

ارتباط مشکلات پس از عمل جراحی بای پاس عروق کرونر با پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۶ در بیماران ایرانی

یاسمن قائمی^۱، دکتر میر علی محمد سبزیقبایی^۲، دکتر محسن میر محمد صادقی^۳، دکتر محمد هاشمی^۴، دکتر بهرام سلیمانی^۵، دکتر حمید میر محمد صادقی^۶

خلاصه

مقدمه: پلی مورفیسم ژن اینترلوکین ۶ (IL6) به عنوان یک سایتوکاین مهم التهابی می‌تواند یکی از عوامل تأثیرگذار در بروز مشکلات پس از عمل جراحی بای پاس عروق کرونر (Coronary artery bypass graft یا CABG) باشد. این مطالعه با هدف بررسی پلی مورفیسم ژن IL6 174 G>C با بروز مشکلات پس از عمل در بیماران تحت CABG انجام گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی، نمونه‌ی خون تام از کلیه‌ی بیماران قلبی مراجعه کننده به بیمارستان سینای اصفهان جهت انجام CABG تهیه شد. ۵۰ بیمار دارای مشکلات پس از عمل (Postoperative complication یا POC) و ۴۸ بیمار فاقد این مشکلات (NPOC) در دو گروه از نظر سن و جنس همسان‌سازی شده، مورد مطالعه قرار گرفتند. اطلاعاتی چون سن، جنس، میزان خون‌ریزی بعد از عمل، مدت زمان ماندن در بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit یا ICU)، مدت زمان ونتیلاسیون و مدت زمان اینوتروپ بعد از عمل برای بیماران جمع‌آوری شد. آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از آزمون‌های آماری Student-t و χ^2 انجام شد.

یافته‌ها: ارتباط معنی‌داری بین پلی مورفیسم ژن IL6 و مشکلات پس از CABG وجود نداشت ($P = ۰/۱۲۶$)، ولی اختلاف دو ژنوتیپ GC و GG بین دو گروه مورد و شاهد معنی‌دار بود. برای ژنوتیپ GG $P = ۰/۰۵$ و برای ژنوتیپ GC $P = ۰/۰۳۵$ محاسبه شد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به دست آمده ژنوتیپ GG می‌تواند یکی از عوامل التهاب و مشکلات پس از عمل باشد. علت تفاوت مشاهده شده در برخی از بخش‌ها در مقایسه با سایر مطالعات مرتبط، ممکن است به علت کمبود نمونه و یا نژاد مورد مطالعه‌ی ما (نژاد ایرانی) بوده باشد.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم، ژن اینترلوکین ۶، مشکلات پس از جراحی، عمل جراحی بای پاس عروق کرونر.

مقدمه

بیماری‌های شریان کرونر (Coronary artery diseases) یا CAD) از جمله مهم‌ترین اشکال بیماری‌های قلبی می‌باشند که سبب انسداد شریان‌های خون‌رسان به ماهیچه‌ی قلب می‌گردند. آترواسکلروز و تشکیل پلاک

از علل عمده‌ی این انسداد می‌باشند (۱-۲).

عمل جراحی بای پاس عروق کرونر (CABG یا Coronary artery bypass graft) یکی از جراحی‌های مهم قلبی است. پس از این عمل، بیمار ممکن است دچار مشکلاتی چون خون‌ریزی غیرطبیعی (بیش از

^۱ دانشجوی دکترای داروسازی، کمیته‌ی تحقیقات دانشجویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۲ دانشیار، مرکز پژوهش‌های توکسیکولوژی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۳ استادیار، گروه جراحی قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۴ دانشیار، گروه بیماری‌های قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۵ دانشیار، گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد نجف آباد، اصفهان، ایران.

^۶ دانشیار، گروه بیوتکنولوژی دارویی، دانشکده‌ی داروسازی و علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

اثر هم به صورت موضعی و هم سیستمیک می‌باشد. اثر ضد التهاب IL6 توسط اثر مهارى آن روی TNF- α و IL1، همچنین با فعال کردن IL1ra و IL10 واسطه‌گری می‌شود. این سایتوکاین باعث تکثیر و تمایز لنفوسیت‌های B و T می‌گردد و در پاسخ فاز حاد کبدی مؤثر می‌باشد. این پاسخ شامل اثر بر پروتئین واکنش C (C-reactive protein یا CRP) و PAI-1 (Plasminogen activator inhibitor-1) و محصولات فیبرینوژنی آن است. به نظر می‌رسد این سایتوکاین که توسط ماهیچه‌های صاف عروقی ترشح می‌شود، ارتباط مستقیمی با بیماری‌های التهابی قلبی - عروقی داشته باشد. IL6 اندوتلیوم و لکوسیت دیواره‌ی عروقی را تحریک می‌کند. همچنین موجب تکثیر ماهیچه‌های صاف دیواره‌ی عروق می‌شود. همه‌ی این اعمال موجب رشد پلاک و ناپایداری در آترواسکلروز می‌شود (۱۰-۱۲).

با توجه به این که IL6 یک سایتوکاین التهابی بوده است و همچنین با عنایت به اثرات فیزیولوژیک آن که در بالا ذکر شد، به نظر می‌رسد که بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های کد کننده‌ی این واسطه با بروز مشکلات ثانویه‌ای که به دنبال CABG پیش می‌آید جهت پیش‌بینی آن‌ها قابل توجه باشد.

در رابطه با پلی‌مورفیسم IL6 و CABG مطالعات محدودی انجام شده است. Sanders و همکاران ارتباطی میان مشکلات پس از CABG و افزایش مقدار IL6 را نشان داده‌اند، ولی به ارتباط دقیقی بین این مشکلات و پلی‌مورفیسم این ژن دست نیافتند (۳)، در حالی که Podgoreanu و همکاران به رابطه‌ی این پلی‌مورفیسم و نکرورس ماهیچه‌ای شدید بعد از CABG پی بردند و به این نتیجه رسیدند که شاید این پلی‌مورفیسم شاخصی برای قبل از عمل جراحی قلب

۵۰۰ میلی لیتر (۳-۴)، نیاز به حمایت تنفسی بیش از حد طبیعی (بیش از ۱۲ ساعت) (۵، ۳)، آریتمی‌های بطنی (۶، ۳)، توقف طولانی در بخش مراقبت‌های ویژه (Intensive care unit یا ICU) (بیش از ۲ روز) و همچنین عفونت و التهابات بعد از عمل شود (۳). عوامل گوناگونی ممکن است در ایجاد این مشکلات درگیر باشند که مقدار بالای لیپوپروتئین a (۷)، سابقه‌ی قلبی سکتته‌ی قلبی، ابتلا به دیابت (۸-۹) و پلی‌مورفیسم عوامل التهابی از آن جمله هستند (۳).

در صورتی که این جراحی با موفقیت پایان نپذیرد، فرد می‌تواند دچار علایم التهابی گردد و به احتمال زیاد تغییر در میزان سایتوکاین‌های التهابی رخ می‌دهد. اینترلوکین ۱ (IL1)، اینترلوکین ۶ (IL6) و عامل نکروز بافتی آلفا (Tumor necrotizing factor- α یا TNF- α) سایتوکاین‌های التهابی هستند که می‌توانند در مشکلات قلبی از جمله علایم مشکل‌زای پس از CABG تأثیرگذار باشند.

از جمله مهم‌ترین این سایتوکاین‌ها، IL6 می‌باشد (۳-۲). IL6 توسط سلول‌های T و ماکروفاژها برای تحریک پاسخ ایمنی در برابر تروما و آسیب‌های بافتی ترشح می‌شود. همچنین این سایتوکاین برای مقاومت نسبت به پاتوژن‌های خارجی مانند استرپتوکوک نومونیا (Streptococcus pneumonia) ترشح می‌گردد که این باکتری خود یکی از عوامل پریکاردیت می‌باشد. ترشح این سایتوکاین به دنبال آسیب‌هایی که در اثر عوامل خارجی، جراحی‌ها و عفونت‌ها به بافت قلب وارد می‌شود، افزایش می‌یابد که این خود می‌تواند رابطه‌ی آن با CAD را نشان دهد (۱۱-۱۰).

اثر فیزیولوژیک و پاتوفیزیولوژیک IL6 هم می‌تواند در جهت افزایش التهاب و هم کاهش آن باشد، که این

(بیشتر از ۳۸ درجه‌ی سانتی‌گراد)، نقایص نورولوژیک، دیس ریتمی‌های و نتریکولار که نیاز به مداخله‌ی درمانی شامل استفاده از داروهای آنتی‌آریتمی و شوک دارند، بودند. اطلاعات آنژیوگرافی شامل درصد گرفتگی عروق، سن، جنس، سابقه‌ی ابتلا به دیابت در فرد یا خویشاوندان درجه‌ی یک و دو، فشار خون سیستولی و دیاستولی، سیگار کشیدن، بروز مرگ بعد از عمل جراحی و قد و وزن برای کلیه‌ی بیماران جمع‌آوری شد. لازم به ذکر می‌باشد که به دلیل معمول بودن فیبریلاسیون دهلیزها [Atrial fibrillation یا AF] پس از جراحی‌های قلبی (۱۳) [این عارضه به عنوان عارضه‌ی پس از عمل در نظر گرفته نشد.

۳ میلی‌لیتر خون تام بیماران در لوله‌های نمونه‌گیری مخصوص حاوی EDTA (اتیلن دی آمین تتراستات) ریخته و تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

از کلیه بیماران به صورت آگاهانه رضایت‌نامه اخذ شد. روش انجام کار این مطالعه به تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های انسانی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید.

برای استخراج DNA از سلول‌های لکوسیت از کیت استخراجی DNA، که از شرکت Roche (آلمان) تهیه شده بود، استفاده گردید. ابتدا تمام وسایل مورد نیاز شامل سر سمپلرهای آبی و زرد، راک‌ها، میکروتیوب‌های ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌لیتر در اتوکلاو استریل شده و تا زمان استفاده در فور نگهداری شدند. نمونه‌ی خونی که در فریزر بود، بیرون آورده شد تا در دمای آزمایشگاه به آرامی ذوب شود.

۲۰۰ میکرولیتر از خون به آرامی با سمپلر آبی به داخل تیوب ۱/۵ میلی‌لیتری انتقال داده شد و به آن ۲۰۰ میکرولیتر بایندینگ بافر (Green cap) و ۴۰ میکرولیتر

برای افراد با خطر بالا و یک استراتژی جدید برای محافظت از قلب باشد (۹).

بنابراین با توجه به موارد اشاره شده فوق و تفاوت در نتایج به دست آمده و همچنین به علت محدودیت مطالعات در این زمینه و میزان بالای مرگ و میر ناشی از مشکلات پس از CABG و نقش احتمالی واسطه‌های التهابی به خصوص IL6، تصمیم گرفتیم تا ارتباط احتمال بروز مشکلات پس از عمل را با تفاوت‌های ژنوتیپی بیماران از نظر ژن کدکننده‌ی IL6 بررسی نماییم.

روش‌ها

در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی نمونه‌ی خون تام از کلیه‌ی بیماران قلبی مراجعه کننده به بیمارستان سینا در شهر اصفهان جهت انجام CABG، از مهر ماه ۱۳۸۹ لغایت خرداد ماه ۱۳۹۰، تهیه شد. نمونه‌ها از دو گروه ۵۰ بیمار دارای مشکلات پس از عمل (POC یا Postoperative complication) و ۴۸ بیمار فاقد این مشکلات (NPOC) گرفته شد. از کلیه‌ی بیماران برای شرکت در مطالعه رضایت‌نامه اخذ شد. این مطالعه به تأیید کمیته‌ی اخلاق در پژوهش‌های انسانی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان رسید.

بررسی‌های پس از جراحی روزانه تا زمان مرخصی بیمار از بیمارستان برای ثبت عوارض پس از CABG جهت شناسایی گروه POC انجام گرفت. این مشکلات شامل خون‌ریزی بعد از عمل (بیشتر از ۵۰۰ میلی‌لیتر)، ونتیلاسیون بیشتر از ۱۲ ساعت، حمایت Inotropic بیشتر از ۲۴ ساعت، طولانی شدن مدت ماندن در ICU (بیشتر از ۲ روز)، نارسایی کلیوی و نیاز به هموفیلتراسیون، عفونت‌ها (جراحی و زخم‌های تنفسی و ادراری) که نیاز به درمان با آنتی‌بیوتیک‌ها دارند، تب

کردن، DNA استخراج شده به صورت محلول در Elusion buffer به دست آمد. پس از استخراج، ۵ میکرولیتر از این محلول در ژل ۰/۸ درصد آگارز در تانک الکتروفورز کاشته و توسط اتیدیوم بروماید مشاهده گردید تا از صحت انجام استخراج DNA اطمینان حاصل شود.

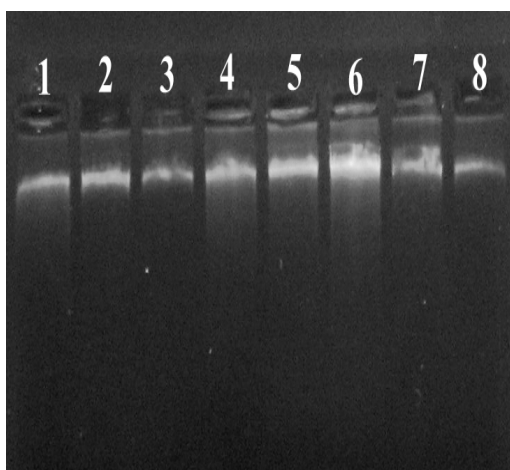
پرایمر به کار رفته در واکنش PCR (Polymerase chain reaction) پس از بررسی مقالات معتبر (۱۴، ۲) سفارش داده شد. طول قطعه‌ی تکثیر شده توسط این پرایمر ۱۹۸ bp بود و شامل ۲ قطعه‌ی Forward و Reverse بود. پرایمر جلوبرنده شامل 5'-TGACTTCAGCTTTACTCTTTGT-3' و همچنین پرایمر معکوس نیز شامل 5'-CTGATTGGAAACCTTATTAAG-3' بود.

با استفاده از ۲ میکرولیتر DNA ژنومی استخراج شده و مواد لازم جهت انجام PCR شامل ۱۶ میکرولیتر آب مقطر، ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (۱۰×)، ۲/۸ میکرولیتر منیزیم کلراید (۲۵ میکرومول)، ۰/۵ میکرولیتر NTP d، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر forward، ۰/۵ میکرولیتر پرایمر reverse و ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq polymerase DNA (که همگی این مواد از شرکت fermentas لهستان تهیه شده بودند) واکنش PCR انجام شد. مرحله‌ی Initial denaturation به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گرفت. سپس ۳۰ مرحله‌ی تکراری به این ترتیب انجام شد:

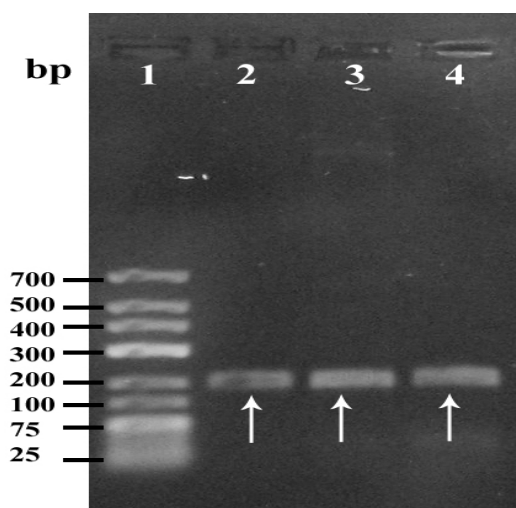
مرحله‌ی Denaturation به مدت ۱ دقیقه در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، مرحله‌ی Annealing به مدت ۲ دقیقه در ۵۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و مرحله‌ی Extention به مدت ۳ دقیقه در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد. در انتها مرحله‌ی Final extention به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام گردید (۱۵).

پروتئیناز K اضافه و با سمپلر به خوبی مخلوط شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه گردید (جهت جلوگیری از تخریب، پروتئیناز K قبل از استفاده روی یخ نگهداری شد). پس از پایان ۱۰ دقیقه به مخلوط حاصل از مرحله‌ی قبل ۱۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول اضافه و به خوبی مخلوط شد. در این مرحله مخلوط حاصل از مرحله‌ی قبل توسط سمپلر به یک High pur filter-collection tube منتقل و به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. فیلتر را در یک Collection tube جدید گذاشته، مواد Collection tube قبلی در ضایعات تخلیه گردید. به فیلتر ۵۰۰ میکرولیتر بافر مهارکننده Black cap (Inhibitor buffer) اضافه و به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. میکروتیوب فیلتر تعویض و فیلتر در یک میکروتیوب جدید قرار داده شد و به آن ۵۰۰ میکرولیتر بافر شستشو دهنده‌ی Blue cap (Wash buffer) اضافه کرده، به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. این مرحله ۲ بار تکرار گردید. پس از پایان دو مرحله‌ی شستشو، فیلتر را در Collection tube جدید گذاشته، به مدت ۱۰ ثانیه با حداکثر سرعت دستگاه سانتریفیوژ شد (۱۳۰۰ دور در دقیقه). فیلتر را از Collection tube خارج کرده، در داخل میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده، به آن ۵۰ میکرولیتر Elution buffer اضافه کرده، به مدت ۱ دقیقه در سانتریفیوژ با دور ۸۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. Elution buffer پیش از آن در بن‌ماری ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفته و به دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد رسیده بود. این عمل را برای ۳ بار بر روی فیلتر انجام داده، هر بار ۵۰ میکرولیتر از این بافر داغ (۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد) روی آن ریخته شد. پس از سانتریفیوژ

پس از استخراج، ۵ میکرولیتر از محصول PCR در ژل ۰/۸ درصد آگارز در تانک الکتروفورز کاشته شد و توسط اتیدیوم بروماید مشاهده گردید. برای انجام DNA digestion توسط آنزیم SfaNI بر اساس روش پیشنهادی شرکت Fermentas (لهستان) در یک تیوب ۱۰ میکرولیتری از محصول PCR را با ۱۸ میکرولیتر آب فاقد آنزیم نوکناز، ۲ میکرولیتر بافر Tango (۱۰x) و ۱ تا ۲ میکرولیتر آنزیم SfaNI (LweI) به خوبی توسط پیپت مخلوط کرده، سپس لوله در بن ماری در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۱ تا ۱۶ ساعت انکوبه گردید و در نهایت برای مشاهده نتایج از ژل پلی آکرلامید (۱۰ درصد) استفاده شد. پس از جمع‌آوری اطلاعات از جمله ژنوتیپ و سایر متغیرهای کمی و کیفی جدول متغیرها مربوط به هر دو گروه مورد و شاهد، این اطلاعات وارد نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ (version 11.5, SPSS Inc., Chicago, IL) شد. سپس اطلاعات توسط آزمون‌های آماری Student-t و χ^2 آنالیز شد و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.



شکل ۱. استخراج DNA ژنومی از نمونه‌های خون نمونه‌های موجود در چاهک‌های ۱ تا ۸ حاوی DNA گرفته شده از خون بیماران است که به صورت باندهای مشخص فاقد اسمیر هستند و نشانه‌ی سالم بودن نمونه‌ی DNA استخراج شده می‌باشند.

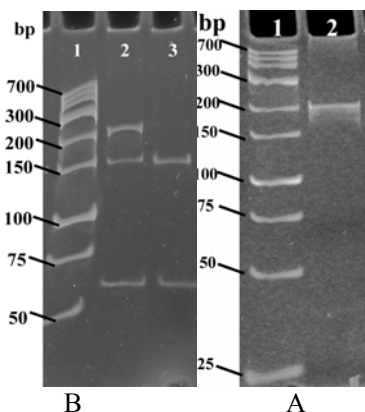


شکل ۲. مشاهده‌ی محصول PCR ژن IL6 در چاهک شماره ۱ DNA مارکر (Ladder) و در چاهک‌های ۲ تا ۴ قطعاً ۱۹۸ bp حاصل از واکنش PCR دیده می‌شوند.

یافته‌ها

تعداد ۹۸ بیمار در دو گروه مورد (۵۰ بیمار) و شاهد (۴۸ بیمار) مورد مطالعه قرار گرفتند. در این مطالعه در گروه مورد، ۳۴ مرد و ۱۶ زن و در گروه شاهد، ۴۰ مرد و ۸ زن مورد مطالعه قرار گرفتند. میانگین سنی افراد در گروه مورد $62/66 \pm 10/38$ و در گروه شاهد $57/94 \pm 8/51$ سال بود.

DNA ژنومی طبق روش ذکر شده از نمونه‌های خون فریز شده استخراج شد و پس از آن روی ژل ۰/۸ درصد آگارز مشاهده گردید. باندهای نشان داده شده در شکل ۱، استخراج موفق DNA را نشان می‌دهند.



شکل ۳. ژنوتیپ بیماران پس از برش نمونه‌ها توسط آنزیم SfaNI

شکل A: در چاهک ۱ Ladder، چاهک ۲ نمونه‌ی ژنوتیپ CC (آنزیم SfaNI قادر به برش ژن نبود و قطعه‌ای با طول ۱۹۸ bp مشاهده می‌شود).

شکل B: در چاهک ۱ Ladder، چاهک ۲ نمونه‌ی ژنوتیپ GC (این ژن دارای نوکلئوتید G و C است. آنزیم قادر به برش ژن در محل نوکلئوتید C نبود. بنابراین قطعه‌ی ۱۹۸ bp ایجاد شد. این آنزیم ژن را در نوکلئوتید G برش داده و قطعه‌ی ۱۴۰ و ۵۸ bp را ایجاد کرده است) و چاهک ۳ نمونه‌ی ژنوتیپ GG (در اثر برش آنزیم مذکور در محل نوکلئوتید ۱۹۸ bp، ۲ قطعه با طول‌های ۱۴۰ و ۵۸ bp ایجاد شد) دیده می‌شود.

آنزیم SfaNI، ژن IL6 را بر روی نوکلئوتید ۱۷۴ برش می‌دهد. در این واکنش موتاسیون 174 G > C بررسی شد (۱۴، ۲-۳). در شکل ۳-A و ۳-B مشاهده می‌شود که آنزیم SfaNI، قطعات ژنی تکثیر شده را در مکان‌هایی به این شرح برش داد: ژنوتیپ هموزیگوت CC: ۱۹۸ bp، ژنوتیپ هتروزیگوت GC: ۱۴۰ + ۱۹۸ bp و ژنوتیپ هموزیگوت GG: ۱۴۰ + ۵۸ bp. قطعات به دست آمده روی ژل آکرلامید ۱۰ درصد مشاهده گردید و ژنوتیپ بیماران در هر ۲ گروه مورد و شاهد مشخص شد (شکل ۳).

اطلاعات به دست آمده توسط آزمون آماری χ^2 ، میزان پلی مورفیسم IL6 را در ۲ گروه مورد و شاهد مقایسه کرد. نتایج به دست آمده در جدول ۱ نشان داده شده است.

بحث

CABG یکی از جراحی‌های مهم قلبی می‌باشد. پس از

جدول ۱. فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه مورد مطالعه

مقدار P	شاهد	مورد	
			ژنوتیپ‌های GC، GG و CC:
۰/۱۲۶	۱۷ (۳۵/۴)	۲۷ (۵۴)	GG •
	۲۷ (۵۶/۳)	۱۸ (۳۶)	GC •
	۴ (۸/۳)	۵ (۱۰)	CC •
			ژنوتیپ‌های GG:
< ۰/۰۵	۳۱ (۶۴/۶)	۲۳ (۴۶)	ژنوتیپ GC و CC •
	۱۷ (۳۵/۴)	۲۷ (۵۴)	ژنوتیپ GG •
			ژنوتیپ‌های GC:
< ۰/۰۳۵	۲۱ (۴۳/۸)	۳۲ (۶۴)	ژنوتیپ GC و GG •
	۲۷ (۵۶/۳)	۱۸ (۳۶)	ژنوتیپ GC •
			ژنوتیپ CC:
۰/۵۲۶	۴۴ (۹۱/۷)	۴۵ (۹۰)	ژنوتیپ GC و GG •
	۴ (۸/۳)	۵ (۱۰)	ژنوتیپ CC •

این عمل، بیمار ممکن است دچار مشکلاتی همچون خونریزی بعد از عمل بیش از ۵۰۰ میلی لیتر و نیاز به ونتیلاسیون بیش از ۱۲ ساعت شود (۳-۶). عوامل گوناگونی چون میزان بالای لیپوپروتئین a و سابقه ی سکتته ی قلبی در بیمار ممکن است در ایجاد این مشکلات درگیر باشند (۹، ۷، ۳). همان طور که گفته شد یکی از این عوامل سایتوکاین های التهابی هستند که از جمله مهم ترین این سایتوکاین ها، IL6 می باشد (۳-۲). در مقالات زیادی به ارتباط میان سطح سرمی این سایتوکاین و پلی مورفیسم ژن آن با بروز بیماری های قلبی عروقی چون انفارکتوس میوکارد، بای پاس کرونری-ریوی (Coronary pulmonary bypass) یا CPB و CABG اشاره شده است (۱۷-۱۶).

این مطالعه بر روی بیماران اصفهانی که تحت عمل CABG قرار گرفته بودند، در دو گروه مورد و شاهد صورت گرفت و برای اولین بار در ایران انجام شد. پس از انجام مطالعات آماری، تفاوت معنی داری بین جنس بیماران و قرار گرفتن آن ها در ۲ گروه مورد و شاهد وجود نداشت. پس می توان نتیجه گیری کرد که جنس بیماران عامل تعیین کننده ی مشکلات پس از عمل نبوده است.

اصلی ترین هدف این مطالعه که همان تعیین رابطه ی بین پلی مورفیسم ژنی IL6 با عوارض پس از CABG در بیماران بود، نیز مورد بررسی قرار گرفت که ارتباط معنی داری بین دو گروه دیده نشد ($P = 0/126$).

مطالعات بسیاری در جمعیت های متفاوت این نتیجه را تصدیق کردند. از جمله مطالعه ی انجام شده توسط Sanders و همکاران بود. در نهایت آن ها به ارتباط دقیقی در این مورد پی نبردند و تنها اعلام

کردند ارتباط معنی داری بین وقوع مشکلات پس از عمل و افزایش سطح سرمی پروتئین IL6 در این بیماران وجود دارد (۳).

مطالعه ی دیگر توسط Podgoreanu و همکاران انجام گرفت. در این مطالعه، به رابطه ی این پلی مورفیسم و نکروز ماهیچه ای شدید و سکتته ی قلبی بعد از CABG پی بردند و به این نتیجه رسیدند که شاید این پلی مورفیسم شاخصی برای بررسی قبل از عمل CABG در افراد در معرض خطر و یک استراتژی جدید برای محافظت از قلب باشد. همچنین ارتباط این پلی مورفیسم را با افزایش سطح سرمی IL6 در بیماران تأیید کردند (۹).

مطالعه ی دیگر توسط Georges و همکاران انجام گرفت. آن ها در نهایت به ارتباط میان این پلی مورفیسم و فراوانی بروز سکتته ی قلبی بعد از این عمل پی بردند و بیان کردند افرادی که دارای آلل C می باشند، بیشتر در گروه مورد قرار دارند. همچنین بیان کردند بیمارانی که دارای آلل C در ژن IL6 خود بودند، میزان کمتری از IL6 را ترشح می کنند (۱۸).

ما در این مطالعه علاوه بر بررسی رابطه ی بین پلی مورفیسم ژن IL6 و مشکلات پس از عمل، به بررسی اختلاف بیماران در ۲ گروه مورد و شاهد از نظر ۳ نوع ژنوتیپ مربوطه پرداختیم و به این نتیجه رسیدیم که بین ۲ گروه مورد و شاهد از نظر ژنوتیپ GG و همچنین از نظر ژنوتیپ GC اختلاف معنی داری وجود داشت، ولی این اختلاف در مورد ژنوتیپ CC وجود نداشت.

همان طور که گفته شد افرادی که دارای ژنوتیپ GG بودند نسبت به افرادی که دارای ژنوتیپ GC بودند، بیشتر در گروه مورد قرار داشتند. به صورت غیر

GC تفاوت وجود دارد. هم در مطالعه‌ی ما و هم در سایر مطالعات معتبر نشان داده شد که ژنوتیپ GG می‌تواند عامل التهاب و مشکلات پس از عمل باشد. علت تفاوت مشاهده شده در برخی از بخش‌ها در مقایسه با سایر مطالعات مرتبط، ممکن است به علت کمبود نمونه و یا نژاد مورد مطالعه‌ی ما (نژاد ایرانی) بوده باشد.

مستقیم می‌توان بیان کرد که بیماران با ژنوتیپ GG نسبت به بیماران با ژنوتیپ GC دارای فراوانی عوارض بیشتری خواهند بود.

در مجموع با وجود این که نتوانستیم ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم ژن $G > C$ IL6 174 و عوارض پس از عمل به دست آوریم، توانستیم نشان دهیم بین ۲ گروه مورد و شاهد از نظر ژنوتیپ GG و

References

1. Libby P, Braunwald E, Bonow RO, Zipes DP. Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine. 8th ed. Philadelphia: Saunders/Elsevier; 2008.
2. Banerjee I, Pandey U, Hasan OM, Parihar R, Tripathi V, Ganesh S. Association between inflammatory gene polymorphisms and coronary artery disease in an Indian population. *J Thromb Thrombolysis* 2009; 27(1): 88-94.
3. Sanders J, Hawe E, Brull DJ, Hubbart C, Lowe GD, Rumley A, et al. Higher IL-6 levels but not IL6 -174G>C or -572G>C genotype are associated with post-operative complication following coronary artery bypass graft (CABG) surgery. *Atherosclerosis* 2009; 204(1): 196-201.
4. Ueno M, Higashi A, Sakatai R. Rare bleeding complication of the radial artery conduit after coronary artery bypass grafting with endoscopic harvesting. *Ann Thorac Cardiovasc Surg* 2011; 17(2): 201-3.
5. Faritous ZS, Aghdaie N, Yazdani F, Azarfarin R, Dabbagh A. Perioperative risk factors for prolonged mechanical ventilation and tracheostomy in women undergoing coronary artery bypass graft with cardiopulmonary bypass. *Saudi journal of anaesthesia* 2011; 5(2): 167-9.
6. Tomaszuk-Kazberuk A, Lewczuk A, Sobkowicz B, Goscicka K, Kozuch M, Dobrzycki S, et al. Is contrast echocardiography safe and useful for the assessment of left ventricular function in the perioperative period after cardiac surgery? A pilot study. *Kardiol Pol* 2011; 69(7): 680-6.
7. Ezhov MV, Safarova MC, Afanas'eva OI, Il'ina LN, Liakishev AA, Pokrovskii SN. [High level of lipoprotein (a) as a predictor of poor long-term prognosis after coronary artery bypass surgery]. *Kardiologiya* 2011; 51(1): 18-22.
8. Matsuo Y, Kuwabara M, Tanaka-Totoribe N, Kanai T, Nakamura E, Gamoh S, et al. The defective protein level of myosin light chain phosphatase (MLCP) in the isolated saphenous vein, as a vascular conduit in coronary artery bypass grafting (CABG), harvested from patients with diabetes mellitus (DM). *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 412(2): 323-7.
9. Podgoreanu MV, White WD, Morris RW, Mathew JP, Stafford-Smith M, Welsby IJ, et al. Inflammatory gene polymorphisms and risk of postoperative myocardial infarction after cardiac surgery. *Circulation* 2006; 114(1 Suppl): I275-I281.
10. Olivieri F, Antonicelli R, Cardelli M, Marchegiani F, Cavallone L, Mocchegiani E, et al. Genetic polymorphisms of inflammatory cytokines and myocardial infarction in the elderly. *Mech Ageing Dev* 2006; 127(6): 552-9.
11. Male DK, Brostoff J, Roth DB, Roitt I. *Immunology*. 7th ed. Canada: Mosby Elsevier; 2006.
12. Abbas AK, Lichtman AH. *Basic Immunology: functions and disorders of the immune system*. Philadelphia, Pa: Saunders; 2006.
13. Ommen SR, Odell JA, Stanton MS. Atrial arrhythmias after cardiothoracic surgery. *N Engl J Med* 1997; 336(20): 1429-34.
14. Fernandez-Real JM, Broch M, Vendrell J, Richart C, Ricart W. Interleukin-6 gene polymorphism and lipid abnormalities in healthy subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2000; 85(3): 1334-9.
15. Moller SG, McPherson MJ. *PCR*. 2nd ed. Taylor & Francis; 2006.

16. Maitra A, Shanker J, Dash D, John S, Sannappa PR, Rao VS, et al. Polymorphisms in the IL6 gene in Asian Indian families with premature coronary artery disease--the Indian Atherosclerosis Research Study. *Thromb Haemost* 2008; 99(5): 944-50.
17. Sarecka-Hujar B, Zak I, Krauze J. Carrier-state of two or three polymorphic variants of MTHFR, IL-6 and ICAM1 genes increases the risk of coronary artery disease. *Kardiol Pol* 2008; 66(12): 1269-77.
18. Georges JL, Loukaci V, Poirier O, Evans A, Luc G, Arveiler D, et al. Interleukin-6 gene polymorphisms and susceptibility to myocardial infarction: the ECTIM study. *Etude Cas-Temoin de l'Infarctus du Myocarde. J Mol Med (Berl)* 2001; 79(5-6): 300-5.

Evaluation of the Association between Interleukin-6 Gene Polymorphism (IL6 174 G>C) with the Complications after the Coronary Artery Bypass Graft Surgery in Iranian Patients

Yasaman Ghaemi¹, Ali Mohammad Sabzghabae PharmD²,
Mohsen Mirmohammad Sadeghi MD³, Mohammad Hashemi MD⁴, Bahram Soleimani PhD⁵,
Hamid Mirmohammad Sadeghi PhD⁶

Abstract

Background: Interleukin-6 (IL6) gene polymorphism is an important inflammatory cytokine. It may play a major role in complications observed after CABG surgery. Therefore, the present study was designed to study the relationship between IL6 174G>C gene polymorphism and complications after CABG. The aim of this study was to investigate any probable relationship between IL6 174 G >C polymorphism and complications observed after CABG surgery.

Methods: In this case-control study, whole blood samples were obtained from all patients hospitalized for CABG surgery in Sina Hospital, Isfahan. Subject were divided into two groups of patients with (POC) or without (NPOC) complications. Information such as age, sex, degree of hemorrhage after the surgery, time spent in the intensive care unit (ICU), ventilation time, and inotropic support after the surgery was collected. Statistical analysis of the obtained data was performed using t-test and chi-square test.

Findings: We did not find a correlation between IL6 gene polymorphism and complications after CABG surgery (P = 0.126). However, a significant difference was observed. This difference for GG was P = 0.05 and for GC was P = 0.035 between two groups.

Conclusion: GG genotype may play a role for the inflammation and complications after CABG. Further studies with larger number of patients are recommended.

Keywords: Polymorphism, IL6 Gene, Post operative Complications, CABG.

¹ PharmD Candidate, Student Research Committee, School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

² Associate Professor, Isfahan Clinical Toxicology Research Center, 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 Associate Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

⁵ Associate Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Medicine, Najaf Abad Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

⁶ Associate Professor, Department of Medicinal Biotechnology, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.

Corresponding Author: Hamid Mirmohammad Sadeghi PhD, Email: h_sadeghi@pharm.mui.ac.ir