



بررسی ژنتیکی پلی مورفیسم ACE Ins/Del به عنوان عامل ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران

آریانا کریمی‌نژاد^۱، واله هادوی^۱، کریستین آبرکانینز^{۲*}، حسین نجم‌آبادی^۳

۱- مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی‌نژاد-نجم‌آبادی، تهران، ایران

۲- آزمایشگاه تشخیصی ViennaLab، وین، اتریش

۳- مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، تهران، ایران

چکیده

در این بررسی، ۲۰۸ فرد بدون علائم بالینی بیماری‌های قلبی-عروقی و سابقه ترومبوز وریدی، از نقاط مختلف ایران با نژادهای متفاوت، مطالعه شدند. جهت ارزیابی توزیع پلی مورفیسم ACE Ins/Del، یکی از عوامل ژنتیکی ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران، از روش هیبریدیزاسیون معکوس برای تشخیص سریع و دقیق استفاده شد. اساس تست روش Multiplex PCR و هیبریدیزاسیون بر روی نوار آزمون است. این نوار شامل خطوط موازی حاوی پروب‌های الیگنوکلئوتیدی خاص آلی است. شیوع جهش ACE D/I در جمعیت مورد بررسی ۶۲/۰ بود که رقم بالایی است. فراوانی جهش ACE D/I در ایران معادل جمعیت مدیترانه شرقی و بیشتر از فراوانی‌های گزارش شده از اروپا، هندوستان و بیشتر کشورهای منطقه آسیاست. در این مطالعه، نحوه توزیع آلل جهش یافته ACE D/I در نژادهای مختلف جمعیت ایران بررسی و نتایج آن با مطالعات دیگر مقایسه شده است. پژوهش اخیر تنها مطالعه‌ای است که تاکنون بر روی پلی مورفیسم ژنی ACE D/I در ایران انجام شده است. واژه‌های کلیدی: ترومبوز وریدی؛ پلی مورفیسم ژنی؛ آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین؛ فرکانس ژنی؛ ایران.

مقدمه

بیماری‌های قلبی-عروقی (CVD)^۱ به گروهی از نارسی‌های چندگانه اطلاق می‌شود که در آنها قلب، سرخرگ‌ها و سیاهرگ‌ها عملکرد طبیعی خود را از دست می‌دهند. از میان این دسته از بیماری‌ها، ترومبوآمبولیسم وریدی (VTE)^۲ سومین عارضه قلبی-عروقی شایع در دنیاست که سالیانه

۱ در ۱۰۰۰ نفر را درگیر می‌سازد (۱). آبخار انعقادی مسیر اصلی محافظتی است که با تنظیم واکنش‌های دقیق بین اجزاء دیواره عروق، پلاکت‌ها و پروتئین‌های پلاسما، باعث محدودیت در از دست رفتن خون می‌شود (۲). عدم تنظیم فعالیت این آبخار ممکن است به تشکیل ترومبوز وریدی و سرخرگی منجر شود و زندگی فرد را به خطر اندازد. ترومبوز وریدی ممکن

* کریستین آبرکانینز، Ph.D.

E.mail: oberkanins@viennalab.co.at

آزمایشگاه تشخیصی ViennaLab، وین، اتریش
تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲۰

آریانا کریمی نژاد، واله هادوی، کریستین آبرکانینز و همکاران

هدف از این بررسی تعیین فراوانی پلی مورفیسم یادشده در جمعیت ایران است که بتواند عوامل ژنتیکی تأثیرگذار بر ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی را در ایران مشخص و اطلاعات اپیدمیولوژیکی را برای مطالعات آتی فراهم کند.

مواد و روش‌ها

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

یافته‌ها

دویست و هشت نفر از نقاط مختلف ایران با نژادهای مختلف بررسی شدند. ژنوتیپ و فراوانی آللی پلی مورفیسم در نقاط مختلف ایران و نژادهای مختلف در جدول ۱ و ۲ ذکر شده است. جدول ۳ بیانگر شیوع پلی مورفیسم در جمعیت‌های مختلف، طبق آمارهای گزارش‌شده از محققان مختلف، در مقایسه با ایران است. شایع‌ترین آلل در بررسی اخیر ACE D، با فراوانی ۰/۶۲ بود. در گروه مورد مطالعه، حالت هوموزیگوت ژنوتیپ جهش‌یافته ACE D/D با فراوانی بالا ۰/۳۷٪ دیده شد.

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

ژن ACE³ بر روی کروموزوم ۱۷ (17q23) قرار دارد و پلی مورفیسمی در اینترون ۱۶ آن به ایجاد سه نوع ژنوتیپ دخول/دخول (II)^۴، دخول/حذف (ID)^۵ و حذف/حذف (DD)^۶ منجر می‌شود (۵). ژن ACE در انسان حاوی ۲۶ اگزون است که ۲۵ اینترون آنها را از یکدیگر جدا می‌کنند و طول تقریبی این ژن ۲۱ کیلوباز است (۶). پلی مورفیسم I/D، به علت وجود یا فقدان یک قطعه ۲۸۷ جفت‌بازی، در اینترون ۱۶ ژن ACE، به‌عنوان عامل ژنتیکی در بروز بیماری‌های قلبی-عروقی شناخته شده است (۷). این پلی مورفیسم عامل تعیین‌کننده فعالیت ACE پلاسماست و افرادی که ناقل هوموزیگوس آلل D هستند، بالاترین مقادیر ACE پلاسما را دارند. حالت هوموزیگوت برای آلل A کمترین میزان و حالت هتروزیگوت ID مقادیر متوسط را نشان می‌دهد (۸ تا ۱۰). آنزیم ACE، آنژیوتانسین I را به آنژیوتانسین II تبدیل می‌کند و برادی‌کینین^۷ را غیرفعال می‌سازد. این دو پپتید در آسیب‌زایی ایسکمی قلبی نقش دارند (۱۱). آنژیوتانسین II در تنگ شدن عروق^۸، تنظیم فشار خون، عملکرد اندوتلیال و جلوگیری از فیبرینولیز دخالت دارد. به‌علاوه، می‌تواند بر عوامل ایجادکننده آتروسکلروز، مانند فعالیت اندوتلیالی مؤثر بر قطر رگ‌های خونی (۱۲) و حرکت و تکثیر سلول‌های ماهیچه‌ای صاف تأثیر بگذارد (۱۳). اعتقاد بر این است که آنژیوتانسین II مستقیماً با افزایش رشد سلول‌های ماهیچه‌ای صاف عروق بر ایجاد آتروم^۹ تأثیر داشته باشد (۱۱).

ارتباط بین عوامل محیطی و بیماری‌های قلبی-عروقی در ایران به‌خوبی بررسی شده است، اما نقش مارکرهای ژنتیکی، به‌عنوان عامل مهم در بروز این‌گونه بیماری‌ها، هنوز در ایران ناشناخته است. تاکنون مطالعه‌ای بر روی شیوع پلی مورفیسم ACE Ins/Del در جمعیت ایران صورت نگرفته است.

جدول ۱: ژنوتیپ‌ها (%) و فراوانی آللی پلی مورفیسم ACE D/I در نقاط مختلف ایران

ژنوتیپ	مرکز	شمال	شمال شرق	شمال غرب	جنوب شرق	جنوب غرب	غرب	جمع
II	۹/۷	۱۷/۲	۱۵/۴	۱۴/۷	۲۰/۰	۷/۱	۱۲/۸	۱۳/۵
ID	۵۸/۱	۵۵/۲	۳۰/۸	۵۲/۹	۴۰/۰	۵۳/۶	۴۳/۶	۴۹/۵
DD	۳۲/۳	۲۷/۶	۵۳/۸	۳۲/۴	۴۰/۰	۳۹/۳	۴۳/۶	۳۷/۰
آلل I	۰/۳۸۷	۰/۴۴۸	۰/۳۰۸	۰/۴۱۲	۰/۴۰۰	۰/۳۳۹	۰/۳۴۶	۰/۳۸۳
آلل D	۰/۶۱۳	۰/۵۵۲	۰/۶۹۲	۰/۵۸۸	۰/۶۰۰	۰/۶۶۱	۰/۶۵۴	۰/۶۱۷

3. Angiotensin Converting Enzyme 4. Insertion/Insertion
5. Insertion/Deletion 6. Deletion/Deletion
7. Bradykinin 8. Vasoconstriction
9. Atheroma

جدول ۲: ژنوتیپها (%) و فراوانی آللی پلی مورفیسم ACE D/I در نژادهای مختلف جمعیت ایران

ژنوتیپ	فارس	آذری	لر	کرد	بلوچ	گیلک	عرب	جمع
II	۱۳/۳	۱۰/۳	۱۶/۷	۱۶/۷	۸/۷	۱۵/۴	۱۵/۸	۱۳/۵
ID	۵۴/۷	۵۱/۷	۳۸/۹	۴۴/۴	۴۷/۸	۵۳/۸	۳۶/۸	۴۹/۵
DD	۳۲/۰	۳۷/۹	۴۴/۴	۳۸/۹	۴۳/۵	۳۰/۸	۴۷/۴	۳۷/۰
آلل I	۰/۴۰۶	۰/۳۶۲	۰/۳۶۲	۰/۳۸۹	۰/۳۲۶	۰/۴۲۳	۰/۳۴۲	۰/۳۸۲
آلل D	۰/۵۹۴	۰/۶۳۸	۰/۶۳۸	۰/۶۱۱	۰/۶۷۴	۰/۵۷۷	۰/۶۵۸	۰/۶۱۸

جدول ۳: فراوانی آللی پلی مورفیسم ACE D/I در جمعیت‌های مختلف در مقایسه با ایران

فراوانی آللی		جمعیت (مرجع)
D	I	
۰/۳۷	۰/۶۳	یونان (۱۷)
۰/۳۸	۰/۶۲	لبنان (۱۹)
۰/۴۸	۰/۵۲	ترکیه (۱۹)
۰/۶۲	۰/۳۸	ایران (بررسی حاضر)
۰/۴۵	۰/۵۵	پاکستان (۲۱)
۰/۴۳	۰/۵۷	هند (۲۰)
۰/۳۲	۰/۶۸	شرق آسیا (۲۰)

همان طوری که در جدول ۳ مشاهده می‌کنید، فراوانی به‌دست‌آمده برای آلل D در پلی مورفیسم ACE D/I در این بررسی ۰/۶۲ است که با مقادیر گزارش شده از جمعیت مدیترانه شرقی (۰/۶۳-۰/۶۱) برابری می‌کند. این رقم بیشتر از آمارهای گزارش شده از کشور اروپای مرکزی (۰/۴۹-۰/۵۲)، ایتالیا (۰/۵۳)، اسپانیا (۰/۳۸)، یونان (۰/۳۷)، لبنان (۰/۳۸)، ترکیه (۰/۴۸)، شرق آسیا (۰/۳۲)، هند (۰/۴۳) و پاکستان (۰/۴۵) است (۱۷ تا ۲۱). در ایران، تاکنون بررسی بر روی میزان شیوع پلی مورفیسم ACE D/I صورت نگرفته است و گزارشی نیز مبنی بر میزان شیوع آن در کشورهای اطراف نظیر عراق، عربستان سعودی، پاکستان و آذربایجان، تاکنون منتشر نشده است. آلل D به بالا رفتن سطح آنزیم ACE در گردش خون منجر می‌شود. علاوه بر این، بر میزان تولید فعال‌کننده پلاسمینوژن نوع بافتی (t-PA) و در نتیجه، تولید پلاسمین از پلاسمینوژن و بر سامانه فیبرینولیتیک تأثیرگذار است. وجود آلل D با ترومبوز وریدی پس از جراحی‌های ارتوپدی (۲۲)، افزایش فشار خون (۲۳) و سکنه قلبی همراه است. با وجود شیوع بالای ACE D/D به‌صورت هموزیگوت در جمعیت

به‌طور کلی، شیوع آلل جهش‌یافته D در شمال شرق، جنوب شرق و جنوب غرب ایران بیشترین فراوانی (به ترتیب، ۰/۶۹، ۰/۶۶ و ۰/۶۵) را داشتند (جدول ۱). از میان نژادهای مختلف فارس، لر، کرد، گیلک، بلوچ، آذری و عرب مورد بررسی، آلل جهش‌یافته D در نژاد بلوچ، عرب، آذری و لر بالاترین فراوانی‌ها (به ترتیب، ۰/۶۷، ۰/۶۵، ۰/۶۳ و ۰/۶۳) و نژاد کرد، فارس و گیلک کمترین فراوانی‌ها (به ترتیب، ۰/۶۱، ۰/۵۹ و ۰/۵۷) را داشتند (جدول ۲). جمعیت مورد بررسی از تعادل هاردی-واینبرگ برخوردار بود.

بحث و نتیجه‌گیری

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

10. Tissue-type Plasminogen Activator

D/I، مخصوصاً در حالت هوموزیگوت، و همراهی آن با افزایش خطر ترومبوز وریدی در این افراد اهمیت بررسی این پلی مورفیسم‌ها را در جمعیت ایران بیش از پیش روشن می‌سازد. نیاز به مطالعات و بررسی‌های بیشتر، به منظور تعیین ارتباط پلی مورفیسم ACE D/I با بیماری‌های قلبی-عروقی، سرخرگی و ترومبوز وریدی در جمعیت ایران احساس می‌شود.

References

1. Menon J, Salman MM, MdGH. Venous thrombolysis: Current perspectives. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2004;6:159-68.
2. Konkle BA. Bleeding and thrombosis. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, et al. Editors. *Harrison's principles of internal medicine*. 17th ed. New York: McGraw Hill; 2008. P.363-9.
3. Cardiovascular disease: prevention and control [Internet]. World Health Organization. Available from: <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/Fact/cvd/en>.
4. Reitsma PH, Rosendaal FR. Past and future of genetic research in thrombosis. *J Thromb Haemost* 2007;SI:264-9.
5. Fogarty DG, Maxwell AP, Doherty CC, et al. ACE gene typing. *Lancet* 1994;343:851.
6. Hubert C, Houot AM, Corvol P, et al. Structure of the angiotensin I-converting enzyme gene. *J Biol Chem* 1991;266:15377-83.
7. Cambien F, Poirier O, Lecerf L, et al. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-4.
8. Tiret L, Rigat B, Visvikis S, et al. Evidence, from combined segregation and linkage analysis, that a variant of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. *Am J Hum Genet* 1992;51:197-205.
9. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C, et al. PIA1/A2 polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction stroke, and venous thrombosis. *Lancet* 1997;349:385-8.
10. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al. An insertion/deletion polymorphism in the angiotensin I-converting enzyme gene accounting for half the

ما (۳۷٪)، بررسی وضعیت پلی مورفیسم ACE D/I در بیمارانی که مورد جراحی‌های ارتوپدی هستند، ضروری به نظر می‌رسد. از آنجایی که اطلاعات مشابهی از میزان جهش ACE D/I در کشورهای همسایه وجود ندارد، نتیجه‌گیری اینکه فراوانی این جهش از غرب به شرق کاهش می‌یابد یا خیر، مشکل است. فراوانی بالای پلی مورفیسم ACE

variance of serum enzyme levels. *J Clin Invest* 1990;86:1343-6.

11. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin converting enzyme inhibitors. *Circulation* 1998;97:1411-20.
12. Kupari M, Perola M, Koskinen P, et al. Left ventricular size, mass, and function in relation to angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in humans. *Am J Physiol* 1994;267:1107-11.
13. Campbell-Boswell M, Robertson AL. Effects of angiotensin II and vasopressin on human smooth muscle cells in vitro. *Exp Mol Pathol* 1981;35:265-76.
14. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 1988;16:1215.
15. Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 2005;1:47-50.
16. Khosravi A, Rao C, Naghavi M, et al. Impact of misclassification on measures of cardiovascular disease mortality in the Islamic Republic of Iran: a cross-sectional study. *Bulletin WHO* 2008;86:688-96.
17. Gialeraki A, Politou M, Rallidis L, et al. Prevalence of prothrombotic polymorphisms in Greece. *Genetic Testing* 2008;12:541-7.
18. Makris TK, Stavroulakis GA, Dafni UG, et al. ACE/DD genotype is associated with hemostasis balance disturbances reflecting hypercoagulability and endothelial dysfunction in patients with untreated hypertension. *Am Heart J* 2000;140:760-5.
19. Berdeli A, Cam FS. Prevalence of the angiotensin I converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in a healthy Turkish population.

Biochem Genet 2009;47:412-20.

20. Lerman A, Suwaidi JA, Velianou JL. L-Arginine. A novel therapy for coronary artery disease? Expert Opin Investig Drugs 1999;8:1785-93.

21. Ismail M, Akhtar N, Nasir M, et al. Association between the angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and essential hypertension in young Pakistani patients. J Biochem Mol Biol 2004; 37(5):552-5.

22. Philipp CS, Dilley A, Saidi P, et al. Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene as a thrombophilic risk factor after hip arthroplasty. Thromb Haemost 1998;80:869-73.

23. Makris TK, Stavroulakis GA, Dafni UG, et al. ACE/DD genotype is associated with hemostasis balance disturbances reflecting hypercoagulability and endothelial dysfunction in patients with untreated hypertension. Am Heart J 2000;140:760-5.