دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست- پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال بیستم، شماره ۵، صفحه ۴۲۵ - ۴۱۶ (آذر و دی ۱۳۹۶)

Iran South Med J 2017;20(5): 416-425

ارتباط پلی‌مورفیسم‌های c.*49T>C و c.-932 G>A ژن CYBA با بیماری عروق کرونر: یک مطالعه مورد- شاهدی در جمعیت مردم کاشان

طاهره مازوچی (PhD)[۱]، محمد کریمیان (PhD)[۱و۲*]، مجید مازوچی (MD)[۳]،
اباصلت حسین‌زاده کلاگر (PhD)[۲]

[۱] مرکز تحقیقات علوم تشریحی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
[۲] گروه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران
[۳] گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

(دریافت مقاله: ۹۵/۸/۸- پذیرش مقاله: ۹۵/۱۲/۲۳)

چکیده

زمینه: ژن CYBA (Cytochrome B-245 Alpha Chain; p22phox)، کد کننده زیر واحد اصلی آنزیم NADH/NADPH- اکسیداز است. این آنزیم در سلول‌های عضلات صاف دیواره رگ‌ها بیان می‌شود، که گونه‌های فعال اکسیژن را تولید می‌کنند. از سوی دیگر استرس اکسیداتیو در پاتوژنز بیماری عروق کرونر (Coronary Artery Disease; CAD) نقش اساسی دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های rs7195830 (c.*49T>C) و rs9932581(c.-930G>A) ژن CYBA، با بیماری عروق کرونر در یک جمعیت ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد- شاهدی، نمونه‌های خون سیتراته از ۱۸۰ فرد شامل ۸۵ بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونر و ۹۵ فرد سالم جمع‌آوری شدند. قطعات حاوی هریک از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی rs7195830 و rs9932581 ژن CYBA نمونه‌های DNAی استخراج شده، با واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR) تکثیر گردید. سپس ژنوتیپ آنها به روش Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) تعیین شد. آنالیز وابستگی ژنتیکی به‌وسیله آزمون رگرسیون لجستیک نیز بررسی شد.

یافته‌ها: آنالیز داده‌ها در مورد پلی‌مورفیسم c.-930G>A نشان داد که ارتباط معنی‌دار بین ژنوتیپ AA و ریسک ابتلا به CAD وجود دارد (p=۰/۰۴۱، ۹۵CI: ۱/۰۴-۷/۰۶ درصد، OR:۲/۷۱). همچنین آنالیز آللی نشان داد ارتباط معنی‌داری بین آلل A و ریسک ابتلا به CAD وجود دارد (p=۰/۰۲۹، CI:۱/۰۵-۲/۵۷ ۹۵ درصد، OR:۱/۶۵). این در حالی است که هیچ ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم c.*49T>C و ریسک ابتلا به CAD مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم c.-930G>A ممکن است در استعداد ابتلا به CAD نقش داشته باشد که می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر برای بررسی‌ها بیشتر توسط محققان مورد توجه قرار گیرد.

واژگان کلیدی: بیماری عروق کرونر، ژن CYBA، پلی‌مورفیسم ژنتیکی، کاشان

* کاشان، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، مرکز تحقیقات علوم تشریحی
Email: mdkarimian@gmail.com

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

مقدمه

بیماری عروق کرونر (Coronary Artery Disease; CAD) به عنوان رایج‌ترین فرم بیماری‌های قلبی و عروقی، یک بیماری چند عاملی با اتیولوژی پیچیده بوده که مجموعه‌ای از فاکتورهای محیطی و ژنتیکی در بروز آن نقش دارد (۱ و ۲). بنابراین، هنگام ارزیابی علت CAD علاوه بر ریسک فاکتورهای سنتی از جمله فشار خون، دیابت، چربی خون و سیگار کشیدن، استعداد ژنتیکی هم باید در نظر گرفته شود (۳). استرس اکسیداتیو، نقش مهمی در شروع و پیشرفت تصلب شرایین به عنوان پاتوژنز اولیه بیماری عروق کرونر بازی می‌کند (۴). تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در اثر عدم تعادل در سیستم‌های اکسیداتیو- آنتی اکسیداتیو، منجر به حوادث التهابی در سلول‌های ایمنی و اندوتلیال می‌شود (۵).

اکسیدازهای NADH/NADPH، مهم‌ترین آنزیم‌های درگیر در سیستم ایمنی ذاتی هستند که گونه‌های فعال اکسیژن (ROS، reactive oxygen species) را تولید می‌کنند. آنها اغلب در سلول‌های عضله صاف عروق (VSMC، vascular smooth muscle cells)، سلول‌های اندوتلیال و فاگوسیت‌ها بیان می‌شوند (۶). آنزیم NADH/NADPH- اکسیداز فاگوسیتیک یک فلاوپروتئین مرتبط با غشاء است که شامل دو زیر واحد غشایی اصلی (nox2) gp91phox و p22phox و سه پروتئین سیتوزولی p40phox، p47phox و p67phox می‌باشد (۷). سایر ایزوفرم‌های NOX، در سلول‌های تیروئید و کلون بیان می‌شوند و با زیر واحد p22phox جفت می‌شوند (۸). زیر واحد p22phox که جز اساسی برای عملکرد اکسیدازهای NADH/NADPH محسوب می‌شود به زنجیره سبک سیتوکروم b نوترفیل‌های انسانی یا CYBA (human neutrophil cytochrome b light chain) نیز معروف است (۹). سیستم NADPH- اکسیداز ممکن است در پاتوفیزیولوژی بیماری عروق کرونر دخیل باشد. این سیستم منبع غالب تولید ROS در سلول‌های عروقی است (۱۰). علاوه بر این، بیان p22phox در عروق کرونر آترواسکلروتیک انسان نسبت به شریان غیر آترواسکلروتیک بالاتر می‌باشد (۱۱).

ژن CYBA، روی بازوی بزرگ کروموزوم ۱۶ (16q24) قرار دارد و زیر واحد p22phox را کد می‌کند (۱۲). از میان انواع پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی گزارش شده مطالعات زیادی روی دو پلی‌مورفیسم rs4673 (c.214 T>C) و rs1049255 (c.*24G>A) و ارتباط آنها با بیماری عروق کرونر انجام شدند (۱۳ و ۱۴). هدف این مطالعه بررسی ارتباط دو پلی مورفیسم‌های ژن CYBA شامل: rs7195830 (c.*49T>C)، که روی ناحیه 3'UTR ژن قرار داد و پلی‌مورفیسم rs9932581 (c.-930G>A)، که در بالا دست ژن قرار دارد، با بیماری عروق کرونر، در یک جمعیت ایرانی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گروه بیمار و شاهد

در این مطالعه مورد شاهدی، ۱۸۰ نفر شامل ۸۵ بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونر (CAD) و ۹۵ فرد سالم با سن مشابه شرکت کردند. گروه بیمار از میان مبتلایان به CAD پذیرش شده در بخش کاردیولوژی بیمارستان شهید بهشتی کاشان (کاشان، ایران) در سال‌های ۱۳۹۳ و

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

۱۳۹۴ انتخاب شدند. همه افراد وارد شده به مطالعه، سن بالاتر از ۵۵ سال داشتند. بیماری عروق کرونر با مشخصه تنگی حداقل ۵۰ درصد در بیش از یک رگ کرونر با آنژیوگرافی تأیید شد. بیماران با سابقه کاردیوواسکولار، بیماری کلیوی، کبدی، دیابت ملیتوس، فشار خون، بدخیمی، علائم بالینی اختلال انعقادی، کلاژنوزیس و مسمومیت حاد (مانند آمفتامین و CO) از مطالعه خارج شدند. افراد گروه کنترل از میان مراجعان به بیمارستان شهید بهشتی کاشان جهت چکاپ و آزمایشات روتین، انتخاب شدند. معیارهای خروج از مطالعه برای افراد سالم عبارت بود از: نشانه‌های CHD (از قبیل تنگی نفس و درد قفسه سینه در حالت فعالیت و استراحت)، انفارکتوس میوکارد، دیابت، فشار خون و دیگر بیماری‌های ژنتیکی و خانوادگی. برخی از مشخصات بالینی گروه بیمار و کنترل در جدول ۱ ارایه شدند. در نهایت از هریک از افراد مورد مطالعه، ۲ سی‌سی خون در لوله‌های خونگیری سیتراته، جمع‌آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. فرم رضایت آگاهانه از هریک از افراد مورد مطالعه گرفته شد.

جدول ۱) مقایسه ویژگی‌های بالینی بین گروه کنترل و بیمار

متغیرها		بیمار (n=۸۵)	سالم (n=۹۵)	*p*-value
جنسیت	مرد	۴۵ (۵۲/۹۴٪)	۵۱ (۵۳/۶۸٪)	۰/۹۲۱
	زن	۴۰ (۴۷/۰۶٪)	۴۴ (۴۶/۳۲٪)	۰/۰۲۳
سیگاری	بله	۳۴ (۴۰/۰۰٪)	۲۳ (۲۴/۲۱٪)	
	خیر	۵۱ (۶۰/۰۰٪)	۷۲ (۷۵/۷۹٪)	
سن (سال)		۶۲/۳۷±۳/۲۱	۶۱/۶۸±۴/۲۸	۰/۲۲۷
BMI (Kg/m^2)		۲۶/۱۳±۲/۴۵	۲۴/۹۸±۲/۲۷	۰/۰۰۱
HDL (mg/dl)		۴۴/۱۳±۵/۰۴	۴۲/۶۷±۴/۰۴	۰/۰۳۳
LDL (mg/dl)		۱۱۸/۰۵±۱۸/۳۱	۱۱۴/۰۴±۱۲/۵۵	۰/۰۸۶
TG (mg/dl)		۱۳۹/۴۴±۲۶/۹۳	۱۳۳/۲۷±۲۸/۰۳	۰/۱۳۵
TC (mg/dl)		۱۴۳/۶۷±۲۵/۹۴	۱۴۱/۴۳±۲۳/۲۳	۰/۵۴۲

مقادیر داده‌های کمی به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده است.

BMI: Body mass index, HDL: High density lipoprotein, LDL: Low-density lipoprotein, TG: Triglycerides, TC: Total cholesterol

در این مطالعه، افراد پس از اخذ رضایت نامهٔ کتبی وارد مطالعه شدند. رضایت‌نامه شامل معرفی پژوهش، بیان مزایا و خطرات، راه حل برای جبران خطرات، روش نمونه‌گیری یا سایر خدمات، محرمانه بودن این مطالعه، پاسخگویی به پرسش‌ها و حق انصراف در خروج از مطالعه می‌باشد. بیمار با آگاهی کامل از موارد فوق رضایت خود را به عنوان یک فرد مورد مطالعه در پژوهش اعلام می‌دارد. کلیه اطلاعاتی که از بیمار گرفته می‌شود و نیز نام وی محرمانه باقی خواهد ماند و نتایج تحقیقات به صورت کلی و در قالب اطلاعات گروه مورد مطالعه منتشر می‌گردد و نتایج فردی در صورت نیاز بدون ذکر نام و مشخصات فردی عرضه خواهد گردید.

تعیین ژنوتیپ

ژنوم نمونه‌های خونی به وسیله کیت استخراج DNA (Bioneer Co. ،Korea)، استخراج شد. جهت تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های c.*49T>C و c.-930G>A از روش PCR-RFLP استفاده شد. به این منظور، ابتدا قطعات حاوی پلی‌مورفیسم‌های فوق به وسیله پرایمرهای اختصاصی و شرایط ارائه شده در جدول ۲ تکثیر شدند.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

جدول ۲) توالی پرایمرها و شرایط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز			
پلی‌مورفیسم (rs No.)	توالی پرایمر (’3→’5)	شرایط PCR	اندازه محصول(bp)
c.*49T>C (rs7195830)	5’-GTGCACCCACCTGCAATACA 5’-TGCTGAGAAGGAAGGCGATG	۳۰ سیکل شامل ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۵۷ درجه سانتی‌گراد و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد	۱۷۴
c.-930G>A (rs9932581)	5’-GGGGAATAAACCAGCATT 5’-GGCTCTGAACAGCCTGCC	۳۰ سیکل شامل ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد	۱۵۵

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در دستگاه ترمال سایکلر گرادیان اپندورف (Germany، Hamburg، Eppendorf Co.) و در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۵ میکرومولار از هریک از پرایمرهای رفت و برگشت، ۱ میلی‌مولار کلرید منیزیوم، ۱۰۰ میکرومولار مخلوط dNTP (شرکت فرمنتاز، آلمان)، ۱ واحد آنزیم Taq پلیمراز (شرکت فرمنتاز، آلمان) و ۵۰ نانوگرم از DNAی الگو انجام شد. حدود ۱۰ میکرولیتر (۰/۱ میکروگرم) از محصولات PCR حاوی پلی‌مورفیسم‌های c.*49T>C و c.-930G>A به ترتیب با ۵ واحد از آنزیم‌های محدودکننده NspI (شرکت فرمنتاز، آلمان) و Fnu4HI (شرکت فرمنتاز، آلمان) تیمار شدند (جدول ۳). ژنوتیپ نمونه‌ها به وسیله الکتروفورز ژل پلی‌اکریل آمید ۸ درصد تشخیص داده شد. همچنین ژل‌های پلی‌آکریل آمید با نیترات نقره به روش عمومی رنگ‌آمیزی شدند (۱۵).

جدول ۳) شرایط تیمار با آنزیم‌های محدودکننده				
پلی‌مورفیسم (rs No.)	آنزیم محدودکننده	ناحیه برش	محصولات هضم آنزیمی (bp)	
			ژنوتیپ وحشی	ژنوتیپ موتانت	هتروزیگوت
c.*49T>C (rs7195830)	*Nsp*I	RCATG^Y	۱۵۲ و ۲۲	۱۷۴	۱۷۴، ۱۵۲ و ۲۲
c.-930G>A (rs9932581)	*Fnu4HI*	GC^NGC	۱۳۵ و ۲۰	۱۵۵	۱۵۵، ۱۳۵ و ۲۰

آنالیز آماری

جهت آنالیز داده‌های کمی از آزمون T مستقل استفاده شد. متغیرهای کیفی جنسیت و وضعیت سیگاری بودن به‌وسیله تست کای مربع مقایسه شدند. تعادل هاردی–واینبرگ به وسیله تست مربع کای بررسی شدند. ارتباط بین واریانت‌های ژنتیکی c.*49T>C و c.-930G>A ژن CYBA با بیماری عروق کرونر با استفاده از آنالیز آماری رگرسیون لوجستیک و محاسبه OR بافاصله اطمینان ۹۵ درصد به‌وسیله نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ مورد بررسی قرار گرفت.

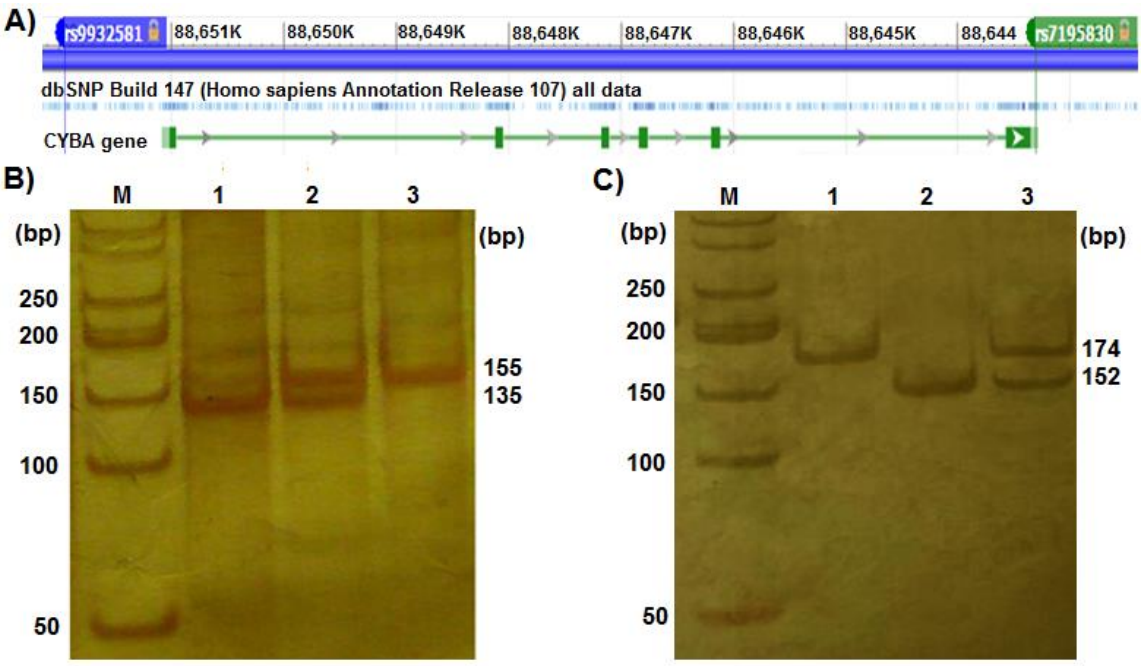
یافته‌ها

الگوی تعیین ژنوتیپ

بعد از الکتروفورز، ژنوم انسان یک باند اصلی با تحرک پایین روی ژل آگارز نشان داد. هنگامیکه ژنوم انسان به‌عنوان الگو در PCR استفاده شد، قطعات CYBA حاوی c.*49T>C و c.-930G>A به ترتیب با اندازه‌های ۱۷۴bp و ۱۵۵bp تولید شد. بعد از الکتروفورز محصولات دایجست شده پلی مورفیسم c.*49T>C، ژنوتیپ‌های TT، TC و CC به ترتیب دو (۱۵۲bp و ۲۲bp)، سه (۱۷۴bp،

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

۱۵۲bp و ۲۲bp) و یک (۱۷۴bp) باند روی ژل پلی‌اکریل آمید نشان دادند. اما در مورد پلی‌مورفیسم c.-930G>A، ژنوتیپ‌های GG، GA و AA به ترتیب دو (۱۳۵bp و ۲۰bp)، سه (۱۵۵bp، ۱۳۵bp و ۲۰bp) و یک (۱۵۵bp) باند روی ژل پلی اکریل آمید نشان دادند (شکل ۱).



شکل ۱) نقشه ژن *CYBA* و نتایج PCR-RFLP در ژل پلی آکریلامید ۸ درصد: نقشه ژنی *CYBA* انسانی که از پایگاه داده NCBI به دست آمد، حاوی ۶ اگزون و SNPهای متعدد می‌باشد و پلی‌مورفیسم‌های c.-930G>A و c.*49T>C به ترتیب روی پروموتر و 3'UTR ژن قرار گرفته‌اند (A)؛ آلگوی برش قطعه ۱۵۵bp حاوی پلی‌مورفیسم c.-930G>A تیمار شده با آنزیم *Fnu4HI* (لاین M: مارکر DNA، لاین ۱: ژنوتیپ GG، لاین ۲: ژنوتیپ GA، لاین ۳: ژنوتیپ AA) (B). آلگوی برش قطعه ۱۷۴bp حاوی پلی‌مورفیسم c.*49T>C تیمار شده با آنزیم *Nsp*I (لاین M: مارکر DNA، لاین ۱: ژنوتیپ CC، لاین ۲: ژنوتیپ TC، لاین ۳: ژنوتیپ CC) (B).

توزیع فراوانی آللی و ژنوتیپی

آنالیز آماری نشان داد که توزیع فراوانی ژنوتیپ ها برای پلی‌مورفیسم‌های c.-930G>A (χ^2=۰/۳۶۴ ،P=۰/۵۴۶) و c.*49T>C (χ^2=۳/۰۳۰ ،P=۰/۰۸۲) در گروه کنترل در تعادل هاردی واینبرگ می‌باشد. فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم‌های مذکور در گروه بیمار و کنترل در جدول ۴ نشان داده شده است.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

	جدول ۴) فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم‌های c.-930G>A و c.*49T>C در گروه سالم و بیمار				
	ژنوتیپ/آلل	تعداد(درصد)		(95% CI) OR	*p*-value
		سالم (n=۹۵)	بیمار (n=۸۵)		
A) فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم c.-930G>A	GG	(۵۴/۷۴٪)۵۲	(۴۲/۳۵٪)۳۶	-	-
	GA	(۳۶/۸۴٪)۳۵	(۴۰/۰۰٪)۳۴	(۰/۷۴-۲/۶۵)۱/۴۰	۰/۲۹۶
	AA	(۰۸/۴۲٪)۸	(۱۷/۶۵٪)۱۵	(۱/۰۴-۷/۰۶)۲/۷۱	*۰/۰۴۱
	GA+AA	(۲۸/۴۲٪)۴۳	(۵۷/۶۵٪)۴۹	(۰/۹۱-۲/۹۷)۱/۶۵	۰/۰۹۸
	G	(۷۳/۱۶٪)۱۳۹	(۶۲/۳۵٪)۱۰۶	-	-
	A	(۲۶/۸۴٪)۵۱	(۳۷/۶۵٪)۶۴	(۱/۰۵-۲/۵۷)۱/۶۵	*۰/۰۲۹
B) فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم c.*49T>C	TT	(۲۸/۴۲٪)۲۷	(۲۱/۱۸٪)۱۸	-	-
	TC	(۴۱/۰۵٪)۳۹	(۵۱/۷۶٪)۴۴	(۰/۸۱-۳/۵۳)۱/۶۹	۰/۱۶۱
	CC	(۳۰/۵۳٪)۲۹	(۲۷/۰۶٪)۲۳	(۰/۵۳-۲/۶۷)۱/۱۹	۰/۶۷۴
	TC+CC	(۷۱/۵۸٪)۶۸	(۷۸/۸۲٪)۶۷	(۰/۷۴-۲/۹۳)۱/۴۸	۰/۲۶۴
	T	(۴۸/۹۵٪)۹۳	(۴۷/۰۶٪)۸۰	-	-
	C	(۵۱/۰۵٪)۹۷	(۵۲/۹۴٪)۹۰	(۰/۷۱-۱/۶۳)۱/۰۸	۰/۷۲۰

تفاوت‌های معنی‌دار بین گروه بیمار و سالم با * نشان داده شد.

در مورد پلی‌مورفیسم c.-930G>A و با توجه به اطلاعات جدول ۴، فراوانی ژنوتیپ‌های AA و GA در گروه بیمار بیشتر از افراد سالم بود ولی در مورد ژنوتیپ GG، فراوانی آن در گروه سالم بیشتر از گروه بیمار بود. آنالیز ژنوتیپ‌ها نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ AA و ریسک ابتلا به CAD وجود دارد بگونه‌ای که ریسک ابتلا به بیماری CAD در افراد بیمار ۲/۷۱ برابر افراد سالم بوده است. آنالیز آللی هم نشان داد که یک ارتباط معنی‌داری بین آلل A و ریسک ابتلا به CAD وجود دارد به طوری که ریسک ابتلا به این بیماری برای آلل A، ۱/۶۵ برابر آلل G بود. ارزیابی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم c.*49T>C، نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های هوموزیگوت (TT و CC) در گروه سالم بیشتر از گروه بیمار است در حالی که فراوانی ژنوتیپ هتروزیگوت TC در گروه بیمار بیشتر بود. آنالیز آماری ژنوتیپ‌ها نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های TC و CC با ریسک ابتلا به بیماری عروق کرونر وجود ندارد (P>۰/۰۵). همچنین آنالیز آللی نشان داد که آلل C فاقد ارتباط معنی‌دار با ریسک CAD می‌باشد (جدول ۴).

بحث

امروزه بیماری عروق کرونر یک مشکل بالینی مهمی در دنیا محسوب می‌شود (۱۶). از آنجایی که با وجود پیشرفت‌های موجود در این زمینه، پیشگیری همچنان بهترین شیوه مقابله با CAD محسوب می‌شود، شناسایی فاکتورهای خطر آن، از اهمیت بسزایی برخوردار است. فاکتورهای ژنتیکی زیادی در افزایش خطر ابتلا به CAD وجود دارد (۱۹-۱۷). پلی مورفیسم‌های ژنتیکی در ژن‌های دخیل در استرس اکسیداتیو از جمله ژن CYBA می‌تواند ریسک فاکتور مهمی برای CAD محسوب شود (۱۴). در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم‌های c.*49T>C و c.-930G>A ژن فوق با CAD در یک جمعیت ایرانی بررسی شد. نتایج مطالعه ما نشان داد که ژنوتیپ AA و آلل A از پلی‌مورفیسم c.-930G>A ارتباط معناداری با افزایش

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

ریسک CAD دارد. اما آنالیز پلی‌مورفیسم c.*49T>C نشان داد که ژنوتیپ‌های CC و TC و همچنین آلل C، فاقد ارتباط معنی‌داری با ریسک CAD می‌باشند.

تاکنون مطالعات کمی در مورد ارتباط پلی‌مورفیسم‌های c.*49T>C و c.-930G>A ژن CYBA و ریسک CAD انجام شده است. مطالعه نیمیچ (Niemiec) و همکاران، نشان دادند که آلل 930G- پلی‌مورفیسم c.-930G>A با افزایش ریسک بیماری عروق کرونر ارتباط دارد (۲۰). مطالعه نواک (Nowak) و همکاران، نشان داد که پلی‌مورفیسم c.*49T>C ژن CYBA با ریسک ابتلا به CAD ارتباط معنی‌داری دارد (۲۱). برخی اختلافات جزیی نتایج حاصل از مطالعات مشابه می‌تواند به دلیل تأثیر فاکتورهای نژادی و محیطی باشد. ارتباط موتاسیون‌های ژن CYBA با ریسک CAD توسط یکسری از مکانیسم‌های مولکولی توجیه می‌شود. برخی از یافته‌های تجربی حاکی از نقش پاتوفیزیولوژیک برخی پلی‌مورفیسم‌های ژن CYBA هستند که برخی از آنها قادر به تغییر بیان و فعالیت ژن NADPH اکسیداز در زمینه بیماری‌های قلبی عروقی هستند (۲۲). برای مثال، در یک مدل حیوانی فشار خون بالای ژنتیکی، فعالیت NADPH اکسیداز آئورتی و بیان p22phox در رت‌های با فشار خون بالا در مقایسه با رت‌های نرمال افزایش یافته است، و پیشنهاد شده است که این تغییر بیان p22phox ممکن است توسط واریته‌های ژنتیکی در ژن p22phox تنظیم شود (۲۳). مطالعات وابستگی ژنتیکی قبلی ما نشان داد که آنالیز in silico، ابزار مناسبی جهت بررسی اثر پلی مورفیسم بر روی ساختار mRNA (۲۴ و ۲۵)، عملکرد پروتئین (۲۶ و ۲۷) و بیان ژن (۲۸) می‌باشد. پلی‌مورفیسم c.-930G>A یک ترانزیشن پروموتری می باشد و در بالادست ژن قرار گرفته است. این تغییر در ناحیه بالادستی ژن ممکن است باعث تغییر تمایل اتصال فاکتورهای رونویسی با پروموتر و در نهایت تغییر بیان ژن شود (۲۹). از سوی دیگر چون پلی‌مورفیسم c.*49T>C در ناحیه 3'UTR ژن واقع شد که آن هم می‌تواند با مکانیسم‌هایی همچون تغییر تمایل miRNAها، بیان ژن CYBA را تغییر دهد (۳۰). بنابراین مطالعات بعدی می‌تواند با تأثیر پلی‌مورفیسم‌های فوق بر بیان ژن CYBA با یک رویکرد بیوانفورماتیک متمرکز شود.

یکی از محدودیت‌های این مطالعه عدم آنژیوگرافی افراد گروه کنترل می‌باشد. برخی از موارد دیگر هم جزو محدودیت‌های این مطالعه محسوب می‌شوند. مثلاً افراد حاضر در گروه بیمار و سالم از لحاظ BMI و HDL، یکسان نبودند. همچنین جامعه آماری این مطالعه نسبتاً کوچک است و باید مطالعات بیشتر با جامعه آماری بزرگ‌تر در نژادهای مختلف انجام شود. همچنین مطالعات بعدی با در نظر گرفتن اینترکشن‌های ژن- ژن و ژن- محیط نیاز است.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه ما نشان می‌دهد که پلی مورفیسم c.-932G>A می‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر برای CAD در جمعیت کاشان- ایران مورد توجه محققین قرار گیرد. در صورت انجام مطالعات تکمیلی، پلی‌مورفیسم فوق می‌تواند به عنوان یک بیومارکر مناسب جهت غربالگری افراد مستعد ابتلا به CAD بکار گرفته شود. از طرف دیگر پلی‌مورفیسم c.*49T>C ارتباطی با خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر را نشان نداد. در حالی که پیش‌بینی می‌شد این پلی‌مورفیسم بتواند تمایل اتصال miRNA با UTR'۳ ژن را تغییر دهد که پیشنهاد می‌شود مطالعه آن برای

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

بررسی‌های بیشتر در جمعیت‌های بزرگ صورت پذیرد.

سپاس و قدردانی

از همه کسانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند به‌خصوص شرکت کنندگان حاضر در مطالعه مورد- شاهدی تقدیر و تشکر می نماییم.

تضاد منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1.Shafiei E, Fouladi Z, Shafiei P. The safe interval time of crystalloid cardioplegic solution transfusion during CABG. Iran South Med J. 2015; 18(1) :71-79.
2.Sowers JR, Epstein M, Frohlich ED. Diabetes, hypertension, and cardiovascular disease an update. Hypertension 2001; 37(4): 1053-9.
3.Pjanic M, Miller CL, Wirka R, et al. Genetics and genomics of coronary artery disease. Curr Cardiol Rep 2016; 18(10): 102.
4.Madamanchi NR, Vendrov A, Runge MS. Oxidative stress and vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005; 25(1): 29-38.
5.Qin B, Yang H, Xiao B, et al. Role of microRNAs in endothelial inflammation and senescence. Mol Biol Rep 2012; 39(4): 4509-18.
6.Konior A, Schramm A, Czesnikiewicz-Guzik M, et al. NADPH oxidases in vascular pathology. Antioxid Redox Signal 2014; 20(17): 2794-814.
7.Paravicini TM, Touyz RM. NADPH oxidases, reactive oxygen species, and hypertension clinical implications and therapeutic possibilities. Diabetes Care 2008; 31 Suppl 2: S170-80.
8.Kikuchi H, Hikage M, Miyashita H, et al. NADPH oxidase subunit, gp91(phox) homologue, preferentially expressed in human colon epithelial cells. Gene 2000; 254(1-2): 237-43.
9.Uenno N, Takeya R, Miyano K, et al. The NADPH oxidase Nox3 constitutively produces superoxide in a p22phox-dependent manner: its regulation by oxidase organizers and activators. J Biol Chem 2005; 280(24): 23328-39.
10.Mohazzab KM, Kaminski PM, Wolin MS. NADH oxidoreductase is a major source of superoxide anion in bovine coronary artery endothelium. Am J Physiol 1994; 266(6 Pt 2): H2568-72.
11.Sorescu D, Weiss D, Lassègue B, et al. Superoxide production and expression of nox family proteins in human atherosclerosis. Circulation 2002; 105(12): 1429-35.
12.Liang B, Wei Q, Shen T, et al. The A640G polymorphism in the NAD (P) H oxidase p22phox gene (CYBA) is associated with risk reduction of coronary heart disease: a meta-analysis. Clin Biochem 2014; 47(6):409-16.
13.Najafi M, Alipoor B, Shabani M, et al. Association between rs4673 (C/T) and rs13306294 (A/G) haplotypes of NAD (P) H oxidase p22phox gene and severity of stenosis in coronary arteries. Gene 2012; 499(1): 213-7.
14.Hu P, Huang MY, Hu XY, et al. Meta-analysis of C242T polymorphism in CYBA genes: risk of acute coronary syndrome is lower in Asians but not in Caucasians. J Zhejiang Univ Sci B 2015; 16(5): 370-9.
15.Green MR, Sambrook J. Molecular Cloning: a Laboratory Manual. 4th ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2012, 104-111.
16.Pollock A, Jones DS. Coronary artery disease and the contours of pharmaceuticalization. Soc Sci Med 2015; 131: 221-7.
17.Raygan F, Karimian M, Rezaeian A, et al. Angiotensinogen-M235T as a risk factor for myocardial infarction in Asian populations: a genetic association study and a bioinformatics approach. Croat Med J 2016; 57(4): 351-62.
18.Mazaheri M, Karimian M, Behjati M, et al. Association analysis of rs1049255 and rs4673 transitions in p22phox gene with coronary

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

artery disease: A case-control study and a computational analysis. Ir J Med Sci 2017; 1-8.
19.McClelland RL, Jorgensen NW, Budoff M, et al. 10-year coronary heart disease risk prediction using coronary artery calcium and traditional risk factors: derivation in the MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis) with validation in the HNR (Heinz Nixdorf Recall) study and the DHS (Dallas Heart Study). J Am Coll Cardiol 2015; 66(15): 1643-53.
20.Niemiec P, Nowak T, Iwanicki T, et al. The -930A> G polymorphism of the CYBA gene is associated with premature coronary artery disease. A case–control study and gene-risk factors interactions. Mol Bio Rep 2014; 41(5): 3287-94.
21.Nowak T, Niemiec P, Górczyńska-Kosiorz S, et al. The CYBA gene 49A> G polymorphism (rs7195830) is associated with hypertension in patients with coronary artery disease. Biomed Res Int 2016; 2016: 1539671.
22.Zalba G, San José G, Moreno MU, et al. NADPH oxidase-mediated oxidative stress: genetic studies of the p22phox gene in hypertension. Antioxid Redox Signal 2005; 7(9-10): 1327-36.
23.Zalba G, Beaumont FJ, San José G, et al. Vascular NADH/NADPH oxidase is involved in enhanced superoxide production in spontaneously hypertensive rats. Hypertension 2000; 35(5): 1055-61.
24.Karimian M, Hosseinzadeh Colagar A. Human MTHFR-G1793A transition may be a protective mutation against male infertility: a genetic association study and in silico analysis. Hum Fertil 2017; 1-9.
25.Nikzad H, Karimian M, Sareban K, et al. MTHFR-Ala222Val and male infertility: a study in Iranian men, an updated meta-analysis and an in silicoanalysis. Reprod Biomed Online 2015; 31(5): 668-80.
26.Karimian M, Hosseinzadeh Colagar A. Methionine synthase A2756G transition might be a risk factor for male infertility: evidences from seven case-control studies. Mol Cell Endocrinol 2016; 425: 1-10.
27.Karimian M, Colagar AH. Association of C677T transition of the human methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene with male infertility. Reprod Fertil Dev 2016; 28(6): 785-94.
28.Jamali S, Karimian M, Nikzad H, et al. The c.-190 C> A transversion in promoter region of protamine1 gene as a genetic risk factor for idiopathic oligozoospermia. Mol Biol Rep 2016; 43(8): 795-802.
29.Guo Y, Jamison DC. The distribution of SNPs in human gene regulatory regions. BMC Genomics 2005; 6: 140.
30.Haas U, Sczakiel G, Laufer S. MicroRNA-mediated regulation of gene expression is affected by disease-associated SNPs within the 3′-UTR via altered RNA structure. RNA Biol 2012; 9(6): 924-37.

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]

Iran South Med J 2017; 20(5): 416-425

Original Article

Association of c.*49T>C and c.-932 G>A Polymorphisms of *CYBA* Gene with Coronary Artery Disease: a Case-Control Study in Kashan Population

T. Mazoochi (PhD) [1], ***M. Karimian (PhD)*** [1,2*], ***M. Mazoochi (MD)*** [3], ***A. Hosseinzadeh Colagar (PhD)*** [2]

[1] ***Anatomical Sciences Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran***
[2] ***Department of Molecular and Cell Biology, School of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran***
[3] ***Department of Cardiology, School of Medicine, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran***

(Received 20 Oct 2016 Accepted 13 Mar 2017)

Abstract

Background: The *CYBA* (*Cytochrome B-245 Alpha Chain*; *p22phox*) gene encodes an essential subunit of NADH/NADPH-oxidase. This enzyme is expressed in smooth muscle cells of arteries which produces several active oxygen products. On the other hand, oxidative stress has a significant role in the pathogenesis of coronary artery disease (CAD). This study aimed to investigate the association between rs7195830 (c.*49T>C) and rs9932581 (c.-930G>A) polymorphisms in *CYBA* gene with coronary artery disease in an Iranian population.

Materials and Methods: In this case-control study, citrated blood samples were obtained from 180 participants, including 85 patient with CAD and 95 healthy volunteers. The fragments containing rs7195830 and rs9932581 of *CYBA* gene from extracted genome were amplified by polymerase chain reaction. Then the genotype of samples was detected using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method. Genetic association analysis was performed using logistic regression test.

Results: Data analysis of c.-930G>A polymorphism revealed a significant association between AA genotype and risk of CAD (OR: 2.71, 95%CI: 1.04-7.06, *p*= 0.041). Also, the allelic analysis revealed that there was a significant association between A allele and CAD risk (OR: 1.65, 95%CI: 1.05-2.57, *p*=0.029), while there was no significant association between c.*49T>C polymorphism and risk of CAD.

Conclusion: The study results showed that the c.-930G>A polymorphism might be associated with the susceptibility to CAD and could be considered as a potential biomarker in future studies.

Key words: Coronary artery disease, *CYBA* gene, Genetic polymorphism, Kashan

©Iran South Med J. All rights reserved.

Cite this article as: Mazoochi T, Karimian M, Mazoochi M, Hosseinzadeh Colagar. Association of c.*49T>C and c.-932 G>A Polymorphisms of CYBA Gene with Coronary Artery Disease: a Case-Control Study in Kashan Population. Iran South Med J 2017; 20(5): 416-425

Copyright © 2017 Mazoochi, 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 Molecular and Cell Biology, School of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. Email: mdkarimian@gmail.com

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

[Downloaded from ismj.bpums.ac.ir on 2026-11-06]