

## بررسی ارتباط ژن RANTES با بیماری عروق کرونری قلب

زهرا طاهری<sup>۱</sup>، مهسا محمد آملی<sup>۲</sup>، جواد توکلی بزاز<sup>۳\*</sup>، پروین امیری<sup>۴</sup>، محمد تاجمیر ریاحی<sup>۴</sup>، مریم خجسته فرد<sup>۲،۳</sup>، داریوش جاویدی<sup>۴</sup>

### چکیده

**مقدمه:** مطالعات قبلی مشخص کرده‌اند که RANTES در شکل‌گیری پلاک‌های آترواسکروز نقش دارد. همچنین پلی‌مورفیسم‌های ناحیه پروموتور ژن RANTES، با افزایش خطر آترواسکروزیس قلبی (CAD) در ارتباط می‌باشند. هدف از این مطالعه مقایسه میزان بیان mRNA ژن RANTES در بیماران با و بدون تنگی عروق کرونری قلب و همچنین ارتباط آن با پلی‌مورفیسم  $-403\text{G/A}$  در یک جمعیت ایرانی می‌باشد.

**روش‌ها:** این مطالعه بر روی ۳۱۹ بیمار که آنژیوگرافی قلبی عروقی شده بودند انجام شد که شامل بیماران با بیش از ۵۰ درصد تنگی عروق کرونری به عنوان گروه مورد ( $CAD^+$ ) به تعداد ۱۹۱ نفر و بیماران بدون تنگی عروق کرونری به عنوان کنترل ( $CAD^-$ ) که به تعداد ۱۲۸ نفر بودند. در هر گروه ۲۰ بیمار برای بیان mRNA ژن RANTES با استفاده از روش Real time PCR به طور کمی مورد بررسی قرار گرفتند. تعیین ژنوتیپ پلی‌مورفیسم  $-403\text{G/A}$  با به کار بردن تکنیک PCR-RFLP انجام شد. **یافته‌ها:** میزان بیان mRNA ژن RANTES به نسبت ۱/۳۷ برابر در بیماران  $CAD^+$  در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین مقایسه بیان mRNA ژن RANTES در بیماران با پلی‌مورفیسم‌های RANTES در ناحیه  $-403\text{G/A}$  نشان داد در بیمارانی که ژنوتیپ AA داشتند، بیان mRNA ژن RANTES، به نسبت ۱/۷۴ برابر در مقایسه با بیمارانی که ژنوتیپ GG داشتند و به نسبت ۱/۵۱ برابر در مقایسه با بیمارانی که ژنوتیپ GA داشتند، افزایش یافته بود. هیچ تفاوت معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم  $-403\text{G/A}$  ژن RANTES بین بیماران  $CAD^+$  در مقایسه با  $CAD^-$  مشاهده نشد.

**نتیجه‌گیری:** پلی‌مورفیسم ناحیه  $-403\text{G/A}$  ژن RANTES بر روی بیان این ژن در بیماران مبتلا به CAD موثر است. هر چند مطالعات بیشتری بر روی حجم نمونه بالاتر برای ارزیابی دقیق‌تر نقش RANTES در بیماری‌زایی CAD مورد نیاز می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** RANTES (تنظیم‌کننده روی فعالیت طبیعی بیان و ترشح Tcell)، CAD (بیماری قلبی-عروقی)، پلی‌مورفیسم  $-403\text{G/A}$  (چند شکلی  $-403\text{G/A}$ )

۱- واحد علوم و تحقیقات، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲- مرکز تحقیقات غدد/ پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- بخش ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- بخش جراحی، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\* **نشانی:** تهران، بلوار کشاورز، خیابان پورسینا، دپارتمان ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن:

۶۶۴۰۴۳۷۷، پست الکترونیک: tavakkolybazzazj@tums.ac.ir

## مقدمه

RANTES: (تنظیم کننده روی فعالیت طبیعی بیان و ترشح Tcell) به خانواده کموکاین‌های CC تعلق دارد. RANTES توسط  $CD_8^+$ Tcell، سلول‌های اپیتلیال، فیبروبلاست‌ها و پلاکت‌های خونی تولید می‌گردد. RANTES توزیع مجدد و لانه‌گزینی Tcell و مونوسیت‌ها در بافت‌های آسیب دیده را میانجی‌گری می‌نماید و همچنین روی دسته‌ای از دیگر سلول‌ها شامل بازوفیل‌ها و ائوزونوفیل‌ها و سلول‌های کشنده طبیعی و سلول‌های دندریتیک و ماست سل‌ها عمل می‌کند [۱]. افزایش بیان RANTES با طیف وسیعی از اختلالات التهابی در ارتباط است [۲]. آترواسکروزیس یک پروسه التهابی است که در نتیجه تعامل بین لوکوسیت‌ها و مولکول‌های چسبنده (Adhesion molecules) روی سلول‌های آندوتلیال به وجود می‌آید و در نهایت منجر به آسیب‌های جدار عروق می‌گردد [۳]. مشاهده شده، که ذرات LDL تغییر یافته، به عنوان القا کننده کموکاین‌ها در برخی سلول‌ها عمل می‌کنند، این مساله بیان کننده آن است که کموکاین‌ها به عنوان عامل ارتباطی بین اختلالات لیپیدی و مسیرهای التهابی در آترواسکروزیس مطرح می‌باشند [۴-۶]. مشاهدات قبلی نشانگر افزایش بیان RANTES در سلول‌های T درون پلاک‌های آتروسکروتیک و همچنین در لئوسیت‌ها، ماکروفاژها، سلول‌های آندوتلیال و سلول‌های ماهیچه‌ای صاف جدار رگ‌ها در انسان می‌باشند که تأییدی بر نقش آن در ایجاد و توسعه آترواسکروزیس می‌باشد [۷-۹].

در مطالعات متعددی افزایش بیان RANTES در زمان شکل‌گیری پلاک آترواسکروزیس گزارش شده است [۱۰]. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که RANTES نقش مهمی در دو فرایند مقدماتی ایجاد آترواسکروزیس ایفا می‌کند که شامل: جذب و فراخوانی لوکوسیت‌ها به سمت دیواره آندوتلیوم و سپس القاء لوکوسیت‌ها به تهاجم متعاقب در طول آندوتلیوم و به محل التهاب می‌باشد [۱۱، ۱۲]. ژن RANTES در ناحیه q11.2-q12 بر روی کروموزوم شماره ۱۷ قرار دارد [۱۳]. پلی‌مورفیسم دارای عملکرد (Functional) در ناحیه پروموتور (-۴۰۳) ژن RANTES با

طیف وسیعی از بیماری‌های ایمنی و التهابی ارتباط دارد [۱۴-۱۸].

با توجه به این که یافته‌های بحث‌انگیزی در رابطه با ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های مختلف پروموتور RANTES و CAD وجود دارد [۸، ۱۹]، هدف ما از این مطالعه این بود که میزان بیان ژن RANTES در بیماران با CAD ( $CAD^+$ ) را در مقایسه با بیماران بدون CAD ( $CAD^-$ ) بررسی کرده و همچنین ارتباط بین بیان ژن و پلی‌مورفیسم  $-403G/A$  ژن RANTES را در یک جمعیت ایرانی مورد مطالعه قرار دهیم.

## روش‌ها

این مطالعه بر روی ۳۱۹ بیمار که علت اصلی مراجعه آنها درد قفسه سینه بود و در همگی آنها آنژیوگرافی قلبی و عروقی در مرکز Cath lab بیمارستان شریعتی تهران انجام شده بود، اجرا شد. پس از گرفتن رضایت‌نامه کتبی، پرسش‌نامه اختصاصی برای همه بیماران که شامل سابقه درمانی برای بیماری‌های التهابی و بدخیمی‌ها بودند، تکمیل گردید. تشخیص اولیه به وسیله پزشک متخصص قلب و عروق صورت گرفته بود و همچنین آنژیوگرافی کرونری بر روی تمام بیماران انجام شده بود. ضایعات قابل توجه (Significant)، در بیمارانی که در هر ۳ سیستم عروق کرونری با انسداد بیش از ۵۰ درصد روبه رو بودند، آترواسکلروزیس شدید تعریف شد و بیمارانی که دارای بیش از ۵۰ درصد تنگی مجرا، اما فقط در یک و یا دو عروق کرونری اصلی بودند، از این مطالعه خارج شدند. بیمارانی که بر اساس نتایج آنژیوگرافی دارای رگ‌های طبیعی بدون تنگی بودند، به عنوان گروه کنترل ( $CAD^-$ ) طبقه‌بندی شدند [۲۰].

افراد با سابقه استفاده دارو برای فشار خون (هیپرتانسیون) و یا افراد دارای فشار خون متوسط شامل  $140/90$  mm/Hg  $\geq$ ، به عنوان افراد دارای فشار خون بالا گروه‌بندی شدند. دیابت [۲۱] و چربی خون بالا [۲۲] به ترتیب براساس معیارهای انجمن دیابت آمریکا (ADA) و (NCEP ATP) (iii) تشخیص داده شد.

طولیل شدن) و در مرحله گسترش نهایی c ۷۲۰ را برای مدت ۵ دقیقه متحمل شد تا عمل تکثیر نهایی انجام شود. محصولات PCR به وسیله آنزیم MaeIII در حجم نهایی ۱۵μl و با به کار بردن ۴ واحد از آنزیم MaeIII و ۵μl از محصول PCR مورد هضم واقع شد. این واکنش در دمای c ۵۵<sup>0</sup> برای مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. بعد از واکنش هضم آنزیمی، ال G با دو باند ۱۱۲bp و ۲۳bp از افراد دارای ال موتانت A با یک باند منفرد بدون برش ۱۳۵bp افتراق داده می‌شوند.

آنالیز بیان ژن RANTES بر روی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Fresh un-stimulated PBMCs) انجام شد. از ۵cc نمونه خون هر بیمار که در محیط دارای هپارین جمع‌آوری شده بود، با استفاده از شیب غلظت فایکول (۱/۰۶۶) جداسازی لنفوسیت‌ها انجام شد.

Total RNA با استفاده از محلول جداسازی Tripure (Roche) براساس پروتکل سازنده استخراج گردید. یک میلی‌گرم از RNA جدا شده از هر نمونه با استفاده از پرایمرهای راندوم هگزا نوکلئوتید ( hexanucleotides random)، تحت واکنش رونویسی معکوس ( reverse transcription) به cDNA تبدیل شد.

بررسی کمی Real time PCR با استفاده از کنترل داخلی HGH و با زوج پرایمرهایی به شرح ذیل انجام گرفت.

RANTES :  
Forward 5'-TGCTTATTCATTACAGATGTT-3'  
Reverse 5'-GCCTCAATTTACAGTGTG-3'  
HGH :  
Forward 5'-GCCTTCCCAACCATTCCTTA-3'  
Reverse 5'-TCACGGATTTCTGTTGTGTTTC-3'

### Real time PCR

همه واکنش‌ها در ۲۵μl ترکیب واکنشی که شامل مواد ذیل بود انجام شد:

cDNA ۲۵۰ ng

(سایبرگرین و مستر (PCR Rox (Real-Time™) (۱۲/۵ ml RT<sub>2</sub>) و همچنین زوج پرایمرها و آب (nuclease-free) لازم است تا حجم به ۲۵ μl برسد. (هر واکنش به صورت duplicate انجام گرفت).

شرایط سیکل دمایی به این صورت بود: یک مرحله c ۹۵<sup>0</sup> برای دو دقیقه برای فعال‌سازی آغازی پلیمرز، در ادامه ۳۹

همچنین اطلاعاتی از قبیل وضعیت مصرف سیگار، پیشینه برخی از اختلالات مانند آنفارکتوس میوکاردیال (MI) و یا بیماری قلبی عروقی زودرس (CHD) ثبت و جمع‌آوری شد. آنفارکتوس میوکاردیال (MI)، براساس تاریخچه درمانی و بر پایه معیارهای تعیین شده در سازمان بهداشت جهانی (WHO) به عنوان مثال نشانه‌های خاص بیماری، به همراه تغییرات الکتروکاردیوگرافی ویژه و یا افزایش آنزیم‌های قلبی با سابقه جراحی by past تایید شد [۲۰]. CHD زودرس بر پایه معیارهای (NCEP ATPIII) تعیین شد [۲۲]. سطوح BS و پروفایل لیپیدی برای همه بیماران با استفاده از دستگاه خود آنالیزور هیتاچی ۹۰۲ و کیت (پارس آزمون- ایران) تست شد. در هر گروه ۲۰ بیمار که از نظر سن و جنس و نمایه توده بدن (BMI)، همسان شده بودند، برای آنالیز میزان بیان ژن RANTES به طور تصادفی انتخاب شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران به تصویب رسید.

### استخراج DNA (تعیین ژنوتیپ)

DNA از افراد مورد و شاهد از خون لخته نشده که در لوله‌های حاوی EDTA (ضد انعقاد خون) جمع‌آوری شده بود با به کار بردن روش salting out استخراج شد. تعیین ژنوتیپ با استفاده از تکنیک PCR-PFLP اجرا شد [۲۳]. DNA ژنوتیپ با به کار بردن پرایمرهای ذیل تکثیر شد.

Forward 5'-GCC TCAATT TAC AGT GTG-3  
Reverse 5'-TGC TTA TTC ATT ACA GAT GTT -3  
واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵μl (میکرولیتر) شامل موارد ذیل انجام شد:

۱ × NH<sub>4</sub> بافر (Bioline)

۱/۵ mM Mg<sup>2+</sup>

۰/۲ mM dNTPs (Bioline)

از هر پرایمر ۶/۳ pmol

آنزیم پلیمرز Taq (Bioline) (U) واحد ۱

1 mM Betaine (Sigma)

سیکل‌های PCR به ترتیب شامل موارد زیر بودند:

c ۹۵<sup>0</sup> به مدت ۲ دقیقه و در ادامه ۳۵ سیکل شامل c ۹۵<sup>0</sup> برای ۴۰ ثانیه (برای واسرشتی دو رشته DNA)، c ۵۰<sup>0</sup> برای ۴۰ ثانیه (جهت اتصال پرایمر)، c ۷۲<sup>0</sup> برای ۴۰ ثانیه (جهت

مشخصات بالینی بیماران در هر دو گروه در جدول ۱ نشان داده شده است.

### مقایسه بیان ژن RANTES در بیماران CAD<sup>+</sup> و

#### CAD<sup>-</sup>

توزیع بهنجاری از بیان ژن RANTES در هر دو گروه بیماران CAD<sup>+</sup> و CAD<sup>-</sup> مشاهده شد (به ترتیب P=۰/۳ و P=۰/۴). بیان mRNA، ژن RANTES به نسبت ۱/۳۷ در بیماران CAD<sup>+</sup> در مقایسه با کنترلها افزایش پیدا کرده بود که از نظر آماری معنادار نبود. میزان بیان ژن، ۱/۰۷±۰/۸ در گروه کنترل و ۱/۳±۰/۹ در بیماران CAD<sup>+</sup> بود. (CI= -۲/۰-۱/۱، P=۱/۰ و ۹۵٪). (شکل ۱).

### تعیین درصد ژنوتیپها و اللهای پلی مورفیسم

#### CAD<sup>+</sup> ژن RANTES -۴۰۳G/A

##### در مقایسه با بیماران CAD<sup>-</sup>

در این مطالعه مشاهده شد که در بیماران دارای ژنوتیپ AA، بیان mRNA ژن RANTES به نسبت ۱/۷۴ در مقایسه با بیماران دارای ژنوتیپ GG، افزایش یافته بود (P=۰/۳ و CI= -۰/۸-۲/۴، ۹۵٪). در مقایسه با بیماران دارای ژنوتیپ GA را دارا بودند افزایش یافته بود (P=۰/۶ و CI= -۲/۲-۳/۴، ۹۵٪).

میانگین مقدار  $\Delta ct$  در بیمارانی که ژنوتیپ GG را حمل می کردند ۴/۱±۱/۱، و در بیمارانی که ژنوتیپ GA را حمل می کردند ۳/۹±۱/۷ و در بیمارانی که ژنوتیپ AA را حمل می کردند ۳/۳±۰/۲ بود (شکل ۲). هیچ اختلاف معنی داری برای فرکانس ژنوتیپی و اللی، پلی مورفیسم CAD<sup>-</sup> و CAD<sup>+</sup> بین بیماران RANTES یافت نشد. همچنین اختلاف معنی داری پس از تعدیل با سن، جنس، سابقه مصرف سیگار و دیابت یافت نشد (جدول ۲).

(GG vs GA+AA, P= ۰/۳, OR: ۰/۷, 95%CI= ۰/۴-1/3).

سیکل که شامل c ۹۵<sup>0</sup> برای ۴۰ ثانیه، c ۶۰<sup>0</sup> برای ۴۰ ثانیه و c ۷۲<sup>0</sup> برای ۴۰ ثانیه می باشد. سپس منحنی ذوب (melting curve) ایجاد می گردد که تایید کننده تکثیر اختصاصی ژن می باشد.

### تجزیه و تحلیل آماری

تمام یافته های آماری با کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۱۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ارتباط بین گروه های مختلف، اللها و یا ژنوتیپهای پلی مورفیسم ژن RANTES با استفاده از ضریب شانس (OR) و فاصله اطمینان ۰/۹۵ تخمین زده شد.

سطوحی از معناداری با به کار بردن جداول وابستگی (Contingency table) و به کمک آزمون Chi-square تعیین شد. آنالیز رگرسیون لجستیک برای adjust نمودن متغیرها انجام شد. سن، سابقه مصرف سیگار، دیابت و ژنوتیپ RANTES به عنوان متغیرهای مستقل در رگرسیون لجستیک در نظر گرفته شد. برای آنالیز نتایج مربوط به بررسی کمی بیان ژن، اطلاعات بدست آمده از بیان ژن RANTES با نتایج حاصل از HGH به عنوان ژن مرجع نرمال گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از روش  $2^{-\Delta\Delta CT}$  انجام شد و معناداری اختلافات برای بیان ژن بین گروه کنترل و گروه مورد به وسیله آزمون آماری T تخمین زده شد. طبیعی بودن داده ها برای توزیع متغیرها به وسیله آزمون Kolmogorov-smirnov تعیین شد و متوسط متغیرها با استفاده از میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شد و  $P \leq ۰/۰۵$  معنی دار محسوب گردید.

### یافته ها

از میان بیمارانی که در این مطالعه بررسی گردیدند، ۱۹۱ مورد به عنوان CAD<sup>+</sup> و ۱۲۸ مورد به عنوان CAD<sup>-</sup> شناخته شدند. سن افراد به ترتیب ۶۳±۸/۵ سال در گروه CAD<sup>+</sup> و در افراد CAD<sup>-</sup> ۵۵±۱۱ سال تعیین گردید.

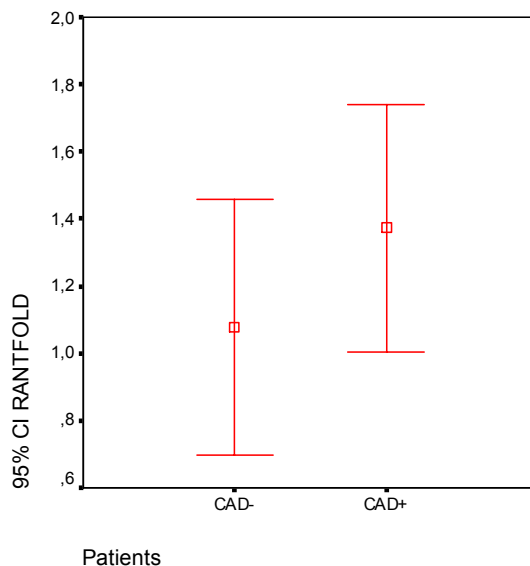
جدول ۱- مشخصات بالینی بیماران دارای CAD<sup>+</sup> و بدون CAD<sup>-</sup>

متغیرهای کیفی (n)(%)	دارای بیماری کرونر قلبی (CAD <sup>+</sup> )	بدون بیماری کرونر قلبی (CAD <sup>-</sup> )	مقدار P
جنس (مرد)	٪۶۰/۴	٪۶۸/۵	NS
سابقه مصرف سیگار	٪۳۳/۲	٪۲۴/۶	۰/۰۶
فشار خون بالا	٪۵۶	٪۴۶/۵	NS
دیابت ملیتوس	٪۴۱/۶	٪۱۶/۵	*۰/۰۰۱
هیپرلیپیدمی	٪۵۳/۴	٪۶۸	۰/۰۰۸
آنفارکتوس میوکارد	٪۵۴/۷	٪۰	*۰/۰۰۱
سابقه خانوادگی بیماری‌های قلبی و عروقی	٪۳۰/۶	٪۳۵/۸	NS

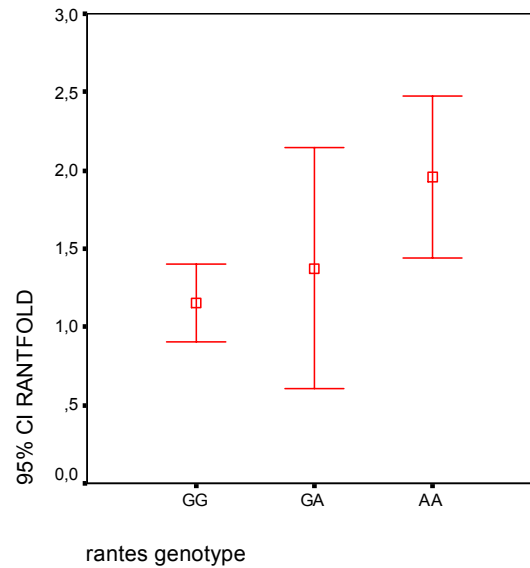
جدول ۲- فرکانس اللی و ژنوتیپی ۴۰۳- ژن RANTES در بیماران با و بدون CAD

ژنوتیپ RANTES	CAD- N(%) (۱۲۸)	CAD+ N(%) (۱۹۱)	مقدار P
GG	۷۴ (۵۷/۸٪)	۱۱۶ (۶۰/۷٪)	۰/۶
GA	۴۹ (۳۸/۳٪)	۶۱ (۳۱/۹٪)	۰/۲
AA	۵ (۳/۹٪)	۱۴ (۷/۳٪)	۰/۲
Allele			
G	۱۹۷ (۷۶/۹٪)	۲۹۳ (۷۶/۷٪)	۰/۹
A	۵۹ (۲۳٪)	۸۹ (۲۳/۲٪)	

هیچ تفاوت معناداری بین فرکانس ژنوتیپی و آلی با کاربرد تست Chi-square مشاهده نشد.



نمودار ۱- نشانگر، میانگین  $\pm$  انحراف بیان mRNA ژن RANTES در بیماران با CAD در مقایسه با بیماران بدون CAD می‌باشد.  
(P=۰/۱، ٪۹۵ CI= -۰/۲-۱/۱)



نمودار ۲- نشانگر میانگین  $\pm$  انحراف معیار میزان بیان mRNA ژن RANTES در بیمارانی که دارای ژنوتیپ‌های AA و GA و GG می‌باشند و افزایش در بیان mRNA ژن RANTES در بیمارانی که آلل A را حمل می‌کنند در مقایسه با بیمارانی که آلل G را حمل می‌کنند نشان می‌دهد.

## بحث

و درمانی به شمار می‌رود، هر چند لازم است آزمایشات بیشتری در آینده انجام شود تا این یافته به تایید نهایی برسد. اگرچه تغییرات معنی‌داری در میزان بیان ژن RANTES مشاهده نشد که این امر ممکن است به علت تعداد محدود افراد مورد مطالعه و یا به علت تاثیر پلی‌مورفیسم‌های دارای عملکرد دیگری که در ناحیه پروموتری RANTES وجود دارد، از جمله پلی‌مورفیسم G/A ۴۰۳-۲۸G/C باشد که باید در کنار پلی‌مورفیسم G/A ۴۰۳- در حجم بالاتری از نمونه‌ها مورد مطالعه قرار گیرد.

همچنین به دلیل نقش RANTES در بیماری دیابت، مطالعات بیشتر در مورد میزان بیان ژن RANTES در بیماران دچار آترواسکلروزیس با و بدون بیماری دیابت جهت تعیین دقیق نقش RANTES به عنوان یک بیومارکر پیشگویی کننده آترواسکلروزیس بسیار سودمند خواهد بود. بررسی بیان رسپتورهای RANTES واقع در سطح سلول‌ها شامل CCR<sub>5</sub> در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی PBMC در بیماران با CAD<sup>+</sup> در مقایسه با افراد طبیعی نیز باید مورد بررسی قرار گیرد.

در مطالعه ما فراوانی پلی‌مورفیسم ژن RANTES در موقعیت ۴۰۳- بین بیماران و گروه کنترل به یک میزان توزیع شده بود، بنابراین ارتباطی در این زمینه وجود

افزایش بیان ژن RANTES با موارد متعددی از اختلالات التهابی و شرایط پاتولوژیکی شامل رد پیوند آلورژیک، آترواسکلروزیس، آرتریت مفصلی (arthritis)، ورم جلدی آتوپیک، اختلالات التهابی راه‌های هوایی مثل آسم، واکنش حساسیت شدید نوع تاخیری، گلومرونفریت، آندومتروزیس و برخی از اختلالات نرولوژیک مثل بیماری آلزایمر و بدخیمی‌ها در ارتباط بوده است. در همه اینها به نظر می‌رسد که RANTES با سازوکار افزایش نفوذ لوکوسیت‌ها به جایگاه التهاب عمل می‌کند [۲].

در این مطالعه مشاهده گردید که بیان mRNA ژن RANTES در بیماران با CAD<sup>+</sup>، در مقایسه با بیماران بدون CAD<sup>-</sup> افزایش می‌یابد که از نظر آماری معنی‌دار نیست. در هر حال، این امر تا حدودی نشان دهنده تاثیر RANTES به عنوان یک بیومارکر در تسریع آترواسکلروزیس می‌باشد. همچنین در این مطالعه آلل A ۴۰۳- ژن RANTES با افزایش میزان بیان mRNA ژن RANTES در ارتباط بود که این امر مطالعات قبلی را تایید می‌کند [۱۴، ۱۵]. این افزایش بیان ژن RANTES در بیماران CAD<sup>+</sup> یافته مهمی جهت استراتژی‌های تشخیصی

پایین RANTES ممکن است با پیشرفت بیماری آترواسکلروزیس، مخصوصاً در افرادی که فاقد سندرم حاد قلبی‌اند و همچنین در بیماران دیابتی در ارتباط باشد [۴،۲۵].

بنابراین اختلافات مشاهده شده در ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن RANTES و احتمال خطر CAD در مطالعات گوناگون، ممکن است تا اندازه‌ای به دلیل اختلاف در فنوتیپ‌های بیماران در این مطالعات باشد. مطالعات بیشتری بر روی جمعیت با تظاهرات بالینی تعریف شده و در حجم نمونه بیشتر، از یک جمعیت مشخص، برای انجام تحقیقات کامل جهت بررسی نقش ژن RANTES در بیماری CAD مورد نیاز می‌باشد.

### سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاسگزاری خود را از پژوهشکده غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران که با حمایت مالی و امکانات آزمایشگاهی انجام این پژوهش را میسر نمودند، ابراز می‌دارند.

نداشت. تعداد نمونه‌ها در این مطالعه محدود بود لذا این امر ممکن است باعث کاهش قدرت مطالعه در یافتن ارتباط معنادار بین پلی‌مورفیسم ژن RANTES و CAD در جمعیت ما شده باشد.

با توجه به این که تفاوت معناداری بین بیماران و گروه کنترل از نظر یافته‌های بالینی و فنوتیپ‌های گوناگون موجود است بنابراین تفسیر این امر نیاز به دقت بیشتری دارد. مطالعات محدودی در زمینه ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن RANTES و CAD انجام شده که نتایج حاصل از آنها نیز کمابیش متضاد بوده است [۱۹].

Simeoni و همکاران ارتباط بین الل A -۴۰۳- ژن RANTES و CAD را مشاهده نمودند که مستقل از عوامل خطرزای دیگر بیماری بود [۸].

با این وجود در مطالعه دیگری که در بین مردان کره‌ای انجام شد، الل -۴۰۳A-، ژن RANTES با کاهش خطر CAD در ارتباط بود. هر چند چنین ارتباطی در بیمارانی که داروهای کاهنده لیپید را مصرف کرده بودند، یافت نشد [۱۱].

در مطالعه‌ای که اخیراً در اسلوانی انجام شد ارتباطی بین پلی‌مورفیسم 403- ژن RANTES با بیماری MI یافت نشد [۲۴]. در برخی مطالعات مشاهده شده است که سطوح

### مأخذ

- Schall TJ. Biology of the RANTES/SIS cytokine family. *Cytokine* 1991; 3:165-83.
- Appay V, Rowland-Jones SL. RANTES: a versatile and controversial chemokine. *Trends Immunol* 2001; 22:83-7.
- Hansson GK. Immune mechanisms in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(12):1876-90.
- Aukrust P, Halvorsen B, Yndestad A, Ueland T, Øie E, Otterdal K, Gullestad L, Damås JK. Chemokines and cardiovascular risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(11):1909-19.
- Cushing SD, Berliner JA, Valente AJ, Territo MC, Navab M, Parhami F, Gerrity R, Schwartz CJ, Fogelman AM. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990; 87(13):5134-8.
- Terkeltaub R, Banka CL, Solan J, Santoro D, Brand K, Curtiss LK. Oxidized LDL induces monocytic cell expression of interleukin-8, a chemokine with T-lymphocyte chemotactic activity. *Arterioscler Thromb* 1994; 14(1):47-53.
- Reape TJ, Groot PH. Chemokines and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999; 147(2):213-25.
- Simeoni E, Winkelmann BR, Hoffmann MM, Fleury S, Ruiz J, Kappenberger L, März W, Vassalli G. Association of RANTES G-403A gene polymorphism with increased risk of coronary arteriosclerosis. *Eur Heart J* 2004; 25(16):1438-46.
- Pattison JM, Nelson PJ, Huie P, Sibley RK, Krensky AM. RANTES chemokine expression in transplant-associated accelerated atherosclerosis. *J Heart Lung Transplant* 1996; 15(12):1194-9.
- Wilcox JN, Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, Schall TJ. Local expression of inflammatory cytokines in human atherosclerotic plaques. *J Atheroscler Thromb. Suppl* 1994; 1:S10-3.
- Jang Y, Chae JS, Hyun YJ, Koh SJ, Kim JY, Ko MJ, Rim SJ, Shin HJ, Ordovas JM, Lee JH. The RANTES -403G>A promoter polymorphism in Korean men: association with serum RANTES

- concentration and coronary artery disease. *Clin Sci (Lond)* 2007; 113(8):349-56.
- 12- Veillard NR, Kwak B, Pelli G, Mulhaupt F, James RW, Proudfoot AE, Mach F. Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. *Circ Res* 2004; 94(2): 253-61.
  - 13- Donlon TA, Krensky AM, Wallace MR, Collins FS, Lovett M, Clayberger C. Localization of a human T-cell-specific gene, RANTES (D17S136E), to chromosome 17q11.2-q12. *Genomics* 1990; 6:548-53.
  - 14- McDermott DH, Beecroft MJ, Kleeberger CA, Al-Sharif FM, Ollier WE, Zimmerman PA, Boatman BA, Leitman SF, Detels R, Hajeer AH, Murphy PM. Chemokine RANTES promoter polymorphism affects risk of both HIV infection and disease progression in the Multicenter AIDS Cohort Study. *AIDS* 2000; 14(17):2671-8.
  - 15- Nickel RG, Casolaro V, Wahn U, Beyer K, Barnes KC, Plunkett BS, Freidhoff LR, Sengler C, Plitt JR, Schleimer RP, Caraballo L, Naidu RP, Levett PN, Beaty TH, Huang SK. Atopic dermatitis is associated with a functional mutation in the promoter of the C-C chemokine RANTES. *J Immunol* 2000; 164(3):1612-6.
  - 16- Amoli MM, Miranda-Fillooy JA, Vazquez-Rodriguez TR, Ollier WE, Gonzalez-Gay MA. Regulated upon activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES) and epithelial cell-derived neutrophil-activating peptide (ENA-78) gene polymorphisms in patients with biopsy-proven erythema nodosum. *Clin Exp Rheumatol* 2009; 27(1 Suppl 52): S142-3.
  - 17- Fryer AA, Spiteri MA, Bianco A, Hepple M, Jones PW, Strange RC, Makki R, Tavernier G, Smilie FI, Custovic A, Woodcock AA, Ollier WE, Hajeer AH. The -403 G-->A promoter polymorphism in the RANTES gene is associated with atopy and asthma. *Genes Immun* 2000; 1(8):509-14.
  - 18- Nakajima K, Tanaka Y, Nomiya T, Ogihara T, Ikeda F, Kanno R, Iwashita N, Sakai K, Watada H, Onuma T, Kawamori R. RANTES promoter genotype is associated with diabetic nephropathy in type 2 diabetic subjects. *Diabetes Care* 2003; 26(3):892-8.
  - 19- Vogiatzi K, Voudris V, Apostolakis S, Kochiadakis GE, Thomopoulou S, Zaravinos A, Spandidos DA. Genetic diversity of RANTES gene promoter and susceptibility to coronary artery disease and restenosis after percutaneous coronary intervention. *Thromb Res* 2009; 124(1):84-9.
  - 20- Rose G, Blackburn H. WHO Monograph series: Cardiovascular Survey Methods. Geneva. *World Health Org* 1982.
  - 21- Genuth S, Alberti KG, Bennett P, Buse J, Defronzo R, Kahn R, et al. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Follow-up report on the diagnosis of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26(11): 3160-7.
  - 22- Antonopoulos S. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III) final report. *Circulation* 2002; 106: 3143-421.
  - 23- Hajeer AH, al Sharif F, Ollier WE. A polymorphism at position -403 in the human RANTES promoter. *Eur J Immunogenet* 1999; 26(5): 375-6.
  - 24- Tereshchenko IP, Petrkova J, Voevoda MI, Taborsky M, Navratilova Z, Romaschenko AG, Maksimov VN, Mrazek F, Petrek M. CCL5/RANTES gene polymorphisms in Slavonic patients with myocardial infarction. *Mediators Inflamm* 2011; Epub 2011 Mar 29.
  - 25- Rothenbacher D, Muller-Scholze S, Herder C, Koenig W, Kolb H. Differential expression of chemokines, risk of stable coronary heart disease, and correlation with established cardiovascular risk markers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 26:194-199.