دانشکده علوم پایه

پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد

بررسی ارتباط درج/ حذف توالی ATTG پروموتر ژن NFκB1 با بیماری‌های عروق کرونر در جمعیت استان گلستان

از:

آرش گلعلی‌پور

استاد راهنما:

دکتر فرزام عجمیان

خرداد ۱۳۹۲

بسم الله الرحمن الرحیم

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

(گرایش ژنتیک)

بررسی ارتباط درج/ حذف توالی ATTG پروموتر ژن NFκB1 با بیماری‌های عروق کرونر در جمعیت استان گلستان

از:

آرش گلعلی‌پور

استاد راهنما:

دکتر فرزام عجمیان

استاد مشاور:

اسماعیل صمدیان

خرداد ۱۳۹۲

تقدیم به :

مادر و پدرم

به زیباترین آفرینش های خالق،

به آنان که یاریم کردند تا بیاموزم

امید است هدیه این حقیر، جبران

گوشه ای از زحمات شما باشد.

تقدیر و تشکر

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت‌های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. و سلام و دورد بر محمّد و خاندان پاک او، طاهران معصوم، هم آنان که وجودمان وامدار وجودشان است؛ ازپدر و مادر عزیزم، این دو معلم بزرگوارم که همواره بر کوتاهی و درشتی من، قلم عفو کشیده و کریمانه از کنار غفلت‌هایم گذشته‌اند و در تمام عرصه‌های زندگی یار و یاوری بی‌چشم داشت برای من بوده‌اند؛ از استاد باکمالات و شایسته؛ جناب آقای دکتر فرزام عجمیان که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، زحمت راهنمایی این پایان‌نامه را بر عهده گرفتند؛ از جناب آقای اسماعیل صمدیان، که زحمت مشاوره این پروژه را در حالی متقبل شدند که بدون مساعدت ایشان، این پروژه به نتیجه مطلوب نمی‌رسید؛ نهایت تشکر و قدردانی را دارم. از اساتید فرزانه و دلسوز؛ جناب آقای دکتر حمیدرضا وزیری و سرکار خانم دکتر زیور صالحی که زحمت داوری این پایان‌نامه را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم، و با تشکر خالصانه خدمت همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده‌اند. در پایان از زحمات بی‌دریغ برادران عزیزم که در تدوین پایان‌نامه همت خالصانه داشتند بی‌نهایت سپاسگزارم. امید است این تلاش ناچیز مقبول اهل علم افتد و راهگشایی باشد برای عزیزانی که در آینده ممکن است به آن رجوع کنند.

آرش گلعلی‌پور

خرداد ماه سال ۱۳۹۲

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی ..... ح
چکیده انگلیسی ..... ط

فصل اول: مقدمه

۱- مقدمه ۱
۱-۱- بیماری‌های عروق کرونر قلب ۱
۱-۱-۱- توضیح مختصری از بیماری‌های عروق کرونر قلب ۱
۱-۱-۲- تعریف بیماری آترواسکلروزیس ۳
۱-۱-۳- تاریخچه آترواسکلروزیس ۴
۱-۱-۴- تئوری‌های مطرح شده در زمینه ایجاد آترواسکلروزیس ۴
۱-۱-۴-۱- Lipid hypothesis ۴
۱-۱-۴-۲- Response to injury hypothesis ۴
۱-۱-۴-۳- Monoclonal hypothesis ۵
۱-۱-۴-۴- Clonal senescence hypothesis ۵
۱-۱-۴-۵- فرضیه التهاب ۵
۱-۲- پاتوفیزیولوژی آترواسکلروزیس ۵
۱-۲-۱- علل تشکیل پلاک چربی در عروق کرونر ۷
۱-۲-۲- آنژین صدری ۸
۱-۳- مراحل آترواسکلروزیس ۸
۱-۳-۱- اکسیداسیون ۸
۱-۳-۲- پاسخ التهابی ۹
۱-۳-۳- بسته شدن رگ ۹
۱-۴- علائم آترواسکلروزیس ۹
۱-۴-۱- ریسک فاکتورها و عوامل خطرساز برای ایجاد آترواسکلروزیس ۱۰
۱-۴-۲- عوامل خطرساز غیرقابل اصلاح ۱۰
۱-۴-۲-۱- سن بالا ۱۰
۱-۴-۲-۲- جنس مذکر ۱۰
۱-۴-۲-۳- فاکتورهای ژنتیکی ۱۰
۱-۴-۲-۴- سابقه خانوادگی آترواسکلروز ۱۱
۱-۴-۲-۵- نژاد ۱۱

۱-۴-۳- عوامل خطرساز قابل اصلاح ۱۲
۱-۴-۳-۱- افزایش فشار خون ۱۲
۱-۴-۳-۲- هایپرلیپیدمی ۱۲
۱-۴-۳-۳- هایپرگلایسمی (دیابت قندی) ۱۲
۱-۴-۳-۴- چاقی ۱۳
۱-۴-۳-۵- استعمال دخانیات ۱۳
۱-۴-۴- سایر عوامل خطر در ایجاد آترواسکلروزیس ۱۳
۱-۴-۵- مطالعات اپیومیولوژیک CAD ۱۴
۱-۵- شاخص‌های آترواسکلروزیس ۱۴
۱-۵-۱- لیپوپروتئینمی a (افزایش سطح لیپوپروتئین a پلاسما) ۱۵
۱-۵-۲- هایپرهموسیستئینمی (افزایش سطح هموسیستئین پلاسما) ۱۵
۱-۵-۳- افزایش سطح پروتئین واکنشگر C (CRP) ۱۵
۱-۵-۴- کلسیفیکاسیون شریان کرونر ۱۶
۱-۵-۵- فیبرینوژن ۱۷
۱-۶- نقش التهاب در بیماری آترواسکلروزیس ۱۷
۱-۶-۱- تعریف التهاب ۱۸
۱-۶-۲- نقش پلاکت‌ها در التهاب آترواسکلروزیس ۱۸
۱-۶-۳- پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی بیماری CAD ۱۹
۱-۶-۴- راه‌های پیشگیری از آترواسکلروزیس ۱۹
۱-۶-۵- راه‌های درمان آترواسکلروزیس ۲۰
۱-۶-۵-۱- اصلاح عوامل خطرساز و تغییر شیوه زندگی به منظور کند کردن یا متوقف ساختن روند پیشرفت بیماری CAD ۲۰
۱-۶-۵-۲- درمان دارویی ۲۰
۱-۶-۵-۲-۱- استاتین ۲۰
۱-۶-۵-۲-۲- آسپرین ۲۱
۱-۶-۵-۲-۳- سایر داروها ۲۱
۱-۶-۵-۳- Revascularization ۲۲
۱-۷- تأثیر NFκB در التهاب و بیماری CAD ۲۲
۱-۷-۱- اعضای خانواده NFκB ۲۲
۱-۷-۲- NFκB از دیدگاه مولکولی ۲۴
۱-۷-۲-۱- مسیر کلاسیک فعال شدن NFκB ۲۶
۱-۷-۲-۲- مسیر متناوب برای فعال سازی NFκB ۲۷
۱-۷-۳- محرک‌های شناسایی شده برای NFκB ۲۸

۱-۷-۴- اختلال در فعالیت NFκB ۲۹
۱-۷-۵- نتایج NFκB در القاء بیان ژن‌ها ۲۹
۱-۸- بررسی فاکتور NFκB1 ..... ۳۰
۱-۸-۱- بررسی جایگاه rs28362491 در پروموتر ژن NFκB1 ..... ۳۱
۱-۸-۲- هدف از این تحقیق ۳۲

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد و لوازم مورد نیاز ۳۳
۲-۱-۱- مواد و لوازم مورد نیاز جهت نمونه‌گیری ۳۳
۲-۱-۲- مواد و وسایل مورد جهت استخراج DNA از لوکوسیت‌های خون محیطی ۳۳
۲-۱-۳- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده ۳۴
۲-۱-۴- مواد و وسایل مورد نیاز جهت انجام PCR ۳۴
۲-۱-۵- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز ۳۵
۲-۱-۶- مواد و لوازم مورد استفاده در تکنیک RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) ۳۶
۲-۱-۷- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات RFLP به کمک ژل آگارز ۳۶
۲-۱-۸- مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات RFLP به کمک ژل پلی‌اکریل‌آمید ۳۷
۲-۲- وسایل و تجهیزات لازم که به وفور در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می‌گیرند. ۳۷
۲-۳- آماده سازی محلول‌ها و بافرها ۳۸
۲-۳-۱- تهیه و آماده سازی محلول‌های مورد نیاز ۳۸
۲-۳-۱-۱ محلول SDS (۱۰ درصد) ۳۸
۲-۳-۱-۲- محلول کلرید سدیم ۶ مولار ۳۹
۲-۳-۱-۳- محلول EDTA (۵۰۰mM) ۳۹
۲-۳-۱-۴- محلول EDTA (۱۵ درصد) ۳۹
۲-۳-۱-۵- محلول KCl (۱۰۰mM) ۳۹
۲-۳-۱-۶- محلول $MgCl_2$ (۱۰۰mM) ۳۹
۲-۳-۱-۷- محلول Deconex ۳۹
۲-۳-۲- تهیه و آماده سازی بافرهای مورد نیاز ۴۰
۲-۳-۲-۱- بافر Tris-HCl (۲۰۰mM) ۴۰
۲-۳-۲-۲- بافر TKM ۴۰
۲-۳-۲-۳- بافر TBE (۱۰X) ۴۰
۲-۳-۲-۴- بافر TBE (۱X) ۴۰
۲-۳-۳- روش تهیه Loading buffer ۴۰

۲-۴- روش کار ۴۰
۲-۴-۱- نمونه‌گیری ۴۱
۲-۴-۲- استخراج DNA ۴۲
۲-۴-۳- ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده به کمک ژل آگارز (الکتروفورز افقی) ۴۳
۲-۴-۴- طراحی پرایمر ۴۴
۲-۴-۵- انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction, PCR) ۴۶
۲-۴-۶- الکتروفورز جهت بررسی کیفیت محصولات PCR ۴۸
۲-۴-۷- تکنیک RFLP جهت تشخیص پلی‌مورفیسم درج یا حذف توالی ATTG (rs28362491) ناحیه ۹۴- در پروموتر ژن NFκB1 ..... ۴۸
۲-۴-۸- الکتروفورز افقی جهت بررسی کیفیت محصولات RFLP ۵۰
۲-۴-۹- الکتروفورز عمودی (ژل پلی‌اکریل‌آمید) جهت بررسی کیفیت محصولات RFLP ۵۰
۲-۵- آنالیز آماری ۵۱

فصل سوم: نتایج

۳- نتایج ۵۲
۳-۱- خصوصیات نمونه‌ها ۵۲
۳-۲- نتایج بررسی‌های مولکولی ۵۲
۳-۲-۱- نتایج بررسی کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگارز ۰/۸٪ (الکتروفورز افقی) ۵۲
۳-۲-۲- نتایج حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ۵۳
۳-۲-۲-۱- نتایج حاصل از ژنوتایپینگ NFκB1 ..... ۵۴
۳-۲-۲-۱-۱- نتایج آنالیز آماری ۵۶
۳-۲-۲-۱-۱-۱- بررسی فراوانی آللی ۵۷
۳-۲-۲-۱-۱-۲- بررسی فراوانی ژنوتیپی ۵۸

فصل چهارم: بحث

۴- بحث ۶۰
۴-۱- نتیجه‌گیری کلی ۶۴
۴-۲- پیشنهادات ۶۴

منابع ۶۶
پیوست ۷۱

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- فهرست پرایمرهای مورد استفاده جهت PCR ۴۵
جدول ۲-۲- مواد لازم در واکنش PCR ۴۷
جدول ۲-۳- مراحل مختلف PCR و دما و زمان لازم برای انجام آن ۴۸
جدول ۲-۴- مواد لازم در واکنش RFLP ۴۹
جدول ۲-۵- مواد لازم در واکنش الکتروفورز عمودی (ژل پلی اکریل آمید) ۵۰
جدول ۳-۱- نتایج مربوط به فراوانی آللی پلی‌مورفیسم NFκB1 ..... ۵۷
جدول ۳-۲- نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن NFκB1 ..... ۵۸

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- تصویر شماتیک گرفتگی عروق کرونر ۶
شکل ۱-۲- تصویر شماتیک مسیر کلاسیک فعال شدن NFκB ۲۷
شکل ۱-۳- تصویر شماتیک دایمر P50/P65 ..... ۳۱
شکل ۲-۱- موقعیت rs28362491 در ژن NFκB1 ..... ۴۵
شکل ۲-۲- توالی قطعه تکثیر شده از ژن NFκB1 ..... ۴۵
شکل ۲-۳- دیاگرام چرخه حرارتی PCR ژن NFκB1 ..... ۴۷
شکل ۲-۴- جایگاه شناسایی و برش آنزیم Van91 I (PflMI) ۴۹
شکل ۳-۱- تصویر مربوط به ژل آگارز ۰/۸٪ DNA ژنومی ۵۳
شکل ۳-۲- تصویر مربوط به ژل آگارز ۱/۵٪ محصولات PCR جهت اطمینان از تکثیر قطعه مورد نظر ۵۴
شکل ۳-۳- تصویر ژل آگارز ۳٪ مربوط به هضم آنزیم Van91 I (PflMI) ۵۵
شکل ۳-۴- تصویر ژل پلی‌اکریل‌آمید ۱۵٪ جهت بررسی پلی‌مورفیسم ناحیه پروموتری ژن NFκB1 ..... ۵۶
شکل ۳-۵- نمودار درصد فراوانی آلل‌های مشاهده شده در ژن NFκB1 در دوگروه سالم و بیمار ۵۷
شکل ۳-۶- نمودار درصد فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن NFκB1 در دوگروه سالم و بیمار ۵۸

چکیده

بررسی ارتباط درج/ حذف توالی ATTG پروموتر ژن NFκB1 با بیماری های عروق کرونر در جمعیت استان گلستان

آرش گلعلی پور

بیماری‌های عروق کرونر (CAD) شایعترین عامل مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی- عروقی هستند و التهاب، عاملی پیشبرنده برای خطر ابتلا به این بیماری محسوب می‌گردد. فاکتور رونویسی NFκB تنظیم‌کننده کلیدی بسیاری از فرآیندهای سلولی و ژن‌های دخیل در تعدیل التهاب است و بسیاری از ژن‌های مرتبط با CAD توسط NFκB تنظیم می‌گردد. حذف توالی ATTG ناحیه ۹۴- پروموتر ژن NFκB1 منجر به کاهش سطح زیرواحدهای این پروتئین (P50 وp105) می‌گردد و به دنبال آن پاسخ ضد التهابی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. افراد حامل این حذف ممکن است در معرض خطر بیشتری به بیماری CAD قرار داشته باشند. با توجه به اینکه تفاوت‌های ژنتیکی در گروه‌های نژادی و قومیتی مختلف وجود دارد و همچنین تاکنون هیچ‌گونه مطالعه‌ای در مورد ارتباط درج/ حذف توالی ATTG ناحیه ۹۴- پروموتر ژن NFκB1 (rs28362491) با بیماری CAD در ایران صورت نگرفته است، لذا در این مطالعه ارتباط این درج/ حذف آللی با خطر ابتلا به بیماری CAD در جمعیت استان گلستان بررسی شده است. افراد مورد مطالعه شامل بیماران مبتلا به CAD (n=۱۲۰) مراجعه کننده به بخش آنژیوگرافی بیمارستان امیرالمومنین (مرکز قلب) شهرستان کردکوی استان گلستان و گروه شاهد (n=۱۳۰) افرادی بودند که با لحاظ نمودن متغیرهای مخدوش کننده از میان افراد سالم جامعه استان گلستان انتخاب شدند. تخلیص DNA ژنومی از خون تمام افراد هر دو گروه توسط روش Salting out صورت گرفت. سپس، توالی‌های پرایمر برای دو طرف جایگاه rs28362491 طراحی شد و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز برای بررسی این جایگاه انجام گرفت. جایگاه rs28362491 به روش RFLP-PCR و الکتروفورز روی ژل آگارز در افراد بیمار و کنترل بررسی شد. در مرحله آخر این پروژه، آنالیز آماری بر روی داده‌های بدست آمده به کمک نرم افزار آماری Med Calc (Version.12.1.4.0) انجام شد. نتایج نشان داد که تفاوت معنی‌داری در توزیع آلل دارای حذف و آلل دارای درج ATTG در بین افراد سالم و بیمار وجود نداشت (P=0.5858). فراوانی ژنوتیپ‌های درج/ درج، درج/ حذف، حذف/ حذف ATTG پروموتر ژن NFκB1 در افراد بیمار به ترتیب برابر با ۳۲٪، ۵۴٪ و ۱۴٪ بود و در افراد سالم فراوانی‌ها برابر با ۳۶٪، ۵۲٪ و ۱۲٪ بودند و تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی ژنوتیپی بین افراد بیمار و سالم وجود نداشت (P=0.7943). نتایج بدست آمده پیشنهاد می‌دهند که حضورآلل دارای حذف خطر ابتلا به CAD را در جمعیت مورد مطالعه افزایش نمی‌دهد. گرچه مطالعات بیشتر درجمعیت‌های بزرگ‌تر برای تأیید این یافته مورد نیاز می‌باشد.

کلید واژه: ژن NFκB1, CAD, درج/ حذف ATTG, PCR-RFLP, استان گلستان

Abstract

Association of ATTG insertion/deletion of NFκB1 promoter with coronary artery diseases in the population of Golestan province

Arash Golalipour

Coronary artery disease (CAD) are the most common cause of death in cardiovascular diseases, and also inflammation increases the risk of infection. The transcription factor NFκB is a vital regulator for many cellular processes and genes involved in modulating inflammation. Many of the genes associated with the pathogenesis of CAD are regulated by NFκB. Deletion of ATTG -94 NFκB1 gene promoter, decreases the levels of the protein subunits (P50 and p105) and in result it affects the inflammatory responses. Those who are carrying this deletion may be at greater risk of CAD disease. Due to genetic differences in different ethnic groups, no study has been done in Iran on the relationships between the insertion/deletion ATTG sequence of the -94 gene promoter (rs28362491) NFκB1 of CAD disease, in this study the relation between the insertion/deletion allele with risk of CAD was evaluated in Golestan province. Studied cases include the patients with CAD (n=120) who visite coronary angiography section in Amiralmomenin hospital (Heart Center) in kordkoy city of Golestan province, Controls were the people who were selected by regarding the confounding variables from healthy population of Golestan province (n=130). Extraction of genomic DNA from whole blood of people in both groups was accomplished, by Salting out method. Then, The primer sequences were designed for rs28362491, polymerase chain reaction was performed to check the position. Rs28362491 position was assessed by agarose gel electrophoresis and RFLP-PCR methods in patients and controls. At the final stage of the project, the obtained data were analyzed using statistical Med Calc software (Version 12.1.4.0). The results showed that there was no significant difference in The deletion and insertion ATTG alleles distribution among controls and patients (P=0.5858). Genotype frequencies of the ATTG insertion/insertion, insertion/deletion, deletion/deletion of NFκB1 gene promoter in patients was respectively 32%, 54% and 14%, and frequencies in the controls were respectively, 36%, 52% and 12%. There was no significant difference in genotype frequency distribution between patients and controls (P=0.7943). The results suggest that the presence of a deletion allele does not increase the risk of CAD in the population of Golestan province. Although further studies are needed in larger populations to confirm these findings.

Key words: NFκB1, CAD, Insertion/deletion of ATTG, PCR-RFLP, Golestan province

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

در کشورهای در حال توسعه به میزان رشد صنعتی و رفاهی و توسعه یافتگی آن‌ها میزان اختلالات قلبی و عروقی و بویژه بیماری انسداد عروق کرونر قلب در حال افزایش است. ضرورت پرداختن به مقوله پیشگیری و جلوگیری از رشد فزاینده امراض عروق کرونر قلب[1] (CAD) یا آترواسکلروزیس[2] نه تنها اکنون به وضوح حس می‌شود که این ضرورت با گذر جامعه ما از مراحل توسعه یافتگی، بیشتر و حساس‌تر نیز خواهد شد. براساس گزارش سازمان جهانی بهداشت با کنترل هر چه بیشتر امراض عفونی و با ارتقاء استانداردهای زندگی در کشورهای در حال توسعه روز به روز بر دامنه شیوع بیماری‌های قلبی و عروقی و در رأس آن‌ها بیماری‌های عروق کرونر قلب افزوده می‌شود (Joensen *et al.*, 2009).

تا سال ۲۰۲۰ میلادی پیش‌بینی می‌شود بیماری‌های قلبی و عروقی بزرگ‌ترین بار بیماری در سرتاسر دنیا خواهند بود. بیماری‌های قلبی و عروقی تنوع بسیاری چه به لحاظ بالینی و چه به لحاظ فیزیولوژی و بیوشیمیایی نشان می‌دهند. خصوصیات ژنتیکی منحصر به فرد هر بیمار قلب و عروق، همراه با سبک زندگی منحصر به فردی که دارد موجب می‌شود پیدایش و بروز اکثر بیماری‌های قلبی و عروقی به جز در موارد بیماری‌های نادر و تک‌ژنی، کمپلکس و شایع بوده و با وجود آنکه رد پای ژن‌ها و استعداد ژنتیکی در فرد، خانواده و بستگان و در نهایت در جمعیت آشکار می‌باشد اما با الگوهای ژنتیک پایه و وراثت ساده مندلی قابل پیگیری و تشخیص نیستند (Pai *et al.*, 2004).

۱-۱- بیماری‌های عروق کرونر قلب

۱-۱-۱- توضیح مختصری از بیماری‌های عروق کرونر قلب

بیماری‌های عروق کرونری قلب (CAD) به لحاظ پایه ژنتیکی قوی‌ترین نشانه‌ها را در مطالعات متعدد نشان داده است و در انفارکتوس میوکارد در سنین جوانی، ژنتیک فرد می‌تواند عامل اصلی باشد. با وجود چنین نقش بارزی برای ژنتیک در پاتوفیزیولوژی آترواسکلروز، ارزیابی ریسک بالینی و اقدامات درمانی هنوز مبتنی بر ریسک فاکتورهای مرسوم است. نبود پیش

[1] . Coronary artery disease
[2] . Atherosclerosis

زمینه کافی از وضعیت ژنتیکی جمعیت یک منطقه به موضوع عدم توجه به کاربردهای ژنتیک شدت می‌بخشد. در طی سال‌های اخیر پس از تکمیل پروژه ژنوم انسان، پیشرفت‌های چشمگیری در حوزه نقشه برداری از ژن‌های عامل CAD و مهم‌ترین پیامد بالینی آن یعنی سکته قلبی[1] (MI) به عمل آمده است. مطالعات ژنتیک مولکولی بیماری‌های نادر و با توارث مندلی، تعدادی موتاسیون را معرفی کرده‌اند که با بیماری CAD در ارتباطند و مؤید مبنای وراثتی تعدادی از ریسک فاکتورهای آترواسکلروز می‌باشند. ریسک وراثتی برای شکلی از بیماری عروق کرونر که شایع و چند عاملی است، یعنی هم ژن‌ها و هم محیط در تجلی بیماری دخالت دارند، هنوز در رأس مطالعات ژنتیکی قرار دارد و هنوز جای خالی بسیاری در دانش ما از ژن‌های درگیر در ابتلا به بیماری وجود دارد. رسیدن به چنان ادراکی از ژن‌های MI و CAD مستلزم یک نگاه نه فقط ژنتیکی که سرتاسر ژنومی و یا ژنومیک است. تمام مطالعات روی هم رفته، سه مسیر متابولیسم بیولوژی را در CAD دخیل دانسته‌اند، که اولین آن‌ها متابولیسم لیپیدها و از همه مهم‌تر کلسترول است، دوم انسجام آندوتلیالی و سوم فرآیند التهاب شریانی است (Cohn *et al.*, 2000).

آترواسکلروزیس وعوارض آن از علل مرگ و میر (مورتالیتی) و ناخوشی (موربیدیتی) در هر دو جنس و در تمام نژادها است. این بیماری عامل بیش از ٪۳۰ مرگ و میر در جهان است. در طی سال‌های اخیر شیوع بیماری‌های عروق کرونر قلب (CAD) در کشورهای رو به توسعه از جمله شرق مدیترانه (مثل ایران) در حال افزایش است و انجمن قلب آمریکا در آخرین گزارشات خود در سال ۲۰۰۴ میلادی صراحتاً به این موضوع اشاره کرده است. CAD به عنوان یکی از شایع‌ترین بیماری‌های جوامع بشری علاوه بر آنکه سالانه هزاران نفر را به کام مرگ می‌کشاند، هزینه‌های سنگینی را نیز در غالب انجام اعمال جراحی و سایر برنامه‌های درمانی، کنترل عوارض و ناتوانی افراد، به جامعه تحمیل می‌کند. یکی از جنبه‌های متمایز کننده CAD از بسیاری از بیماری‌های دیگر قابل پیشگیری بودن آن است و این مسأله باعث شده همواره توجهات بسیاری به ریسک فاکتورهای CAD و اجرای سطوح مختلف پیشگیری آن جلب شود. در کشور ما نیز سالیانه تعداد زیادی از مردم به این بیماری مبتلا شده وبار سنگینی را بر روی سیستم بهداشت و درمان کشور تحمیل می‌نماید. بنابراین شناخت افراد با ریسک بالای ابتلا به بیماری از اهمیت بالایی برخوردار است (Hansson *et al.*, 2005).

[1] . Myocardial infarction

۱-۱-۲- تعریف بیماری آترواسکلروزیس

آترواسکلروزیس بیماری التهابی با مکانیسم‌های ایمنولوژیک در تعامل با ریسک فاکتورهای متابولیک می‌باشد. این بیماری با التهاب مرتبط است به طوری که چسبیدن لکوسیت‌های در گردش به آندوتلیوم در پاسخ به سیتوکین‌های کموتاکتیک ترشح شده از سلول‌های عروق خونی یکی از زودرس‌ترین مراحل در ایجاد تصلب شرایین می‌باشد. مولکول‌های اتصالی اندوتلیال که شامل مولکول اتصالی عروقی (VCAM) و مولکول اتصالی داخل سلولی (ICAM) می‌باشند، در سطح سلول‌های اندوتلیال فعال ظاهر شده و سبب ورود سلول‌های التهابی بداخل دیواره شریانی می‌شوند (Kalbfleisch *et al.*, 1988).

آترواسکلروزیس با تجمع غیر طبیعی لیپید، مواد چربی و بافت چربی در جدار رگ مشخص می‌شود و باعث تنگی رگ و کاهش جریان خون به عضله میوکارد قلب می‌گردد. آترواسکلروزیس بیماری پیشرونده‌ای است که می‌توان پیشرفت آن را متوقف کرد یا در بعضی موارد نیز آن را برگشت داد. آترواسکلروز با تجمع ذرات چربی و لیپیدی در لایه داخلی دیوارهٔ سرخرگی آغاز می‌گردد. اگرچه تصور می‌شود این ذرات چربی عامل آترواسکلروز باشد، اما از دوران بچگی در دیواره سرخرگی وجود دارد و تمام این ذرات تبدیل به ضایعات پیشرفته نمی‌گردد. به طور کلی علت پیشروی این ذرات در دیواره رگ نامعلوم است، اما این توافق وجود دارد که هر دو عامل ژنتیک و محیطی در پیدایش آن موثر است (Jensen *et al.*, 2009).

ساختمان فیزیکی دیواره سرخرگ کرونر آن را مستعد مکانسیم‌های آترواسکلروز می‌نماید. سرخرگ کرونر برای خون‌رسانی به قلب دارای پیچ و خم‌های زیادی است. بنابراین نقاط مناسبی در رگ برای تشکیل پلاک فیبروزی یا آتروم فراهم می‌گردد. رسوب لیپید و مواد دیگر بر روی دیواره داخلی این رگ‌ها و در نتیجه تشکیل پلاک‌های فیبری- چربی[1] (آتروما) با افزایش سن رفته رفته ازدیاد می‌یابد و موجب تنگی رگ (استنوزیس) و یا دیگر عواقب می‌گردد. تصلب شرایین که علت اصلی بروز بیماری‌های ایسکمی دهنده رگ‌های قلب و مغز به شمار می‌رود، از زمان‌های بسیار قدیم شناخته شده بوده است. قدیمی‌ترین ضایعه آترواسکلروز در اجساد مومیایی شده مصر باستان با قدمت بیش از سه هزار سال قبل از میلاد پیدا شد (Pai *et al.*, 2004).

[1] . Atroma

۱-۱-۳- تاریخچه آترواسکلروزیس

ادوارد جنر[1] که برای نخستین بار واکسیناسیون را معرفی نمود، برای اولین بار نیز فرضیه وجود گرفتاری در رگ‌های کرونر را به عنوان علت بروز آترواسکلروز در سال ۱۷۸۶ مطرح کرد و جیمز هریک[2] در ۱۹۱۲ ثابت نمود که مسدود شدن شریان‌های به شدت آترواسکلروتیک کرونر توسط یک لخته عامل بروز انفارکتوس حاد میوکارد می‌باشد. حدود ۵۰ سال طول کشید تا کونستانتینیدس[3]، چاپمن[4] و فریدمن[5] در سال ۱۹۶۰ با کالبد شکافی‌های دقیق مراحل پیشرفت و گسترش آترواسکلروز و تشکیل لخته را شرح دادند. این متخصصین بحث شکاف خوردن پلاک آترواسکلروتیک را به عنوان عامل شروع روند تشکیل لخته مطرح کردند. بعدها محققین دریافتند که کنده شدن لایه اندوتلیوم از روی پلاک آترواسکلروتیک می‌تواند این روند را فعال کند (Strong, 1995).

۱-۱-٤- تئوری‌های مطرح شده در زمینه ایجاد آترواسکلروزیس

تئوری‌های مطرح شده بسیاری در زمینه ایجاد آترواسکلروزیس وجود دارد که برخی عباتند از:

۱-۱-٤-۱- Lipid hypothesis

این تئوری بیان می‌دارد که بین ایجاد آترواسکلروزیس و Hyperlipidemia یک رابطه وجود دارد. این تئوری تا سال ۱۹۷۰ غالب بود (Jensen *et al.*, 2009).

۱-۱-٤-۲- Response to injury hypothesis

این تئوری که توسط ویرشو ۱۵۰ سال قبل بیان شد بیان می‌دارد که آسیب به سلول‌های اندوتلیال باعث ایجاد فاکتورهای فیزیکی و شیمیایی گشته و با تخریب سلول‌های اندوتلیال باعث واضح شدن و پیدا شدن سطح ساب‌اندتلیوم می‌گردد. بیان

[1] . Edward Jenner
[2] . James Herrick
[3] . Constantinides
[4] . Chapman
[5] . Friedman

جدید این تئوری بدین شکل است که اندوتلیوم dysfunctional نه اندوتلیوم آسیب دیده، باعث شروع آترواسکلروزیس می‌گردند (Jensen *et al.*, 2009).

۱-۱-٤-۳- Monoclonal hypothesis

این تئوری که توسط بنیت[1] توضیح داده شد بیان می‌دارد که هر آترواسکلروزیس ناشی از تکثیر یک سلول ماهیچه صاف حول یک هسته می‌باشد. این تئوری آنالوگی از بدخیمی را ترسیم می‌نماید. بدین صورت که یک سلول غیرقابل کنترل در پاسخ به موتاسیون و یا ویروس، دچار تکثیر می‌گردد (Jensen *et al.*, 2009).

۱-۱-٤-٤- Clonal senescence hypothesis

این تئوری توسط ماتین و اسپاراگو[2] شرح داده شد. در این تئوری نیز بر تکثیر یک سلول ماهیچه صاف که توسط هورمون‌های بازدارندهٔ موضعی کنترل می‌گردد تاکید می‌شود (Jensen *et al.*, 2009).

۱-۱-٤-۵- فرضیه التهاب

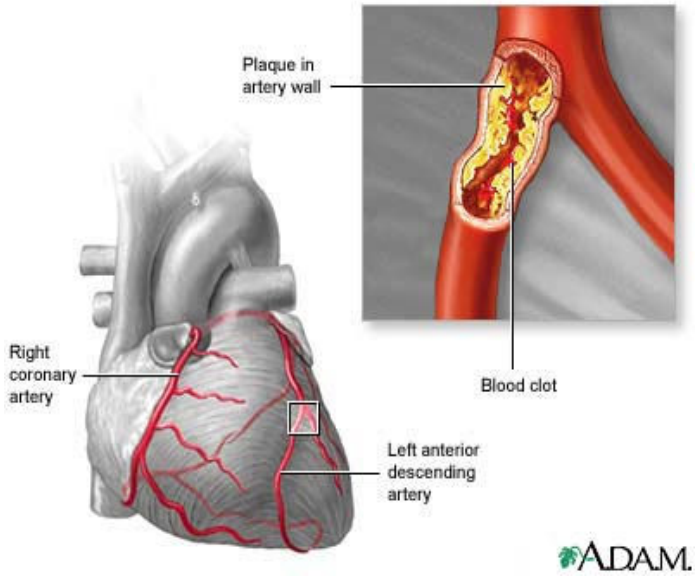
در دهه‌های گذشته مدارک کلینیکی و تجربی بیان می‌کنند که التهاب در دیواره عروق، نقش اساسی در شروع و پیشرفت آترواسکلروزیس بازی می‌کند. در نتیجه این دانسته‌ها، التهاب به عنوان یک هدف جهت پیشگیری و درمان آترواسکلروز و عوارض آن شناخته شده است (Jensen *et al.*, 2009).

۱-۲- پاتوفیزیولوژی آترواسکلروزیس

در کشورهای صنعتی، آترواسکلروزیس اغلب در چند دهه اول زندگی شروع می‌شود. به طوری که یکی از هر ۶ نوجوان ۱۹- ۱۳ ساله آمریکایی که به صورت اتفاقی می‌میرند دارای شواهد پاتولوژیک آترواسکلروز شریان‌های کرونر می‌باشند (Timmers *et al.*, 2008).

[1] . Benditt
[2] . Martin and Sprague

تجمع لیپوپروتئین‌ها، آسیب اندوتلیوم و التهاب از جمله فرآیندهای متعددی هستند که در شروع و پیشرفت آترواسکلروز سهیم می‌باشند. در مرحله ابتدایی آترواسکلروز، ذرات کوچک لیپوپروتئینی به اندوتلیوم رگ نفوذ نموده و در آنجا اکسید شده و در لایه انتیما[1] انباشته می‌گردند. این فرآیند در محل‌های آسیب اندوتلیوم تسریع می‌گردد. انباشته شدن لیپید در لایه انتیما باعث بیان مولکول‌های چسبیدگی (نظیر مولکول چسبیدگی داخل سلولی، سلکتین‌ها) موجود بر روی سطح لومینال (مجرایی) سلول‌های اندوتلیال شده و بدین وسیله این امکان را به آن‌ها می‌دهند که به مونوسیت‌های در گردش (نظیر ماکروفاژها) متصل شوند. مونوسیت‌هایی که قرار است به اندوتلیوم بچسبند در پاسخ به کموکاین‌ها و سایتوکاین‌های مترشحه از سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عضلانی صاف مدیای عروق در داخل لایه انتیمای عروق و در لابلای سلول‌های آندوتلیال جای می‌گیرند. مونوسیت‌های لایه انتیما با خوردن لیپوپروتئین‌ها به مونوسیت‌های انباشته از چربی یا سلول‌های کف آلود[2] تبدیل می‌شوند. تجمع این سلول‌های کف‌آلود، اولین شواهد قابل مشاهدهٔ آترواسکلروزیس یعنی، رگ‌های چربی را تشکیل می‌دهند. سلول‌های کف‌آلوده تکثیر یافته و با آزادسازی میانجی‌های پیش‌التهابی سبب تداوم فرآیند التهاب موضعی و در نتیجه پیشرفت ضایعه می‌شوند. به علاوه، سلول‌های کف‌آلود آنزیم‌هایی ترشح می‌کنند که سبب تخریب اندوتلیوم می‌شوند (Clilton, 2004).



شکل ۱-۱: تصویر شماتیک گرفتگی عروق کرونر

[1] . Intima
[2] . Foam cells