰	۴	۲۰/۰	۵	۶/۲	۹	۹/۰				
AG	۲۴	۲۴/۰	۶	۳۰/۰	۳۵	۴۳/۸	۴۱	۴۱/۰	۰/۰۴۲	۰/۰۱۴	۰/۱۲۹	۰/۰۱۰
A allele	۱۶۶	۸۳/۰	۲۶	۶۰/۰	۱۱۵	۷۰/۰	۱۴۱	۷۰/۵				
G allele	۳۴	۱۷/۰	۱۴	۳۵/۰	۴۵	۲۸/۱	۵۹	۲۹/۵	۰/۰۰۹	۰/۰۱۱	۰/۳۹۴	۰/۰۰۳
A+ (AA+AG)	۹۵	۹۵/۰	۱۶	۱۶/۰	۷۵	۷۵/۰	۹۱	۹۱/۰	۰/۰۰۱	۰/۱۲	۰/۰۰۱	۰/۰۹
G+ (GG+AG)	۲۹	۲۹/۰	۱۰	۱۰/۰	۴۰	۴۰/۰	۵۰	۵۰/۰	۰/۰۰۲	۰/۱۸	۰/۰۰۱	۰/۰۲

P1: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین گروه بیماران میگرنی با اورا در مقایسه با گروه کنترل.
P2: ارزشP (سطح معنی‌داری) بین گروه بیماران میگرنی بدون اورا در مقایسه با گروه کنترل.
P3: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین گروه بیماران میگرنی با اورا در مقایسه با گروه بیماران میگرنی بدون اورا.
P4: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین کل گروه بیماران در مقایسه با کل گروه کنترل.

در بخش دیگر آنالیز داده‌های مربوط به *COX-2-1195*، دیده شد که فراوانی ژنوتیپ‌های *GG COX-2-1195* و *AG COX-2-1195* به‌طور قابل توجهی در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل بالاتر است (به ترتیب ۹/۰ درصد و ۴۱/۰ درصد در بیماران و ۵/۰ درصد و ۲۴/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۱۰))، (جدول ۲)، در این بخش از نتایج نیز نتیجه گرفتیم که این دو ژنوتیپ پلی‌مورف ریسک ابتلا به میگرن را افزایش می‌دهد و با بروز این بیماری رابطه مستقیم وجود دارد. در این مرحله از نتایج نیز فراوانی این ژنوتیپ‌ها در بین بیماران میگرنی با اورا (MA) و بدون اورا (MO)، به طور جداگانه با گروه شاهد مقایسه شد، که در اینجا نیز اختلاف فراوانی‌ها در بین هر دو گروه بیماران (MA و MO) و گروه شاهد، معنی‌دار و قابل ملاحظه بود (به ترتیب ۲۰/۰ درصد و ۳۰/۰ درصد در بیماران MA و ۵/۰ درصد و ۲۴/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۴۲) و ۶/۲۵ درصد و ۴۳/۸ درصد در بیماران MO و ۵/۰ درصد و ۲۴/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۱۴). در مجموع نتیجه می‌گیریم که این ژنوتیپ‌ها در پیشبرد و شیوع هر دو گروه میگرن (با اورا و بدون اورا) مؤثر بوده‌اند، اختلاف معنی‌داری بین این دو گروه وجود نداشت (به‌ترتیب ۲۰/۰ درصد و ۳۰/۰ درصد در بیماران MA، ۶/۲۵ درصد و ۴۳/۸ درصد در بیماران MO (P=۰/۱۲۹)).

از طرفی پس از محاسبه فراوانی آلل A (آلل طبیعی)، دیده شد که این فراوانی در افراد سالم نسبت به بیماران، بالاتر بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است (به ترتیب ۸۳ درصد و ۷۰/۵ درصد، (P<۰/۰۰۳)). در طرف مقابل نیز ملاحظه شد، فراوانی آلل G (آلل موتانت) در گروه بیماران نسبت گروه شاهد بیشتر است (به ترتیب ۲۹/۵ درصد و ۱۷ درصد، (P<۰/۰۰۳)) که این تفاوت‌ها نیز نشان دهنده اهمیت آلل A در کاهش خطر ابتلا به میگرن و نقش آلل G در افزایش خطر ابتلا به این بیماری می‌باشد. لازم به ذکر است که در این قسمت نیز فراوانی دو آلل A و G در بین بیماران MA و MO به طور جداگانه با افراد گروه کنترل مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت و اختلاف به دست آمده بین هر دو گروه معنی‌دار و و از نظر آماری قابل قبول بود (به ترتیب ۶۵/۰ درصد و ۳۵/۰ درصد در بیماران MA و ۸۳/۰ درصد و ۱۷/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۰۹) و ۷۱/۰ درصد و ۲۸/۱ درصد در بیماران MO و ۸۳/۰ درصد و ۱۷/۰ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۱۱))، از طرفی سطح

www.SID.ir

Archive of SID

معنی‌داری برای میزان فراوانی این دو آلل در بین خود دو گروه بیمار نیز محاسبه گردید، اما پس از مقایسه دو گروه با هم، اختلاف معنی‌داری دیده نشد (به ترتیب ۶۵/۰ درصد و ۳۵/۰ درصد در بیماران MA، ۷۱/۰ درصد و ۲۸/۱ درصد در بیماران MO (P=۰/۳۹۴)). در مجموع چنین نتیجه می‌گیریم که تأثیر این ژنوتیپ و آلل‌ها در بین دو گروه میگرن (MA و MO) تفاوتی نداشته است.

به دنبال آن پس از محاسبه فراوانی ژنوتیپ +A و +G بین گروه بیماران و گروه کنترل، مشاهده شد که فراوانی ژنوتیپ نرمال (+A) در گروه کنترل به طور قابل توجهی از گروه بیماران MA بالاتر است (۹۵ درصد در گروه کنترل، ۱۶ درصد در MA (P<۰/۰۰۱)). همچنین اختلاف فراوانی این دو ژنوتیپ بین دو گروه بیمار (MA و MO) نیز چشمگیر و معنی‌دار بود (به ترتیب ۱۶ درصد در گروه MA، ۷۵ درصد در گروه MO (P<۰/۰۰۱) و ۱۰ درصد در گروه MA، ۴۰ درصد در گروه MO (P<۰/۰۰۱)).

همچنین پس از محاسبه فراوانی ژنوتیپ +G (ژنوتیپ موتانت) در بین گروه بیماران و گروه کنترل، دیده شد که این عدد در افراد بیمار نسبت به افراد شاهد، به‌طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر است (به ترتیب ۵۰ درصد در گروه بیماران، ۲۹ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۲)). در این بخش از بررسی، اختلاف معنی‌دار فراوانی به دست آمده بین گروه بیماران MA و گروه شاهد نیز، مورد مشاهده و ثبت قرار گرفت (۱۰ درصد در گروه بیماران MA، ۲۹ درصد در گروه کنترل (P<۰/۰۰۲)). همچنین مقایسه فراوانی ژنوتیپ +G بین دو گروه بیماران (MA و MO) نیز اختلاف قابل قبول و چشمگیری نشان داد (۱۰ درصد در گروه بیماران MA، ۴۰ درصد در گروه MO (P<۰/۰۰۱)). بنابراین به نظر می‌رسد که بین پلی‌مورفیسم ژن OX-2-1195A→G و میگرن رابطه مستقیمی وجود دارد و این پلی‌مورفیسم، به عنوان یک ریسک فاکتور برای میگرن محسوب می‌شود.

در این پژوهش همچنین فراوانی *GG COX-2-1195* و *AG COX-2-1195* در بین بیماران با والدین خویشاوند و غیرخویشاوند مورد بررسی قرار گرفت. جدول ۳ فراوانی ژنوتیپ‌های مربوطه را بین گروه کنترل و بیماران نشان می‌دهد.

جدول ۳) **فراوانی شیوع ژنوتیپ‌های COX-2-1195A→G در بیماران با والدین خویشاوند، با والدین غیرخویشاوند و گروه کنترل**

ژنوتیپ/ آلل	کنترل N:۱۰۰		بیماران با والدین خویشاوند N:۳۷۰		بیماران با والدین غیرخویشاوند N:۶۳		کل بیماران N:۱۰۰		P1	P2	P3	P4
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد				
COX-2 1195 AG												
AA	۷۱	۷۱/۰	۱۶	۴۳/۲	۳۴	۵۴/۰	۵۰	۵۰/۰				
GG	۵	۵/۰	۳	۸/۱	۶	۹/۵	۹	۹/۰				
AG	۲۴	۲۴/۰	۱۸	۴۸/۶	۲۳	۳۶/۵	۴۱	۴۱/۰	۰/۰۱۱	۰/۰۸۲	۰/۴۹	۰/۰۱۰
A allele	۱۶۶	۸۳/۰	۵۰	۶۷/۵	۹۱	۷۲/۲	۱۴۱	۷۰/۵				
G allele	۳۴	۱۷/۰	۲۴	۳۲/۴	۳۵	۲۷/۸	۵۹	۲۹/۵	۰/۰۰۵	۰/۰۲۰	۰/۴۸۶	۰/۰۰۳
A+(AA+AG)	۹۵	۹۵/۰	۳۴	۹۱/۹	۵۷	۹۰/۵	۹۱	۹۰/۰	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۱۶	۰/۰۹
G+(GG+AG)	۲۹	۲۹/۰	۲۱	۵۹/۷	۲۹	۴۶/۰	۵۰	۵۰/۰	۰/۲۶	۱/۰	۰/۰۲۶	۰/۰۲

P1: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین گروه بیماران میگرنی با اورا در مقایسه با گروه کنترل.
P2: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین گروه بیماران میگرنی با والدین غیر خویشاوند در مقایسه با گروه کنترل.
P3: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین گروه بیماران میگرنی با والدین خویشاوند در مقایسه با گروه بیماران میگرنی با والدین غیرخویشاوند.
P4: ارزش P (سطح معنی‌داری) بین کل گروه بیماران در مقایسه با کل گروه کنترل.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج نشان می‌دهد که فراوانی ژنوتیپ نرمال *COX-2-1195 AA* در بین گروه کنترل به طور معنی‌داری بیشتر از بیماران با والدین خویشاوند و بیماران با والدین غیرخویشاوند بود (۷۱ درصد در گروه کنترل، ۴۳/۲ درصد در گروه بیماران با والدین خویشاوند، ۵۴ درصد در گروه بیماران با والدین غیرخویشاوند (P<۰/۰۱۱)). همچنین مشخص شد، فراوانی ژنوتیپ پلی‌مورف *COX-2-1195 GG* در گروه بیماران با والدین خویشاوند نسبت به گروه شاهد به طور قابل ملاحظه‌ای بالاتر بوده است (۵ درصد در گروه کنترل، ۸/۱ درصد در گروه بیماران با والدین خویشاوند (P<۰/۰۱۱)) از سوی دیگر، پس از محاسبه فراوانی ژنوتیپ پلی‌مورف *COX-2-1195 AG* در گروه بیماران با والدین خویشاوند نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری به دست آمد (۲۴ درصد در گروه کنترل، ۴۸/۶ درصد در گروه بیماران با والدین خویشاوند (P<۰/۰۱۱))، که این نشان دهنده ارتباط مستقیم این دو نوع ژنوتیپ موتانت با ازدواج‌های خویشاوندی است. به طور مشابه محاسبات ژنوتیپ‌های *GG COX-2-1195* و *AG COX-2-1195* در بیماران با والدین غیرخویشاوند نیز انجام شد که در این مقایسه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (به ترتیب ۵ درصد در گروه کنترل، ۹/۵ درصد در گروه بیماران با والدین غیرخویشاوند (P=۰/۰۸۲)) و ۲۴ درصد در گروه کنترل، ۳۶/۵ درصد در گروه بیماران با والدین غیرخویشاوند (P=۰/۰۸۲)). همچنین اختلاف فراوانی آلل موتانت (G) نیز در هر دو گروه بیمار با گروه شاهد مورد مقایسه قرار گرفت که P به دست آمده در هر دو گروه از نظر آماری معنی‌دار بود (۱۷ درصد در گروه کنترل، ۳۲/۴ درصد در گروه بیماران با والدین خویشاوند (P<۰/۰۰۵) و ۱۷ درصد در گروه کنترل، ۲۷/۸ درصد در گروه بیماران با والدین غیرخویشاوند (P<۰/۰۲۰))، که این مطلب نیز گویای ارتباط مستقیم آلل موتانت (G) و ازدواج‌های خویشاوندی والدین در پیشبرد میگرن می‌باشد، به عبارتی ازدواج‌های خویشاوندی ریسک بروز این پلی‌مورفیسم‌ها و در نتیجه شیوع میگرن را بالاتر می‌برد. همچنین فراوانی این آلل در بین دو گروه بیماران با والدین خویشاوند و بیماران با والدین غیرخویشاوند مورد محاسبه قرار گرفت که اختلاف به دست آمده در این مرحله نیز از نظر آماری معنی‌دار و قابل قبول بود (۵۶/۷ درصد در گروه بیماران با والدین خویشاوند، ۴۶/۰ درصد در گروه بیماران با والدین غیرخویشاوند (P<۰/۰۲۶)) و نتیجه می‌گیریم آلل موتانت (G) در بین بیماران با پدر و مادرهای خویشاوند شیوع بیشتری داشته است، پس این نوع ازدواج، ریسک بروز این آلل را بالا می‌برد.

بحث

نتایج ما نشان می‌دهد که پلی‌مورفیسم ژن *COX-2-1195A→G*، ریسک ابتلا به بیماری میگرن را افزایش می‌هد، به نحوی که می‌توان ابراز کرد ژنوتیپ‌های پلی‌مورف این ژن یعنی *GG COX-2-1195* و *AG COX-2-1195*، به عنوان یک ریسک فاکتور در جهت پیشبرد و شیوع این بیماری به شمار می‌روند. طبق اولین مطالعه انجام شده در سال ۲۰۱۳، توسط محققان ترکیه‌ای مشخص شد که بین پلی‌مورفیسم ژن *COX-2-1195A→G* و شانس ابتلا به میگرن ارتباط مستقیمی وجود دارد، اما اطلاعاتی مبنی تأثیر نوع ازدواج‌های والدین بیماران بر چگونگی روند بیماری در آن مطالعه گزارش نشد. در واقع نتایج به دست آمده از تأثیر ازدواج‌های خویشاوندی والدین برای اولین بار در مطالعه حاضر

www.SID.ir

Archive of SID

به دست آمد. ناحیه مزبور از ژن COX-2 در صورت بروز پلی‌مورفیسم، دو ژنوتیپ تغییر یافته AG و GG ایجاد می‌کند.

دزدمیر (Dasdemir) و همکاران، با پژوهشی که در سال ۲۰۱۳ برروی بیماران ترکیه‌ای انجام دادند، تنها به تأثیر مستقیم ژنوتیپ AG در پیشبرد بیماری‌زایی میگرن دست یافتند (۲). ما در این تحقیق توانستیم علاوه بر نقش مثبت ژنوتیپ نام برده، تأثیر واریانت دوم یعنی GG را در افزایش پاتوژنیسیتی میگرن نشان دهیم که این تفاوت نتیجه‌گیری احتمالاً مربوط به تفاوت نژاد، منطقه و سبک زندگی بیماران مورد مطالعه باشد. در تحقیق یاد شده گزارش شده فراوانی افراد حامل ژنوتیپ *GG COX-2-1195* در گروه بیماران MO بسیار بیشتر از گروه شاهد است (۴/۳ درصد در گروه بیمار نسبت به ۰/۰ درصد در گروه شاهد (P<۰/۰۳)) که نتیجه به دست آمده در مطالعه ما از نظر کمی با این نتیجه تفاوت داشته است (۶/۲۵ درصد در گروه بیماران MO و ۵/۰ درصد در افراد غیربیمار (P=۰/۱۲۹)). علاوه بر این، در مطالعه ذکر شده، گزارش شده، فراوانی ژنوتیپ *COX-2-1195AG* و *COX-2-1195A+* در گروه کنترل بالاتر از افراد بیماران MO بوده است (به ترتیب (P<۰/۰۳۴) و (P<۰/۰۳۳))، که تفاوت این نتایج با نتایج مطالعه ما، به ژنوتیپ *COX-2-1195AG* مربوط می‌شود، چرا که این عدد در آنالیزهای ما گرچه در گروه کنترل بالاتر از بیماران MO بود، اما اختلاف حاصله قابل قبول و معنی‌دار نبود (P=۰/۱۲۹)، اما نتیجه به دست آمده برای ژنوتیپ *COX-2-1195A+*، از نظر کیفی با مطالعه نام برده هم راستا بود (P<۰/۰۰۱).

به طور کلی نتایج ما نشان داد که پلی‌مورفیسم ژن *COX-2-1195A→G*، ریسک ابتلا به بیماری میگرن را افزایش داده است. در نتیجه نتایج به دست آمده در این تحقیق، به عنوان اولین پژوهش انجام شده ژن *COX-2*، بر روی نژاد ایرانی، تأییدی بر یافته‌های آن پژوهش می‌باشد.

گزارش‌های بر آمده از مطالعه برسالییر (Bresalier) و همکاران در سال ۲۰۰۵، حاکی از آن است که پروستانوئیدهای سنتز شده بواسطه آراشیدونیک اسید، در طی مسیر سیکلواکسیژناز (COX) مهم‌ترین واسطهٔ لیپیدی هستند که منجر به درد شدید در بیماران میگرنی می‌شوند (۲۴). بنابراین عنوان شده که تنظیم سیکل *COX-2* در پاتوژنی و درمان میگرن مهم است و مهار کننده‌های *COX* همچون استیل سالیسیلیک اسید، برای درمان میگرن شناخته شده و مفید هستند.

در مورد ژن *COX-2*، دزدمیر (Dasdemir) در مطالعه خود گزارش کرده که بین پلی‌مورفیسم ژن *COX-2-1195A→G* و ریسک ابتلا به میگرن ارتباط معنی‌داری وجود دارد (۲) که نتایج و یافته‌های ما نیز تأییدی بر نتایج کار ایشان است. نتایجی از پژوهشی در سال ۲۰۰۹ در دسترس است که به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن *COX-2* و سلول‌های توموری مری پرداخته است، در این مطالعه سه پلی‌مورفیسم - *8473T>C*، *-765G>C* و *1195A>G* برروی سه منطقه ژنی از ژن *COX-2* معرفی شده که بین واریانت *COX-2-1195A→G* و هدف مطالعه ما نقطه مشابه و مشترک به چشم می‌خورد (۲۵).

در سال‌های ۲۰۰۵ و ۲۰۰۶ نیز، نتایج جالب توجهی مبنی بر اینکه افزایش بیش از حد بیان ژن *COX-2* (۲۶) با بروز تومور مغزی ارتباط مستقیم دارد، منتشر شد (۲۷) که پس از مقایسه این دو تحقیق با نتایج ما در می‌یابیم که نوع بیماری و روش کار، متفاوت بوده اما ژن مورد بررسی در هر دو مطالعه یکسان بوده است. تحقیقات لوپز (Lopez) و همکاران در سال ۲۰۰۹ روشن کرده که

www.SID.ir

Archive of SID

افراد حامل پلی‌مورفیسم‌های ژن *COX-2*، مستعد به بیماری sarcoidosis می‌باشند (۲۸) در این مقایسه نیز تفاوت مربوط به نوع بیماری بوده و بین روش کار، ژن مورد مطالعه و تأثیر در خطر ابتلا به بیماری شباهت دیده می‌شود. از دیگر پیامدهای پلی‌مورفیسم‌های این ژن، ایجاد درد شدید در سلول‌های عصبی بوده که با وقوع درد میگرن ارتباط مستقیمی دارد (۲۹)، از این جهت نیز با نتایج ما در این پژوهش هم راستاست. در مطالعه دیگری، با روش کار مشابه آنچه ما انجام داده‌ایم، نشان داده شده است که پلی‌مورفیسم‌های این ژن از جمله *COX-2-1195A→G* شانس ابتلا به سرطان ریه را نیز بالا می‌برد (۳۰)، اما همان‌طور که مشخص است تفاوت مطالعه ما و اثر یاد شده، مربوط به نوع بیماری می‌باشد. همچنین بر اساس نتایج مطالعه متفاوتی که بر-روی بیان ژن *COX-2* در ایران انجام شد، دیده شد که بیان این ژن، استعداد ابتلا به بیماری vitilgio، که یک بیماری سیستم ایمنی است، را بالا می‌برد (۳۱)، در رابطه با همین موضوع، گزارش مفیدی در چین بین پلی‌مورفیسم‌های (*COX-2-1195A>G* ،*8473T>C* ،*765G>C*) و قرار گرفتن در معرض خطر این بیماری ارائه شد (۳۲) که روش استفاده شده در این گزارش نیز مشابه آنچه ما در روش کار انجام داده ایم بود، با ذکر این نکته که بین یافته‌های ما و این مطالعات، تفاوت در بررسی نوع بیماری و تعداد پلی‌مورفیسم‌های مورد آزمایش است.

تحقیقات سال ۲۰۰۰ و ۲۰۱۲ که برروی سلول‌های توموری پروستات صورت گرفت (۳۳)، نشان داد که افزایش بیان این ژن باعث رشد و پیشرفت سلول‌های توموری در افراد مبتلا به این بیماری می‌گردد (۳۴). در این مقایسه در می‌یابیم که تفاوت این کار با یافته‌های ما مربوط به روش کار متفاوت در بررسی بیان ژن و نوع بیماری است. بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۱ بر روی یک جمعیت ایرانی انجام گرفت، گزارش شد که بین پلی‌مورفیسم ژن *COX-2-1195A→G* و سرطان روده ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (۳۵). اما مشابه همین مطالعه که در سال ۲۰۱۳ برروی بیماران دانمارکی انجام شد، مشخص گردید که این پلی‌مورفیسم شانس ابتلا به بیماری نام برده را افزایش می‌دهد (۳۶). در این جا نیز از نظر مقایسه بررسی پلی‌مورفیسمی با پژوهش‌های ما شباهت دارد اما از نظر نوع بیماری مورد مطالعه و نتیجه به دست آمده تفاوت دیده می‌شود. اطلاعات موجود در مورد بیان ژن *COX-2* بیان کرده‌اند که اختلال بیانی این ژن باعث بروز اشکال در سلول‌های عصبی، اختلالات نورولوژیکی، بیماری‌های قلبی و آلزایمر می‌گردد (۳۶). در مقایسه این پژوهش‌ها با مطالعه ما اختلاف در نوع بیماری و روش کار به چشم می‌خورد، از طرفی ژن مورد مطالعه و ارتباط مستقیم آن با بیماری‌های مورد مطالعه، وجه اشتراک این مطالعات است.

نتایج ما به عنوان دومین مطالعه در مورد پلی‌مورفیسم ژن *COX-2*، مشابه آنچه که در مطالعه دزدمیر و همکاران در ترکیه گزارش شده، به طور مستقیم نشان می‌دهد که تغییرات ژن *COX-2*، می‌تواند خطر ابتلا به بیماری میگرن را افزایش دهد. همچنین برای اولین بار مشخص شد که ازدواج‌های خویشاوندی والدین نیز به عنوان یک فاکتور تأثیرگذار در افزایش شیوع پلی‌مورفیسم ژن *COX-2-1195A→G* و بیماری میگرن ایفای نقش می‌کند. از آنجایی که هنوز مطالعه‌ای مبنی بر تأثیر نوع ازدواج‌های والدین در پیشبرد یا عدم پیشبرد این بیماری در دسترس نیست، نتیجه به دست آمده در مطالعه حاضر، یک یافته جدید و منحصر به فرد

www.SID.ir

Archive of SID

بوده و فعلاً در این مورد نمی‌توان با سایر مطالعات مقایسه و بحث انجام داد. با دریافت این نتایج، می‌توان به اهمیت ریسک فاکتورها و عوامل ژنی در بیماری‌زایی میگرن دست یافت و همچنین با انتقال و نشر این دانش می‌توان از عواملی چون ازدواج‌های خویشاوندی، عادات غذایی ناصحیح، قرار گرفتن در معرض نور آفتاب، مواد شیمیایی و غیره که تأثیر و بروز این بیماری را تشدید می‌کنند، جلوگیری کرد.

نتیجه‌گیری

این موضوع می‌تواند نقطهٔ امیدی در مورد اهمیت بررسی نقش پلی مورفیسم‌ها در شیوع بیماری میگرن باشد، بنابراین لازم است مطالعات بیشتری در این زمینه، بر روی دیگر نژادها در مناطق با شرایط اقلیمی متفاوت صورت گیرد و به منظور دسترسی به بهترین نتیجه باید نتایج مختلف با هم مقایسه شوند. از طرفی پیشنهاد می‌شود این گونه مطالعات بر روی دیگر اگزون‌های ژن *COX-2* صورت گیرد تا نتایجی مبنی بر وجود یا عدم وجود پلی‌مورفیسم‌های دیگر نیز مشخص شود.

سپاس و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان این مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از کلینیک تخصصی درمانی حضرت ابوالفضل (ع) شهر بوشهر، سازمان انتقال خون استان بوشهر، معاونت پژوهشی و همچنین اعضای محترم مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، به‌دلیل همکاری‌های اجرایی به عمل می‌آورند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Chasman DI, Schürks M, Anttila V, et al. Genome-wide association study reveals three susceptibility loci for common migraine in the general population. Nat Genet 2011; 43(7): 695-8.
2.Dasdemir S, Cetinkaya Y, Gencer M, et al. Cox-2 gene variants in migraine. Gene 2013; 518(2): 292-5.
3.Goadsby PJ, Lipton RB, Ferrari MD. Migraine-current understanding and treatment. N Engl J Med 2002; 346(4): 257-70.
3.McCrary D, McClain D, Criscuolot C. The Molecular Genetics of MigraineHeadaches and their Catalytic NatureTowards Strokes; 2001.
4.Kara I, Sazci A, Ergul E, et al. Association of the C677T and A1298C polymorphisms in the 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase gene in patients with migraine risk. Brain Res Mol Brain Res 2003; 111(1-2): 84-90.
5.Headache Classification Subcommittee of the International Headache Society. The international classification of headache disorders: 2nd ed. United Kingdom: Cephalalgia 2004, 9-160.
6.Kelman L, Tanis D. The relationship between migraine pain and other associated symptoms. Cephalalgia 2006; 26(5): 548-253.
7.Aghayusefi AR, Bazyari Meymand. Study of General health, resiliency, and defense mechanisms in patients with migraine headache. Iran South Med J 2013; 16(2): 118-27.
8.Freilinger T, Anttila V, de Vries B, et al. Genome-wide association analysis identifies susceptibility loci for migraine without aura. Nat Genet 2012; 44(7): 777-82.
9.Mulder EJ, van Baal C, Gaist D, et al. Genetic and environmental influences on migraine: a twin study across six countries. Twin Res 2003; 6(5): 422-31.
10.Gervil M, Ulrich V, Kaprio J, et al. The relative role of genetic and environmental factors in migraine. Neurology 1999; 53(5): 995-9.

www.SID.ir

Archive of SID

11.Cutrer FM, Huerter K. Migraine aura. Neurologist 2007; 13(3): 118-25.
12.Evans RW, Bigal ME, Grosberg B, et al. Target doses and titration schedules for migraine preventive medications. Headache 2006; 46(1): 160-4.
13.Todt U, Dichgans M, Jurkat-Rott K, et al. Rare missense variants in ATP1A2 in families with clustering of common forms of migraine. Hum Mutat 2005; 26(4): 315-21.
14.Eikermann-Haerter K, Lee JH, Yuzawa I, et al. Migraine mutations increase stroke vulnerability by facilitating ischemic depolarizations. Circulation 2012; 125(2): 335-45.
15.Kurth T, Chabriat H, Bousser MG. Migraine and stroke: a complex association with clinical implications. Lancet Neurol 2012; 11(1): 92-100.
16.Butt JH, Franzmann U, Kruuse C. Endothelial function in migraine with aura-a systematic review. Headache 2015; 55(1): 35-54.
17.Asadi M, Saghari M, Eftekhari M, et al. Comparison of brain perfusion SPECT abnormalities with anatomical imaging in mild traumatic brain injury. Iran South Med J 2006; 9(2): 147-53. (Persian)
18.Griffiths LR, Nyholt DR, Curtain RP, et al. Migraine association and linkage studies of an endothelial nitric oxide synthase (NOS3) gene polymorphism. Neurology 1997; 49(2): 614-7.
19.Bresalier RS, Sandler RS, Quan H, et al. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. N Engl J Med 2005; 352(11): 1092-102.
20.Silberstein S, Tepper S, Brandes J, et al. Randomized, placebo-controlled trial of rofecoxib in the acute treatment of migraine. Neurology 2004; 62(9): 1552-7.
21.Zhang X, Miao X, Tan W, et al. Identification of functional genetic variants in cyclooxygenase-2 and their association with risk of esophageal cancer. Gastroenterology 2005; 129(2): 565-76.
22.Sanak M, Szczeklik W, Szczeklik A. Association of COX-2 gene haplotypes with prostaglandins production in bronchial asthma. J Allergy Clin Immunol 2005; 116(1): 221-3.
23.Bresalier RS, Sandler RS, Quan H, et al. Cardiovascular events associated with rofecoxib in a colorectal adenoma chemoprevention trial. N Engl J Med 2005; 352(11): 1092-102.
24.Upadhyay R, Jain M, Kumar S, et al. Functional polymorphisms of cyclooxygenase-2 (COX-2) gene and risk for esophageal squmaous cell carcinoma. Mutat Res 2009; 663(1-2): 52-9.
25.Cetin M, Buyukberber S, Demir M, et al. Overexpression of cyclooxygenase-2 in multiple myeloma: association with reduced survival. Am J Hematol 2005; 80(3): 169-73.
26.Trojan A, Tinguely M, Vallet S, et al. Clinical significance of cyclooxygenase-2 (COX-2) in multiple myeloma. Swiss Med Wkly 2006; 136(25-26): 400-3.
27.Lopez-Campos JL, Rodriguez-Rodriguez D, Rodriguez-Becerra E, et al. Cyclooxygenase-2 polymorphisms confer susceptibility to sarcoidosis but are not related to prognosis. Respir Med 2009; 103(3): 427-33.
28.Samad TA, Moore KA, Sapirstein A, et al. Interleukin-1beta-mediated induction of Cox-2 in the CNS contributes to inflammatory pain hypersensitivity. Nature 2001; 410(6827): 471-5.
29.Campa D, Zienolddiny S, Maggini V, et al. Association of a common polymorphism in the cyclooxygenase 2 gene with risk of non-small cell lung cancer. Carcinogenesis 2004; 25(2): 229-35.
30.Esmaeili B, Rezaee SA, Layegh P, et al. Expression of IL-17 and COX2 gene in peripheral blood leukocytes of vitiligo patients. Iran J Allergy Asthma Immunol 2011; 10(2): 81-9.
31.Li M, Gao Y, Li C, et al. Association of COX2 functional polymorphisms and the risk of vitiligo in Chinese populations. J Dermatol Sci 2009; 53(3): 176-81.
32.Fujita H, Koshida K, Keller ET, et al. Cyclooxygenase-2 promotes prostate cancer progression. Prostate 2002; 53(3): 232-40.

www.SID.ir

Archive of SID

33.Kirschenbaum A, Klausner AP, Lee R, et al. Expression of cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 in the human prostate. Urology 2000; 56(4): 671-6.
34.Daraei A, Salehi R, Mohamadhashem F. PTGS2 (COX2) -765G>C gene polymorphism and risk of sporadic colorectal cancer in Iranian population. MolBiol Rep 2012; 39(5): 5219-24.
35.Andersen V, Holst R, Kopp TI, et al. Interactions between diet, lifestyle and IL10, IL1B, and PTGS2/COX-2 gene polymorphisms in relation to risk of colorectal cancer in a prospective Danish case-cohort study. PLoS One 2013; 8(10): e78366.
36.Oka A, Takashima S. Induction of cyclo-oxygenase 2 in brains of patients with Down's syndrome and dementia of Alzheimer type: specific localization in affected neurones and axons. Neuroreport 1997; 8(5): 1161-4.

www.SID.ir

Archive of SID

Iran South Med J 2016; 19(4): 629-643

Original Article

Association between COX-2 A1195G polymorphism with migraine in patients with consanguineous marriage of parents

E. Mozaffari [1*], M. faghani [2], R. Nemati [3], M. Makhlooei [4]

[1] Department of Genetics, Faculty of Sciences, Islamic Azad University of Shahrekord branch, Shahrekord, Iran
[2] Department of Animal Sciences and Fisheries, Faculty of Agricultural Sciences, Islamic Azad University of Shahrekord branch, Shahrekord, Iran
[3] Department of Neurology, School of Medicine, Boushehr University of Medical Sciences, Boushehr,Iran
[4] Department of Fishery, Faculty of Agricultural Sciences and Natural Resources, Islamic Azad University of Boushehr branch, Boushehr, Iran

(Received 27 Apr , 2015 Accepted 27 Oct, 2015)

Abstract

Background: Migraine is a common debilitating headache with current head pain attacks which associated with temporal changes of head blood vessels diameter and has been classified into two main categories, migraine with aura (MA) and migraine without aura (MO) by the International criteria for Headache Society (IHS). This study was performed with the aim of studying the association of COX-2-*1195A →G* gene polymorphism, risk of migraine susceptibility and it's relation with parent marriage type in two control and case groups.

Materials and Methods: Genomic DNA of blood samples was purified from 100 migraine cases and 100 controls in this study. By using the appropriative COX-2-1195A→G (rs89466) primer and *Pvu II* restriction enzyme in PCR- RFLP manner the expected region of subject's *COX-2* gene was amplified and digested.

Results: After analysising the data with SPSS twentieth version software, it was observed that frequency of *COX-2-1195 GG* and *COX-2-1195 AG* genotypes carriers in patients were higher than in the controls (9 percent and 41 percent in migraine cases, 5 percent and 24 percent in controls respectively; ($P<0.010$)), also it was specificated that frequences of mentioned genotypes has been significantly higher in patients with relative parent than in control group (8.1 percent and 48.6 percent in cases with relative parent, 5 percent and 24 percent in controls respectively; ($P<0.011$)).

Conclusion: Regarding high frequency of polymorph allele (G) in between patients with consanguineous parents, it can be resulted that consanguineous marriage increase the risk of this allele incidence and migraine outbreak. So, further studies with larger sample groups are needed on different nations of other regions to achieve better results about genetic of migraine, especially COX-2 gene.

Key words: Migraine, Polymorphism, *COX-2* gene, consanguineous marriage.

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Mozaffari E. faghani M, Nemati R, Makhlooei M. Association between COX-2 A1195G polymorphism with migraine in patients with consanguineous marriage of parents. Iran South Med J 2016; 19(4): 629-643

Copyright © 2016 Mozaffari, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

[*] *Address for correspondence:* Department of Genetics, Faculty of Sciences, Islamic Azad University of Shahrekord branch, Shahrekord, IRAN; E.mail: elahehsea@yahoo.com

Website: http://bpums.ac.ir
Journal Address: http://ismj.bpums.ac.ir

www.SID.ir