مجله دانشکده پزشکی اصفهان **مقاله پژوهشی**
سال سی‌ام/شماره ۲۰۹/هفته سوم آذرماه ۱۳۹۱
تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۱۸ **تاریخ پذیرش:** ۹۱/۷/۲۰

پلی‌مورفیسم حذف و جایگزینی در ژن آنزیم مبدل آنژیوتانسین و ارتباط آن با انسداد آترواسکلروتیک گرافت‌های وریدی پس از عمل بای‌پاس عروق کرونر

دکتر ندا زینلی[۱]، دکتر محمد هاشمی[۲]، دکتر محسن میرمحمد صادقی[۳]، دکتر حمید میرمحمد صادقی[۴]، دکتر میر علیمحمد سبزقبائی[۵]

چکیده

مقدمه: در بسیاری از مطالعات به ارتباط پلی‌مورفیسم حذف و جایگزینی (Insertion/Deletion یا I/D) در ژن آنزیم مبدل آنژیوتانسین (Angiotensin converting enzyme یا ACE) و بیماری‌های قلبی- عروقی اشاره شده است، اما نقش این پلی‌مورفیسم و انسداد گرافت‌های وریدی در طولانی مدت بعد از عمل جراحی بای‌پاس عروق کرونر (Coronary artery bypass graft یا CABG) بحث‌برانگیز است. هدف از مطالعه‌ی حاضر، ارزیابی ارتباط پلی‌مورفیسم (I/D) در ژن ACE و انسداد آترواسکروتیک گرافت‌های وریدی بود.

روش‌ها: بیمارانی که حداقل ۵ سال از زمان عمل CABG آن‌ها گذشته بود در این مطالعه‌ی مقطعی شرکت داده شدند و انسداد گرافت‌های وریدی به وسیله‌ی آنژیوگرافی مورد بررسی قرار گرفت. پلی‌مورفیسم (I/D) در ژن ACE توسط واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (Polymerase chain reaction یا PCR) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مجموع ۱۰۲ بیمار (۸۴ مرد) در این مطالعه شرکت کردند. توزیع فراوانی ژنوتیپ DD، ID و II مشاهده شده به ترتیب ۲۳/۶، ۶۲/۷ و ۱۳/۷ درصد بود. بین گروه‌های ژنوتیپی از لحاظ تعداد گرافت‌های وریدی با انسداد کامل، انسداد نسبی و فاقد ضایعه‌ی انسدادی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (به ترتیب P = ۰/۶، P = ۰/۷ و P = ۰/۱۸). اختلاف گروه‌های ژنوتیپی از نظر تعداد ماه‌های سپری شده بعد از CABG در آستانه‌ی معنی‌دار شدن قرار داشت (P = ۰/۰۶) و بیانگر این بود که بیماران در گروه ژنوتیپی II در زمان کوتاه‌تری، دارای تعداد برابر از گرافت‌های وریدی با انسداد کامل هستند.

نتیجه‌گیری: با وجود این که نتایج مطالعه‌ی ما، به عدم ارتباط پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE و انسداد گرافت‌های وریدی در طولانی مدت بعد از CABG اشاره داشت، ولی احتمال دارد که گروه ژنوتیپی II سرعت انسداد گرافت‌های وریدی را افزایش دهد.

واژگان کلیدی: موتاسیون حذف و جایگزینی، آنزیم مبدل آنژیوتانسین، عمل جراحی بای‌پاس عروق کرونر، انسداد گرافت وریدی

مقدمه

بیماری شریان کرونر (Coronary artery disease یا CAD) به علت انسداد شریان‌های کرنر با پلاک‌های آترواسکلروتیک ایجاد می‌گردد (۱). اهمیت CAD به واسطه اپیدمیولوژی آن نشان داده می‌شود. اپیدمیولوژی CAD در منطقه‌ی خاورمیانه توجه برانگیز است. CAD فرم غالب بیماری قلبی- عروقی در خاورمیانه است (۲). انتظار می‌رود در سال ۲۰۲۰ نسبت به سال ۱۹۹۰

---

* **این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان است.**

[۱] دانشجوی دکترای داروسازی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] استاد، گروه قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۳] استادیار، گروه جراحی قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۴] استاد، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۵] دانشیار، مرکز پژوهش‌های توکسیکولوژی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر میر علیمحمد سبزقبائی
Email: sabzghaba@pharm.mui.ac.ir

روند مرگ و میر ناشی از CAD در این ناحیه با افزایش ۱۷۷ درصدی روبرو شود (۳). متوسط سن بروز انفارکتوس میوکارد (Myocardial infarction یا MI) در این ناحیه ۵۱ سالگی است که نسبت به جوامع غربی ۱۲ سال کمتر است (۴).

کرونری آنژیوپلاستی (PCI یا Percutaneous coronary intervention) و عمل جراحی بای‌پاس عروق کرونر (CABG یا Coronary artery bypass graft) روش‌های درمانی CAD در موارد شدید آن می‌باشند (۵). مطالعات نشان می‌دهد که در مقایسه‌ی CABG و PCI، CABG درمان استاندارد در موارد شدید CAD است؛ چرا که در کوتاه مدت و بلند مدت عوارض قلبی- عروقی و مغزی- عروقی کمتری دارد (۸-۶). در CABG از گرافت های وریدی و شریانی به منظور برقراری مجدد جریان خون استفاده می‌شود (۵).

عمده‌ی گرافت‌های استفاده شده در CABG گرافت های وریدی هستند که علت آن مزیت این گرافت‌ها نسبت به گرافت‌های شریانی می‌باشد. گرافت‌های وریدی در مقایسه با گرافت‌های شریانی دارای قطر بزرگ تر، طول بیشتر و تعداد فراوان‌تری هستند، در عین حال جداسازی آن‌ها از بافت اصلی نیز آسان‌تر است (۹). با وجود مزایای ذکر شده برای گرافت های وریدی مشکل اصلی آن‌ها انسداد بعد از CABG است (۱۱-۱۰).

فراوانی گرافت‌های وریدی فاقد ضایعه‌ی انسدادی در هفته ی اول، سال اول، سوم، ششم و دهم بعد از عمل به ترتیب ۹۵، ۸۴، ۸۰، ۶۹ و ۶۱ درصد است (۱۲). علت انسداد گرافت‌های وریدی در طولانی مدت بعد از CABG آترواسکلروز تشخیص داده شده است (۱۳).

در دهه‌های اخیر در کنار عوامل خطر مرسوم بر تشدید روند آترواسکلروز، پلی مورفیسم های ژنتیکی نیز به عنوان عامل توسعه ی پلاک آتروما در نظر گرفته شده‌اند (۱۴). اهمیت بررسی بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی به این علت است که می توانند به عنوان ابزاری نویدبخش در جهت پیشگیری اولیه و ثانویه از CAD عمل کنند (۱۵).

یکی از عوامل خطر ژنتیکی در توسعه‌ی روند آترواسکلروز پلی‌مورفیسم حذف و جایگزینی (Insertion/Deletion یا I/D) در ژن آنزیم مبدل آنژیوتانسین (Angiotensin converting enzyme یا ACE) می باشد. ژن ACE بر روی کروموزوم ۱۷ قرار دارد. حضور (Insertion) یا عدم حضور (Deletion) قطعه‌ی ۲۸۷ جفت باز بر روی اینترون ۱۶ آن سبب این پلی‌مورفیسم می‌گردد و در نهایت سبب اختلاف ۵۰ درصدی در سطح این آنزیم در گروه‌های ژنوتیپی ناشی از آن خواهد شد (۱۶). ACE تنظیم‌کننده‌ی اصلی سیستم رنین- آنژیوتانسین است که باعث تبدیل آنژیوتانسین ۱ به آنژیوتانسین ۲ خواهد شد. آنژیوتانسین ۲ ماده‌ی آتروژنیک سیستم رنین- آنژیوتانسین است که با ایجاد التهاب در عروق، استرس اکسیداتیو، تغییر وضعیت بافت (Tissue remodeling) سبب تشدید روند آترواسکلروز خواهد شد (۲۰-۱۷).

با توجه به اهمیت اپیدمیولوژی CAD در خاورمیانه و اهمیت CABG به عنوان درمان استاندارد موارد شدید CAD و با در نظر گرفتن جایگاه گرافت‌های وریدی و مطالعه بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی تصمیم به انجام مطالعه‌ای با هدف بررسی نقش پلی مورفیسم (I/D) در ژن ACE و انسداد گرافت‌های وریدی در

www.mui.ac.ir

طولانی مدت بعد از CABG گرفته شد.

روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه شامل بیمارانی بودند که حداقل ۵ سال بعد از CABG به علت مشکل ناشی از CAD طی دی ماه ۱۳۸۹ لغایت آبان ماه ۱۳۹۰ به بیمارستان سینای اصفهان و مرکز آموزشی- درمانی نور مراجعه کردند و تحت آنژیوگرافی قرار گرفتند.

بیماران از نظر عوامل خطر مرسوم CAD شامل فشار خون (فشار خون سیستولی بالاتر از ۱۴۰ میلی‌متر جیوه و فشار خون دیاستولی بالاتر از ۹۰ میلی‌متر جیوه یا مصرف داروهای کاهنده‌ی فشارخون)، مصرف سیگار، هیپرکلسترولمی (سطح کلسترول بالاتر از ۲۴۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر یا مصرف داروهای کاهنده‌ی کلسترول خون)، دیابت (قند خون ناشتای بالاتر از ۱۱۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر یا مصرف داروهای کاهنده‌ی قند خون) و سابقه‌ی فامیلی (وجود فرد مذکر مبتلا به CAD با سن کمتر از ۵۵ سال یا وجود فرد مؤنث مبتلا به CAD با سن کمتر از ۶۵ سال در اقوام درجه‌ی یک) مورد ارزیابی قرار گرفتند. اطلاعات CABG شامل تعداد ماه های سپری شده بعد از عمل و تعداد گرافت های وریدی مورد استفاده بر اساس گزارش جراحی استخراج گردید. از بیمارانی که فرم رضایت‌نامه‌ی آگاهانه جهت شرکت در مطالعه امضا کرده بودند، ۳ میلی‌لیتر خون به منظور بررسی پلی‌مورفیسم اخذ گردید.

در حال حاضر آنژیوگرافی استاندارد طلایی در تشخیص CAD و شدت آترواسکلروز است (۵). به منظور بررسی روند آترواسکلروز در گرافت‌های وریدی از آنژیوگرافی با روش Judkins استفاده گردید. گرافت‌های وریدی بر مبنای شدت آترواسکلروز به ۳ دسته تقسیم شدند:

۱. گرافت‌های وریدی با انسداد کامل (گرفتگی ۱۰۰ درصد)
۲. گرافت های وریدی با انسداد نسبی (گرفتگی ۹۰، ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد)
۳. گرافت‌های وریدی فاقد ضایعه‌ی انسدادی

به منظور بررسی پلی مورفیسم، DNA ژنومی از لکوسیت های خون و با کمک کیت شرکت روشه (High pure PCR template preparation kit, Roch Diagnostics GmbH, Germany) استخراج گردید. نتایج حاصل از استخراج DNA بر روی ژل آگارز ۰/۸ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و DNA استخراج شده در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR یا Polymerase chain reaction) ذخیره گردید. به منظور بررسی پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE دو PCR و ۴ نوع پرایمر مورد استفاده قرار گرفت. توالی پرایمرها در PCR اول شامل:

5’-CTGGAGACCACTCCCATCCTTTCT-3’
و 5’-GATGTGGCCATCACATTCGTCAGAT-3’

به ترتیب پرایمر جلو برنده و پرایمر معکوس بود. حجم نهایی مخلوط واکنش ۲۵ میکرولیتر و شامل ۱۲/۵ پیکومول از هر یک از پرایمرها، ۲/۸ میلی‌مول $MgCl_2$، ۰/۸ میلی‌مول از هر یک از dNtpها، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰ x (High fidelity PCR buffer, Fermentase)، ۱ واحد Taq polymerase (High fidelity PCR enzyme mix, Fermentase) و ۲ میکرولیتر از DNA نمونه‌ی تحت بررسی بود.

به منظور انجام PCR، مخلوط واکنش در دستگاه

www.mui.ac.ir

ترموسایکلر (Analytic Jena) قرار گرفت. ابتدا مخلوط واکنشی به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس وارد یک چرخه ی ۳ قسمتی به ترتیب شامل ۱ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۱ دقیقه در ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد گردید. این چرخه ۳۰ مرتبه تکرار شد. در انتها نیز مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. محصول PCR توسط ژل آگارز ۱ درصد جداسازی شد و DNA توسط اتیدیوم بروماید آشکار گردید. اندازه‌ی ابعاد DNA به دست آمده برابر با ۱۹۰ جفت باز و ۴۹۰ جفت باز به ترتیب برای آلل Deletion و آلل Insertion بود.

در PCR هنگامی که آلل Insertion در کنار آلل Deletion قرار می گیرد، تکثیر آلل Deletion غالب است (۲۱). PCR دوم به منظور اطمینان از صحت ژنوتیپ DD مشاهده‌شده صورت گرفت. به این منظور کلیه‌ی نمونه‌هایی که در مرحله‌ی اول ژنوتیپ DD را نشان داده بودند، تحت PCR دوم قرار گرفتند. مخلوط واکنش در PCR دوم همانند PCR اول بود، با این تفاوت که پرایمرهای به کار رفته به طور اختصاصی با قطعه‌ی Insertion مکمل شدند. توالی پرایمرها به کار رفته شامل:

5’-TGGGACCACAGCGCCCGCCACTAC-3′ و

5’-TCGCCAGCCCTCCCATGCCCATAA-3’

(به ترتیب پرایمر جلو برنده و پرایمر معکوس) بود. مراحل PCR به این شرح انجام گردید، ابتدا مخلوط واکنشی به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت، سپس وارد یک چرخه ی ۳ قسمتی به ترتیب شامل ۳۰ ثانیه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۶۷ درجه‌ی سانتی‌گراد و ۲ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد، گردید. این چرخه ۳۰ مرتبه تکرار شد. در انتها نیز مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد قرار گرفت. به منظور ارزیابی صحت PCR دوم شاهد مثبت با استفاده از نمونه‌هایی که ژنوتیپ II یا ID را در مرحله‌ی اول نشان داده بودند، تهیه گردید. وجود قطعه‌ی ۳۳۵ جفت باز بر روی ژل آگارز ۱ درصد نشان‌دهنده‌ی حضور آلل Insertion بود. بدین معنا که با وجود حضور آلل Insertion در نمونه‌ی تحت بررسی ولی به علت مجاورت آن در کنار آلل Deletion مورد تکثیر قرار نگرفته بود. در صورت مشاهده‌ی این قطعه‌ی ژنوتیپ نمونه‌ی تحت بررسی از DD به ID تغییر پیدا کرد.

به منظور تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده گردید، داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار یا درصد ذکر گردیدند. آزمون‌های آماری χ^2 و ANOVA بر روی داده‌ها انجام شد و $P < ۰/۰۵$ از لحاظ آماری اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

مشخصات بالینی جمعیت مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. در مجموع ۱۰۲ بیمار مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۱۸ بیمار زن و ۸۴ بیمار مرد بودند.

میانگین (± انحراف معیار) زمان سپری شده از عمل CABG در این بیماران ۳۸/۳۶ ± ۱۲۸/۷ ماه بود. ۴۲/۱۲ درصد از گرافت‌های وریدی تحت بررسی دارای انسداد کامل، ۲۶ درصد دارای انسداد نسبی و ۳۱/۸۸ درصد فاقد ضایعه‌ی انسدادی بودند.

فراوانی ژنوتیپ ها و آلل های تحت بررسی در جدول ۲ آمده است. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها از تعادل Hardy-Weinberg پیروی می‌کرد.

www.mui.ac.ir

طبقه‌بندی گرافت‌های وریدی بر اساس شدت ضایعه‌ی انسدادی، تعداد ماه‌های سپری شده‌ی بعد از CABG، تعداد گرافت‌های وریدی و تعداد عوامل خطر CAD به تفکیک ژنوتیپ در جدول ۳ آورده شده است.

جدول ۱. مشخصات دموگرافیک و وضعیت بالینی جمعیت مورد مطالعه

متغیر مورد بررسی	
سن (سال)*	۶۴/۸۹ ± ۸/۵۴
شاخص توده‌ی بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)*	۲۶/۵۲ ± ۳/۸۶
ابتلای بیماران به فشار خون**	۶۰/۸
ابتلای بیماران ابتلا به هیپرکلسترولمی**	۹۳/۱
ابتلای بیماران ابتلا به دیابت**	۲۹/۴
مصرف سیگار**	۱۶/۷
وجود سابقه‌ی مثبت خانوادگی**	۶۶/۷
تعداد عوامل خطر CAD*	۲/۶۷ ± ۰/۹۶
تعداد گرافت‌های وریدی تحت بررسی	۲۵۴
تعداد گرافت‌های وریدی با انسداد کامل	۱۰۷
تعداد گرافت‌های وریدی با انسداد نسبی	۶۶
تعداد گرافت‌های وریدی فاقد ضایعه‌ی انسدادی	۸۱
تعداد گرافت‌های وریدی در هر بیمار*	۲/۴۹ ± ۰/۸۹
زمان سپری‌شده از CABG (ماه)*	۱۲۸/۷ ± ۳۸/۳۶

*: میانگین ± انحراف معیار **: درصد

CAD: Coronary artery disease
CABG: Coronary artery bypass graft

جدول ۲. توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها در جمعیت مورد مطالعه‌ی پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE

ژنوتیپ	تعداد	آلل	فراوانی
II	۱۴	D	۰/۵۵
ID	۶۴	I	۰/۴۵
DD	۲۴		

I/D: Insertion/Deletion
ACE: Angiotensin converting enzyme

بر اساس جدول ۳ بین گروه‌های ژنوتیپی از لحاظ تعداد گرافت‌های وریدی با انسداد کامل و انسداد نسبی و فاقد ضایعه ی انسدادی تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری وجود نداشت. هر چند از لحاظ آماری بین گروه‌های ژنوتیپی از نظر تعداد ماه‌های سپری‌شده‌ی بعد از CABG نیز تفاوتی وجود نداشت، ولی مقدار P به دست‌آمده در آستانه‌ی معنی‌دار شدن بود (P = ۰/۰۶). نتایج به دست‌آمده نشان می‌دهد که بیماران با گروه ژنوتیپی II در زمان کوتاه تری دچار انسداد در گرافت‌های وریدی خود می‌شوند؛ یعنی احتمال دارد که ژنوتیپ II روند انسداد آترواسکلروتیک در گرافت‌های وریدی را شدت بخشد.

جدول ۳. مقایسه‌ی شاخص‌های بالینی به تفکیک گروه‌های ژنوتیپی

پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE	II	ID	DD	مقدار P
تعداد گرافت‌های وریدی با انسداد کامل	۱/۲۹ ± ۰/۹۹	۱/۰۳ ± ۰/۸۹	۰/۹۰ ± ۱/۱۹	۰/۶۰
تعداد گرافت‌های وریدی دارای ضایعه‌ی انسدادی	۰/۵ ± ۰/۷۶	۰/۶۶ ± ۰/۶۹	۰/۷۱ ± ۰/۹۰	۰/۷۰
تعداد گرافت‌های وریدی فاقد ضایعه‌ی انسدادی	۰/۵ ± ۰/۶۵	۰/۷۵ ± ۰/۸۳	۱/۰۴ ± ۱/۱۶	۰/۱۸
تعداد گرافت‌های وریدی در هر بیمار	۲/۲۹ ± ۰/۸۲	۲/۵۴ ± ۰/۸۳	۲/۷۱ ± ۰/۹۹	۰/۳۰
تعداد ماه‌های سپری شده بعد از CABG	۱۱۲/۰۷ ± ۳۲/۴۶	۱۳۵/۲ ± ۳۸/۳۳	۱۲۱/۰۴ ± ۳۸/۶۷	۰/۰۶
تعداد عوامل خطر CAD	۲/۳۶ ± ۰/۷۴	۲/۷۳ ± ۱/۰۴	۲/۶۷ ± ۰/۸۶	۰/۴۲

کلیه‌ی داده‌ها در این جدول به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

I/D: Insertion/Deletion ACE: Angiotensin converting enzyme CABG: Coronary artery bypass graft
CAD: Coronary artery disease

www.mui.ac.ir

بحث

نتایج حاصل از مطالعه‌ی ما نشان داد که بین پلی مورفیسم I/D در ژن ACE و انسداد گرافت های وریدی در طولانی مدت بعد از CABG ارتباط معنی‌داری از لحاظ آماری وجود نداشت. هر چند بین گروه‌های ژنوتیپی از لحاظ تعداد ماه‌های سپری‌شده‌ی بعد از عمل نیز تفاوت آماری معنی داری مشاهده نگردید، ولی از آن جایی که مقدار P به دست‌آمده در این قسمت در آستانه ی معنی دار شدن قرار داشت، به نظر می‌رسد ممکن است گروه‌های ژنوتیپی ناشی از این پلی مورفیسم بر سرعت پیشرفت آترواسکلروز در گرافت های وریدی مؤثر باشند؛ به طوری که بیماران با گروه ژنوتیپی II در زمان کوتاه تری تعداد برابر از گرافت های وریدی با انسداد کامل را دارا بودند. در ادامه به مطالعاتی که در این زمینه انجام گرفته است، اشاره خواهد شد.

مطالعه‌ای که توسط Ortlepp و همکاران بر روی ۱۰۱ بیمار ساکن در آلمان صورت گرفت، نشان داد که این پلی‌مورفیسم بر روی شدت آترواسکلروز گرافت‌های وریدی اثر ندارد (۲۲). در نقطه‌ی مقابل مطالعه‌ای که توسط Dayi و همکاران بر روی بیماران ترکیه (با حجم نمونه‌ی ۸۴ بیمار) انجام پذیرفت، ژنوتیپ DD را به عنوان عامل اثرگذار در انسداد کامل گرافت‌های وریدی در نظر گرفت. آن‌ها بیان کردند که تعداد گرافت‌های وریدی با انسداد کامل در گروه ژنوتیپی DD بیشتر است (۲۳). در صورتی که نتایج مطالعه‌ی ما نشان داد که بین گروه‌های ژنوتیپی از نظر تعداد گرافت های وریدی با انسداد کامل تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری وجود نداشت.

مطالعه‌ی دیگری که در قالب هم‌گروهی توسط Volzke و همکاران بر روی بیماران آلمانی انجام شد، بیانگر این موضوع بود که ژنوتیپ DD میزان مرگ و میر و عوارض قلبی- عروقی را در میان مدت بعد از CABG افزایش می‌دهد (۲۴).

هر چند که در بسیاری از مطالعات ژنوتیپ DD به عنوان عامل خطر بیماری‌های قلبی- عروقی معرفی شده است، ولی نتایجی حاکی از نقش ژنوتیپ II به عنوان عامل اثرگذار بر روند بیماری‌های قلبی- عروقی نیز وجود دارد.

مطالعه‌ای که توسط Zee و همکاران بر روی بیماران مبتلا به فشار خون ساکن در استرالیا انجام گرفت، نشان داد که آلل Insertion در ابتلا به فشار خون مؤثر است (۲۵). همچنین مطالعه‌ی Ismail و همکاران نشان داد ژنوتیپ II در ابتلا به فشار خون در افراد ۴۰-۲۰ ساله‌ی پاکستانی مؤثر می‌باشد (۲۶). ژنوتیپ II همچنین در ابتلا به فشار خون در جمعیت بیماران ساکن در شمال هند اثرگذار بود (۲۷).

نتایج متناقض در رابطه با نقش پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE بر روی بیماری‌های قلبی- عروقی در جمعیت ایرانی نیز مشاهده شده است. در حالی که مطالعه‌ی انجام‌شده بر روی جمعیت بیماران ساکن در کرمانشاه حضور آلل D را به عنوان عامل تشدیدکننده در شروع زودرس CAD ذکر نموده است (۲۸)، ولی شفیعی و همکاران نتایجی متفاوت را بیان کردند. آن‌ها نشان دادند که ژنوتیپ DD خطر ابتلا به CAD را افزایش نمی‌دهد، خود آن‌ها علت این نتیجه را به عدم یکنواختی نژادی جمعیت تحت مطالعه نسبت دادند، زیرا بیماران مورد مطالعه در این طرح از بین افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان شهید رجایی تهران انتخاب شده بودند (۲۹).

علاوه بر ژنتیک متفاوت در نقاط مختلف ایران که سبب تعامل متفاوت این پلی‌مورفیسم می‌گردد، انواع

www.mui.ac.ir

مختلف بیماری‌های قلبی- عروقی نیز به گونه‌ای مختلف تحت تأثیر این پلی‌مورفیسم قرار می‌گیرند. به طور مثال مطالعه‌ای که توسط نیک ضمیر و همکاران صورت گرفت، نشان داد که ژنوتیپ DD در ابتلا به فشار خون در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مؤثر است (۳۰)؛ در حالی که مطالعه‌ای دیگر توسط نخجوانی و همکاران بر روی همین دسته از بیماران انجام پذیرفت، به عدم ارتباط این پلی‌مورفیسم در ابتلا به سندرم متابولیک اشاره داشت (۳۱).

این طور به نظر می‌رسد که تعاملات متفاوت پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE و بیماری‌های قلبی- عروقی به جمیعت تحت بررسی و نوع بیماری بستگی دارد.

از محدودیت های این مطالعه می توان به حجم کم نمونه و عدم اندازه‌گیری سطح سرمی ACE اشاره کرد.

در پایان، با وجود عدم مشاهده‌ی ارتباط پلی‌مورفیسم I/D در ژن ACE و انسداد گرافت‌های وریدی در بلند مدت بعد از CABG، به نظر می‌رسد ژنوتیپ II ممکن است در افزایش سرعت روند آترواسکلروز در گرافت‌های وریدی مؤثر باشد. از آن جایی که تفاوت‌های نژادی و جغرافیایی باعث تعاملات مختلف این پلی‌مورفیسم و بیماری‌های قلبی- عروقی می‌گردد، نیاز به انجام مطالعات بیشتر در این زمینه احساس می‌شود.

بحث

بدینوسیله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به ویژه استاد محترم جناب آقاب دکتر پیمان ادیبی به جهت تسهیل تصویب و تأمین منابع، تقدیر و تشکر می‌گردد. نویسندگان مایلند از سرکار خانم فاطمه مؤذن کارشناس ارجمند پژوهشی آزمایشگاه تحقیقاتی گروه بیوتکنولوژی دارویی نیز جهت همکاری ویژه در انجام مراحل آزمایشگاهی این طرح تحقیقاتی تشکر نمایند.

References

1. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. Circulation 2005; 111(25): 3481-8.
2. Reddy KS. Cardiovascular disease in non-Western countries. N Engl J Med 2004; 350(24): 2438-40.
3. Okrainec K, Banerjee DK, Eisenberg MJ. Coronary artery disease in the developing world. Am Heart J 2004; 148(1): 7-15.
4. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. Lancet 2004; 364(9438): 937-52.
5. Bonow RO, Mann DL, Zipes DP, Libby P. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 9th ed. Philadelphia, PA: Saunders; 2011.
6. Serruys PW, Morice MC, Kappetein AP, Colombo A, Holmes DR, Mack MJ, et al. Percutaneous coronary intervention versus coronary-artery bypass grafting for severe coronary artery disease. N Engl J Med 2009; 360(10): 961-72.
7. Hlatky MA, Boothroyd DB, Bravata DM, Boersma E, Booth J, Brooks MM, et al. Coronary artery bypass surgery compared with percutaneous coronary interventions for multivessel disease: a collaborative analysis of individual patient data from ten randomised trials. Lancet 2009; 373(9670): 1190-7.
8. Daemen J, Boersma E, Flather M, Booth J, Stables R, Rodriguez A, et al. Long-term safety and efficacy of percutaneous coronary intervention with stenting and coronary artery bypass surgery for multivessel coronary artery disease: a meta-analysis with 5-year patient-level data from the ARTS, ERACI-II, MASS-II, and SoS trials. Circulation 2008; 118(11): 1146-54.
9. Sabik JF, III. Understanding saphenous vein graft patency. Circulation 2011; 124(3): 273-5.
10. Desai ND, Cohen EA, Naylor CD, Fremes SE. A randomized comparison of radial-artery and saphenous-vein coronary bypass grafts. N Engl J

www.mui.ac.ir

Med 2004; 351(22): 2302-9.
11. Sabik JF, III, Lytle BW, Blackstone EH, Houghtaling PL, Cosgrove DM. Comparison of saphenous vein and internal thoracic artery graft patency by coronary system. Ann Thorac Surg 2005; 79(2): 544-51.
12. Goldman S, Zadina K, Moritz T, Ovitt T, Sethi G, Copeland JG, et al. Long-term patency of saphenous vein and left internal mammary artery grafts after coronary artery bypass surgery: results from a Department of Veterans Affairs Cooperative Study. J Am Coll Cardiol 2004; 44(11): 2149-56.
13. Parang P, Arora R. Coronary vein graft disease: pathogenesis and prevention. Can J Cardiol 2009; 25(2): e57-e62.
14. Roy H, Bhardwaj S, Yla-Herttuala S. Molecular genetics of atherosclerosis. Hum Genet 2009; 125(5-6): 467-91.
15. Arnett DK, Baird AE, Barkley RA, Basson CT, Boerwinkle E, Ganesh SK, et al. Relevance of genetics and genomics for prevention and treatment of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention, the Stroke Council, and the Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Group. Circulation 2007; 115(22): 2878-901.
16. Sayed-Tabatabaei FA, Oostra BA, Isaacs A, van Duijn CM, Witteman JC. ACE polymorphisms. Circ Res 2006; 98(9): 1123-33.
17. Schmieder RE, Hilgers KF, Schlaich MP, Schmidt BM. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk. Lancet 2007; 369(9568): 1208-19.
18. Marchesi C, Paradis P, Schiffrin EL. Role of the renin-angiotensin system in vascular inflammation. Trends Pharmacol Sci 2008; 29(7): 367-74.
19. Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. Am J Physiol Cell Physiol 2007; 292(1): C82-C97.
20. Sata M, Fukuda D. Crucial role of renin-angiotensin system in the pathogenesis of atherosclerosis. J Med Invest 2010; 57(1-2): 12-25.
21. Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. PCR Methods Appl 1993; 3(2): 120-1.
22. Ortlepp JR, Janssens U, Bleckmann F, Lauscher J, Merkelbach-Bruse S, Hanrath P, et al. A chymase gene variant is associated with atherosclerosis in venous coronary artery bypass grafts. Coron Artery Dis 2001; 12(6): 493-7.
23. Dayi SU, Tartan Z, Terzi S, Kasikcioglu H, Uyarel H, Orhan G, et al. Influence of angiotensin converting enzyme insertion/deletion polymorphism on long-term total graft occlusion after coronary artery bypass surgery. Heart Surg Forum 2005; 8(5): E373-E377.
24. Volzke H, Engel J, Kleine V, Schwahn C, Dahm JB, Eckel L, et al. Angiotensin I-converting enzyme insertion/deletion polymorphism and cardiac mortality and morbidity after coronary artery bypass graft surgery. Chest 2002; 122(1): 31-6.
25. Zee RY, Lou YK, Griffiths LR, Morris BJ. Association of a polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene with essential hypertension. Biochem Biophys Res Commun 1992; 184(1): 9-15.
26. Ismail M, Akhtar N, Nasir M, Firasat S, Ayub Q, Khaliq S. 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.
27. Srivastava K, Sundriyal R, Meena PC, Bhatia J, Narang R, Saluja D. Association of angiotensin converting enzyme (insertion/deletion) gene polymorphism with essential hypertension in northern Indian subjects. Genet Test Mol Biomarkers 2012; 16(3): 174-7.
28. Vaisi-Raygani A, Ghaneialvar H, Rahimi Z, Nomani H, Saidi M, Bahrehmand F, et al. The angiotensin converting enzyme D allele is an independent risk factor for early onset coronary artery disease. Clin Biochem 2010; 43(15): 1189-94.
29. Shafiee SM, Firoozrai M, Salimi S, Zand H, Hesabi B, Mohebbi A. Angiotensin converting enzyme DD genotype not associated with increased risk of coronary artery disease in the Iranian population. Pathophysiology 2010; 17(3): 163-7.
30. Nikzamir A, Nakhjavani M, Golmohamadi T, Dibai L. Association of angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism with metabolic syndrome in Iranians with type 2 diabetes mellitus. Arch Iran Med 2008; 11(1): 3-9.
31. Nakhjavani M, Esfahanian F, Jahanshahi A, Esteghamati A, Nikzamir AR, Rashidi A, et al. The relationship between the insertion/deletion polymorphism of the ACE gene and hypertension in Iranian patients with type 2 diabetes. Nephrol Dial Transplant 2007; 22(9): 2549-53.

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol. 30, No. 209, 3rd week, December 2012 Received: 8.7.2012 Accepted: 11.10.2012

Angiotensin Converting Enzyme Insertion/Deletion Polymorphism and Occlusion of Vein Grafts in Long-term Post-CABG

Neda Zeinali[1], Mohammad Hashemi MD[2], Mohsen Mirmohammad Sadeghi MD[3], Hamid Mirmohammad Sadeghi PhD[4], Ali Mohammad Sabzghabaee Pharm D[5]

Abstract

Background: The relation between angiotensin converting enzyme (ACE) insertion/deletion (I/D) polymorphism and cardiovascular diseases was reported previously but the role of this polymorphism and the occlusion of vein grafts in long-term post coronary artery bypass graft (CABG) surgery still has remained controversial. The aim of the present study was to investigate any probable relationship between ACE I/D polymorphism and the atherosclerotic occlusion of vein grafts.

Methods: Patients who undergone CABG surgery more than five years ago, participated in this cross-sectional study. Occlusion of vein graft was determined by angiography. The ACE I/D polymorphism was detected by polymerase chain reaction (PCR) based restriction analysis.

Findings: A total of 102 patients (84 males) were enrolled to the study. The frequency distribution of DD, ID, and II polymorphisms were 23.6%, 62.7%, and 13.7%, respectively. There were no differences among genotypic groups regarding the number of occluded, diseased, and atherosclerosis-free vein grafts (P = 0.6, 0.7, and 0.18, respectively). Patients with II genotype had the same number of completely occluded vein grafts in a marginally significant shorter time after CABG (P = 0.06) compared with the other groups.

Conclusion: Although the results of our study indicated no association of ACE I/D polymorphisms and the occlusion of vein grafts long-term post-CABG, ACE II genotype may accelerate the rate of occlusion in vein grafts.

Keywords: INDEL mutation, Angiotensin converting enzyme, Coronary artery bypass, Vascular graft occlusion

* This paper is derived from a Pharmacy doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

[1] Student of Pharmacy, Students' Research Committee, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, 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] Professor, Department of Pharmaceutical Biotechnology, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[5] Associate Professor, Isfahan Clinical Toxicology Research Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Corresponding Author: Ali Mohammad Sabzghabaee Pharm D, Email: sabzghaba@pharm.mui.ac.ir