

مقاله پژوهشی

بررسی ژنتیکی پلی مورفیسم Beta-Fibrinogen-455 G/A به عنوان عامل ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران

کیمیا کهریزی^۱، کریستین آبرکانینز^{۲*}، واله هادوی^۱، بیتا بزرگمهر^۱، حسین نجم آبادی^{۱،۳}

۱- مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی نژاد-نجم آبادی، 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 β -Fibrinogen -455G/A، یکی از عوامل ژنتیکی ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی در جمعیت ایران، از روش هیبریدیزاسیون معکوس برای تشخیص سریع و دقیق استفاده شد. اساس آزمون روش Multiplex PCR و هیبریدیزاسیون بر روی نوار آزمون است. این نوار شامل خطوط موازی حاوی پروب‌های الیگونوکلوئیدی خاص آلی است. شیوع جهش FGB-455 G/A در جمعیت مورد بررسی ۰/۲۲ بود که با آمارهای گزارش شده از اروپا برابری می‌کند، اما بیشتر از فرکانس‌های گزارش شده از کشورهای منطقه آسیاست. در این مطالعه، نحوه توزیع آلل جهش یافته FGB-455 G/A در نژادهای مختلف جمعیت ایران بررسی شده و نتایج آن با مطالعات صورت گرفته مقایسه شده است. پژوهش اخیر تنها مطالعه‌ای است که تاکنون بر روی پلی مورفیسم ژنی FGB-455 G/A در ایران انجام شده است. واژه‌های کلیدی: ترومبوز وریدی؛ پلی مورفیسم ژنی؛ فیبرینوژن؛ فرکانس ژنی؛ ایران.

مقدمه

وریدی (VTE)^۱ سومین عارضه قلبی-عروقی شایع در دنیاست که سالیانه ۱ در ۱۰۰۰ نفر را درگیر می‌سازد (۱). آبشار 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 آبشار ممکن است به تشکیل ترومبوز وریدی و

بیماری‌های قلبی-عروقی (CVD)^۲ به گروهی از نارسایی‌های چندگانه اطلاق می‌شود که در آنها قلب، سرخرگ‌ها و سیاهرگ‌ها عملکرد طبیعی خود را از دست می‌دهند. از میان این دسته از بیماری‌ها، ترومبوآمبولیسم

* کریستین آبرکانینز، Ph.D

E.mail: oberkanins@viennalab.co.at

آزمایشگاه تشخیصی ViennaLab، وین، اتریش
تاریخ دریافت: ۸۸/۱۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۹/۲/۲۵

1. Cardiovascular Diseases

2. Venous Thromboembolism

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 (ViennaLab CVD Strip Assay، 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 آلی 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 گزارش شده از محققان مختلف، در مقایسه با ایران است. شایع‌ترین آلل در بررسی اخیر β -Fibrinogen -455G (با فراوانی ۰/۷۸) بود. در گروه مورد مطالعه، فراوانی حالت هوموزیگوت ژنوتیپ جهش‌یافته β -Fibrinogen -455 G/A ۳/۸٪ به‌دست آمد.

سرخرگی منجر شود و زندگی فرد را به‌خطر اندازد. ترومبوز وریدی ممکن 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 مرگ‌ومیر در دوران بارداری، کودکی و در بدخیمی‌هاست (۴). فیبرینوژن، به‌عنوان عامل اصلی هموستاز، در آخرین مرحله آبشار انعقاد خون قرار گرفته است. سطح بالای فیبرینوژن پلاسما باعث خطر افزایش انعقاد خون می‌شود. سطح فیبرینوژن پلاسما نقش مهمی در ایجاد بیماری قلبی-عروقی، ایسکمی قلبی و مرگ‌ومیر ناشی از آنها دارد (۵). فیبرین که از فیبرینوژن حاصل می‌شود، بخش عمده‌ای از پلاک‌های آتروماتوز و ترومبوزهای انسدادی است (۶).

فیبرینوژن از سه زنجیره پلی‌پپتیدی $\alpha\alpha$ ، $\beta\beta$ و γ تشکیل شده است که ژن‌های آنها به‌صورت خوشه‌ای در کنار هم و بر روی کروموزوم 4q قرار گرفته‌اند. زنجیره β تولید فیبرینوژن را محدود می‌سازد و دارای دو هاپلوטיפ است (۷). توجه محققان بیشتر به دی مورفیسم‌های β 455G/A و β 148C/T در پروموتور زنجیره β معطوف شده است که پیوستگی ژنی کاملی^۳ با یکدیگر دارند (۸). دی مورفیسم β 455G/A در پروموتور بتافیبرینوژن (FGB)^۴ با سطوح مختلف فیبرینوژن پلاسما همراه است (۹). جهش شایع پروموتور بتافیبرینوژن ($G-455\beta A$) در سیاه‌پوستان کمتر دیده می‌شود؛ در حالی که در سفیدپوستان، آلل A با سطوح بالاتر فیبرینوژن پلاسما همراه است (۱۰ تا ۱۳).

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 β -Fibrinogen -455G/A در جمعیت ایران صورت نگرفته است. هدف از این بررسی تعیین فراوانی پلی مورفیسم

جدول ۱: ژنوتیپ‌ها (%) و فراوانی آلی پلی مورفیسم β -Fibrinogen-455G/A در نقاط مختلف ایران

ژنوتیپ	مرکز	شمال	شمال شرق	شمال غرب	جنوب شرق	جنوب غرب	غرب	جمع
GG	۵۴/۸	۵۸/۶	۷۶/۹	۵۵/۹	۷۱/۴	۵۹/۰	۵۵/۲	۶۰/۶
GA	۴۱/۹	۳۱/۰	۲۳/۱	۴۴/۱	۲۵/۰	۳۵/۹	۴۱/۴	۳۵/۶
AA	۳/۲	۱۰/۳	-	-	-	۵/۱	۳/۴	۳/۸
آلل G	۰/۷۵۸	۰/۷۴۲	۰/۸۸۴	۰/۷۸۰	۰/۹۰۰	۰/۷۷۰	۰/۷۵۹	۰/۷۸۴
آلل A	۰/۲۴۲	۰/۲۵۸	۰/۱۱۶	۰/۲۲۰	۰/۱۰۰	۰/۲۳۰	۰/۲۴۱	۰/۲۱۶

3. Complete Linkage Disequilibrium
4. β -fibrinogen

کیمیا کهریزی، کریستین آیرکانینز، واله هادوی و همکاران

جدول ۲: ژنوتیپ‌ها (%) و فراوانی آلی پلی مورفیسم β -Fibrinogen-455G/A در نژادهای مختلف جمعیت ایران

ژنوتیپ	فارس	آذری	لر	کرد	بلوچ	گیلک	عرب	جمع
GG	۶۵/۳	۵۵/۲	۵۵/۶	۵۵/۶	۶۵/۲	۶۱/۵	۵۲/۶	۶۰/۶
GA	۳۰/۷	۴۴/۸	۴۴/۴	۳۸/۹	۳۰/۴	۳۰/۸	۴۲/۱	۳۵/۶
AA	۴/۰	-	-	۵/۶	۴/۳	۷/۷	۵/۳	۳/۸
آل G	۰/۸۰۶	۰/۷۷۶	۰/۷۷۸	۰/۷۵۰	۰/۸۰۵	۰/۷۶۹	۰/۷۳۶	۰/۷۸۴
آل A	۰/۱۹۴	۰/۲۲۴	۰/۲۲۲	۰/۲۵۰	۰/۱۹۵	۰/۲۳۱	۰/۲۶۴	۰/۲۱۶

عروق، لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها، به‌صورت ترومبوز، بر دیواره عروق نقش اصلی خود را در ایجاد تصلب شرائین ایفاء می‌کند. این عمل باعث تغییر دیواره عروق، ایجاد پلاک و ترومبوز، و در نهایت انسداد وریدی می‌شود. پلی مورفیسم β 455G/A در پرموتور زنجیره β ژن فیبرینوژن بر روی سطح فیبرینوژن پلاسما تأثیر می‌گذارد، به‌صورتی که آل A-455 β در حالت هوموزیگوت باعث ایجاد سطح بالاتری از فیبرینوژن پلاسما، در مقایسه با حالت هوموزیگوت آل A-455 β و هتروزیگوت β -455 G/A می‌شود (۱۷).

آل A فیبرینوژن β -455 با پیشرفت سریع‌تر بیماری قلبی عروقی و سکت قلبی در ارتباط است. همان‌طوری که در جدول ۳ مشاهده می‌کنید، فراوانی به‌دست‌آمده برای آل β -Fibrinogen-455A در این بررسی ۰/۲۲ بود که با مقادیر گزارش شده از قبرس (۰/۲۳)، لبنان (۰/۲۳)، ترکیه (۰/۲۳)، ایتالیا (۰/۲۳)، اسپانیا (۰/۲۲) و اروپای مرکزی (۰/۲۷-۰/۲۱) و آفریقا (۰/۱۹) برابری می‌کند. این رقم کمتر از آمارهای گزارش شده از یونان (۰/۳۰) و چین (۰/۵۳)، اما بیشتر از کشورهای شرق آسیاست (۰/۱۰) (۱۸ تا ۲۳). در ایران نیز، همچون بسیاری از کشورهای همسایه، پیش از این مطالعه‌ای بر روی میزان شیوع پلی مورفیسم β -Fibrinogen-455G/A صورت نگرفته بود. فراوانی هوموزیگوسیتی به‌دست‌آمده برای β -Fibrinogen-455A در این بررسی ۳/۸٪ بود (جدول ۱).

از آنجایی که اطلاعات مشابهی از میزان جهش β -Fibrinogen-455G/A در کشورهای همسایه نظیر آذربایجان، پاکستان، عراق و عربستان سعودی وجود

به‌طور کلی، بالاترین شیوع آل جهش‌یافته A متعلق به شمال، مرکز، غرب، جنوب غرب و شمال غرب ایران بود (به‌ترتیب، با فراوانی ۰/۲۵، ۰/۲۴، ۰/۲۴، ۰/۲۳ و ۰/۲۲) (جدول ۱). از میان نژادهای مختلف فارس، لر، کرد، گیلک، بلوچ، آذری و عرب مورد بررسی، آل جهش‌یافته A در نژادهای عرب، کرد، گیلک، آذری و لر با بالاترین فراوانی‌ها (به‌ترتیب ۰/۲۶، ۰/۲۵، ۰/۲۳، ۰/۲۲ و ۰/۲۲) و در نژاد بلوچ و فارس با کمترین فراوانی‌ها (هر کدام ۰/۱۹) دیده شد (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).

فیبرینوژن یکی از پروتئین‌های اصلی پلاسما است که در هموستاز نقش دارد و سطح بالای آن در پلاسما با افزایش خطر ترومبوز وریدی همراه است. فیبرینوژن با تشکیل رسوب متشکل از سلول‌های ماهیچه‌ای صاف دیواره

جدول ۳: فراوانی آلی پلی مورفیسم β -Fibrinogen-455G/A در جمعیت‌های مختلف در مقایسه با ایران

فراوانی آلی		جمعیت (مرجع)
A	G	
۰/۳۰	۰/۷۰	یونان (۱۸)
۰/۲۳	۰/۷۷	لبنان (۲۰)
۰/۲۳	۰/۷۷	ترکیه (۱۹)
۰/۲۲	۰/۷۸	ایران (بررسی حاضر)
۰/۱۰	۰/۹۰	شرق آسیا (۲۱)

بیش از پیش روشن می‌سازد. به مطالعات و بررسی‌های بیشتر، به‌منظور تعیین ارتباط پلی مورفیسم β -Fibrinogen-455G/A با بیماری‌های قلبی-عروقی، سرخرگی و ترومبوز وریدی در جمعیت ایران، نیاز است.

ندارد، نتیجه‌گیری اینکه فراوانی این جهش از غرب به شرق کاهش می‌یابد یا خیر، مشکل به‌نظر می‌رسد. فراوانی بالای β -Fibrinogen-455G/A، مخصوصاً در حالت هوموزیگوت، و همراهی آن با افزایش خطر ترومبوز وریدی در این افراد، اهمیت بررسی این پلی مورفیسم‌ها را در جمعیت ایران

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;S1:264-9.
5. Thompson SG, Kienast J, Pyke SD, et al. Hemostatic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. European concerted action on thrombosis and disabilities angina pectoris study group. *N Engl J Med* 1995;332:635-41.
6. Bini A, Fenoglio JJ, Mesa Tejada R, et al. Identification and distribution of fibrinogen, fibrin, and fibrin(ogen) degradation products in atherosclerosis. Use of monoclonal antibodies. *Arteriosclerosis* 1989;9:109-21.
7. Behague I, Poirier O, Nicaud V, et al. Beta fibrinogen gene polymorphisms are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM study. *Etude cas-temoins sur l'infarctus du myocarde*. *Circulation* 1996;93:440-9.
8. van 't Hooft FM, von Bahr SJ, Silveira A, et al. Two common, functional polymorphisms in the promoter region of the beta-fibrinogen gene contribute to regulation of plasma fibrinogen concentration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:3063-70.
9. Thomas AE, Green FR, Kelleher CH, et al. Variation in the promoter region of the β fibrinogen gene is associated with plasma fibrinogen levels in smokers and non-smokers. *Thromb Haemost* 1991;65:487-90.
10. Folsom AR, Qamhieh HT, Flack JM, et al. Plasma fibrinogen: levels and correlates in young adults: The coronary artery risk development in young adults (CARDIA) study. *Am J Epidemiol* 1993;138:1023-36.
11. Thomas AE. Genetic variation at the alpha-beta-fibrinogen loci and its association with plasma fibrinogen levels; ethnic differences and environmental interactions. [phD dissertation]. London: London University;1995.
12. Humphries SE, Thomas A, Montgomery HE, et al. Gene-environment interaction in the determination of plasma levels of fibrinogen. *Fibrinolysis Proteolysis* 1997;11(S1):3-7.
13. Tybjaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries SE, et al. A common mutation (G-455 to A) in the beta-fibrinogen promoter is an independent predictor of plasma fibrinogen, but not of ischaemic heart disease. A study of 9,127 individuals based on the Copenhagen city heart study. *J Clin Invest* 1997;99:3034-9.
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. Renner W, Cichocki L, Forjanics A, et al. G-455A polymorphism of the fibrinogen beta gene and deep vein thrombosis. *Eur J Clin Invest* 2002;32:755-8.

18. Gialeraki A, Politou M, Rallidis L, et al. Prevalence of prothrombotic polymorphisms in Greece. *Genetic Testing* 2008;12:541-7.

19. Mahfouz RA, Otrock ZK, Ghasham MA, et al. Oral contraceptive pills and inherited thrombophilia in a young woman with deep venous thrombosis. *East Mediterr Health J* 2009;15:235-8.

20. Shammaa DM, Sabbagh AS, Taher AT, et al. Frequency distribution of the G/A alleles of the beta-

fibrinogen gene in the Lebanese population. *Mol Biol Rep* 2008;35:453-7.

21. Lerman A, Suwaidi JA, Velianou JL, et al. A novel therapy for coronary artery disease? *Expert Opin Investig Drugs* 1999;8:1785-93.

22. deGaetano G, Di Castelnuovo A, Donati MB, et al. The mediterranean lecture: from epidemiology to physiology and back. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2003;33:466-71.

23. Rees DC, Chapman NH, Webster MT, et al. Born to clot: the European burden. *Br J Haematol* 1999;105:564-6.