

Association between *MTHFR* Gene Polymorphism (C677T) and Coronary Artery Disease

Soheyla Golchin¹,
Akbar Hedayatizadeh-Omran²,
Reza Alizadeh-Navaei²,
Vahid Mokhberi³,
Versa Omrani-Nava⁴,
Omolbanin Amjadi⁵,
Mohammad Mahmoud-babouei⁶

¹ MSc in Immunology, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Assistant Professor, Cardiovascular Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ MSc in Immunology, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ MSc in Molecular and Cell biology, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁶ Medical Student, Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received September 4, 2018 ; Accepted December 19, 2018)

Abstract

Background and purpose: Coronary artery disease (CAD) is a complex disease that is caused by both environmental and genetic factors. Methylene tetrahydrofolate reductase (*MTHFR*) enzyme is associated with metabolism of homocysteine and its impaired function is considered as a risk factor for developing CAD. Some variants are involved in decreased activity of *MTHFR* and its deficiency. The polymorphism of C677T (rs1801133) seems to be a significant variant that is related with CAD. The purpose of this study was to determine the relationship between *MTHFR* C677T gene polymorphism and susceptibility of CAD.

Materials and methods: This case-control study was performed in 71 patients with coronary artery disease and 71 healthy subjects (control group). Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method was used to genotype *MTHFR* polymorphism.

Results: The mean ages of subjects in case and control groups were 58.2±8.9 and 46±13.9 years, respectively (P= 0.0000). The case group included 37 (52.1%) males and 34 (47.9%) females. In control group, there were 38 (53.5%) males and 33 (46.5%) females. The frequency of CC, CT, and TT genotypes in C677T polymorphisms was 59.2%, 35.2%, and 5.6%, in CAD patients and 62%, 32.4%, and 5.4%, in controls, respectively. The results indicated no significant differences between the cases and controls (p= 0.937). The frequency of T allele was 40.8% in cases and 38% in controls which also showed no significant difference between the two groups (P= 0.864).

Conclusion: Current study found no relationship between *MTHFR* C677T gene polymorphism and CAD. However, further studies in larger population are recommended to achieve better understanding of this relationship.

Keywords: *MTHFR* polymorphism, Coronary Artery Disease, C677T Variant

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (168): 50-58 (Persian).

Corresponding Author: Akbar Hedayatizadeh-Omran- Gastrointestinal Cancer Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran (Email: akbar_hedayati@yahoo.com)

ارتباط پلی مورفیسم [C677T] ژن MTHFR با بیماری عروق کرونری

سهیلا گلچین^۱
اکبر هدایتی زاده عمران^۲
رضا علیزاده نوایی^۲
وحید مخبری^۳
ورسا عمرانی نوا^۴
ام البنین امجدی^۵
محمد محمود بابویی^۶

چکیده

سابقه و هدف: بیماری عروق کرونری (Coronary Artery Disease = CAD) بیماری پیچیده‌ای است که در نتیجه ترکیبی از عوامل محیطی و ژنتیکی بروز می‌یابد. آنزیم متیلن ترا هیدروفولات ردوکتاز (*MTHFR*) یک آنزیم مهم در متابولیسم هموسیستین و بروز بیماری‌های قلبی می‌باشد. پلی مورفیسم C677T این آنزیم در کاهش فعالیت این آنزیم و عملکرد ناقص آن نقش دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* و استعداد ابتلا به بیماری CAD می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۷۱ بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونر و ۷۱ نفر بدون سابقه‌ی بیماری قلبی به‌عنوان شاهد انجام گرفت. جهت تعیین نوع پلی مورفیسم از روش PCR-RFLP استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین سنی افراد در گروه مورد و شاهد به ترتیب $58/2 \pm 8/9$ و $46 \pm 13/9$ سال بود ($p = 0/0000$). در گروه مورد ۳۷ نفر (۵۲/۱ درصد) مرد و ۳۴ نفر (۴۷/۹ درصد) زن و در گروه کنترل ۳۸ نفر (۵۳/۵ درصد) مرد و ۳۳ نفر (۴۶/۵ درصد) زن بودند. فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CT و TT پلی مورفیسم C677T در بیماران مبتلا به CAD به ترتیب ۵۹/۲، ۳۵/۲ و ۵/۶ درصد و در گروه کنترل ۶۲، ۳۲، ۴ و ۵/۴ درصد بود و اختلاف معنی داری بین دو گروه وجود نداشت ($p = 0/۹۳۷$) و هم چنین فراوانی آلل T در گروه مورد ۴۰/۸ و در گروه کنترل ۳۸ درصد به دست آمد که هیچ اختلاف معنی داری بین این دو گروه مشاهده نشد ($p = 0/۸۶۴$).

استنتاج: ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* و استعداد ابتلا به CAD مشاهده نشد. پیشنهاد می‌گردد که مطالعات دیگری در آینده در گروه‌های جمعیتی بزرگ تر انجام پذیرد.

واژه‌های کلیدی: پلی مورفیسم *MTHFR*، عروق شریان کرونری (CAD)، واریانت C677T

مقدمه

بیماری‌های عروق کرونری
مرگ و میر در جوامع انسانی است (۲۰۱). متاسفانه CAD شیوع بالایی در کشورهای غربی و هم‌چنین کشورهای

E-mail: akbar_hedayati@yahoo.com

مؤلف مسئول: اکبر هدایتی زاده عمران - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده پزشکی

۱. کارشناس ارشد ایمنولوژی، مرکز تحقیقات سرطان گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات سرطان دستگاه گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. استادیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. کارشناس ارشد ایمنولوژی، مرکز تحقیقات سرطان گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. کارشناس ارشد بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات سرطان گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. دانشجوی پزشکی، مرکز تحقیقات سرطان گوارش، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۱۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۷/۶/۱۸ تاریخ تصویب: ۱۳۹۷/۹/۲۸

الزهراء ساری (بزرگ ترین مرکز ریفرال قلب مازندران) بوده که یک گروه آن بر اساس داده های حاصل از آنژیوگرافی بیماران مبتلا به CAD بوده و گروه دیگر (شاهد) بیماران مراجعه کننده به بیمارستان بدون سابقه بیماری قلبی و عروقی می باشند. در مجموع تعداد ۱۴۲ نفر واجد شرایط (۷۱ نفر بیمار و ۷۱ نفر شاهد) وارد مطالعه شدند. ابتدا همسان سازی جنسیتی انجام و سپس کلیه اطلاعات جمعیت مورد مطالعه شامل سن، جنس، یافته های آزمایشگاهی، یافته های بالینی، آنژیوگرافی و اکوکاردیوگرافی بیماران بر اساس چک لیست مربوطه جمع آوری شد. پس از تصویب طرح در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران (IR.MAZUMS.IMAMHOSPITAL.REC.1397.2814) و اخذ رضایت کتبی از همه افراد مطالعه، تمامی بیماران مورد و شاهد با روش های استاندارد Judkins تحت آنژیوگرافی و با روش استاندارد مربوطه تحت اکوکاردیوگرافی قرار گرفتند. بر حسب میزان EF (Ejection Fraction) در اکوکاردیوگرافی میزان نارسایی قلبی مشخص شد. پس از انتخاب نهایی بیماران و افراد کنترل، ۵ سی سی خون محیطی از افراد در لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA جمع آوری و بخش بافی کوت آن برای استخراج DNA جداسازی شد. جهت بررسی پلی مورفیسم ژن مورد نظر، DNA ژنومیک در تمام نمونه های بافی کوت با استفاده از کیت استخراج DNA به روش ستونی جداسازی و در فریزر منفی ۸۰ ذخیره شد. در مرحله بعد جهت بررسی پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی C677T ژن MTHFR بین بیماران CAD و گروه کنترل، با استفاده از روش PCR-RFLP به کمک پرایمرهای اشاره شده در جدول شماره ۱ تحت واکنش تکثیر قرار گرفت. واکنش تکثیر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر حاوی ۲۰۰ نانوگرم از DNA جدا شده از هر نمونه، ۱۵ پیکومول از هر کدام از پرایمرها و ۰/۲ واحد آنزیم Taq DNA polymerase صورت گرفت. سپس محصول تکثیر یافته PCR، تحت شرایط هضم

در حال توسعه دارد و سبب اتلاف سرمایه های انسانی و مادی فراوان شده است. این در حالی است که طی بیست و پنج سال گذشته کاهش چشمگیری در مرگ و میر ناشی از CAD در کشورهای صنعتی و پیشرفته ایجاد شده است که علت عمده آن را می توان شناخت بهتر عوامل مستعد کننده این بیماری ها دانست. در ایران نیز CAD در سال های اخیر سیر صعودی داشته تا جایی که ۳۸ درصد از علل مرگ و میر را به خود اختصاص می دهد (۴،۳). مطالعات نشان می دهد علاوه بر عوامل محیطی مستعد کننده بیماری های عروقی مانند مصرف دخانیات، فشارخون، هایپرکلسترولمی، دیابت و چاقی؛ عوامل ژنتیکی نیز می تواند در استعداد ابتلا به CAD نقش مهمی ایفا کنند (۴). اخیرا رابطه احتمالی بین پلی مورفیسم ژن MTHFR و آترواسکلروز و بیماری های قلبی مورد توجه قرار گرفته است. آنزیم متیلن تترا هیدرو فولات ردوکتاز (MTHFR) نقش مهمی در تبدیل هوموسیستین به متیونین دارد، در نتیجه تغییر در فعالیت این آنزیم با تغییر میزان هوموسیستین به عنوان یک ریسک فاکتور ژنتیکی می تواند در بروز بیماری کرونری نقش داشته باشد. جایگزینی باز C به T در موقعیت ۶۷۷ ژن MTHFR موجب تبدیل اسید آمینه آلانین به والین و در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم و متعاقبا کاهش غلظت پلاسمایی فولات می گردد (۵-۸). در کشور ما مطالعات محدودی در ارتباط با تاثیر پلی مورفیسم C677T (rs1801133) ژن MTHFR با CAD وجود دارد، بنابراین با توجه به اهمیت CAD در جامعه، این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن MTHFR با استعداد ابتلا به بیماری CAD انجام شد.

مواد و روش ها

این مطالعه مورد-شاهدی جهت تعیین ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR با CAD در دو گروه مبتلا به CAD و گروه شاهد سالم انجام شد. جمعیت مورد مطالعه بیماران مراجعه کننده به بیمارستان فاطمه

مبتلا به فشار خون، ۴۲/۳ درصد مبتلا به هایپرلیپیدمی و ۲۲/۵ درصد سیگاری بودند و ۶۲ درصد بیماران Ejection fraction زیر مقادیر نرمال داشتند (جدول شماره ۲). توزیع پلی مورفیسم ژن *MTHFR* در بیماران مبتلا به بیماری CAD و گروه کنترل (جدول شماره ۳) نشان داد که، آلل T در ۴۰/۸ درصد گروه مورد و ۳۸ درصد گروه کنترل وجود داشت و اختلاف معنی داری بین دو گروه در این مورد وجود نداشت ($p=0/864$). هم چنین مقایسه ژنوتیپی حاکی از آن بود که ۵/۶ درصد افراد از هر دو گروه دارای ژنوتیپ هموزیگوت TT و ۳۵/۲ درصد بیماران و ۳۲/۴ درصد گروه کنترل ژنوتیپ هتروزیگوت CT داشتند که اختلاف معنی داری نداشتند ($p=0/937$). ارتباط پلی مورفیسم ژن *MTHFR* به صورت آنالیز تک متغیره (جدول شماره ۴) و آنالیز چند متغیره (جدول شماره ۵) در بیماران مبتلا به بیماری CAD با برخی پارامترهای مربوط به بیماری نشان داد که، رابطه معنی داری بین جنسیت ($p=0/131$)، دیابت ($p=0/635$)، سیگار کشیدن ($p=0/495$)، پرفشاری خون ($p=0/493$)، هایپرلیپیدمی ($p=0/398$) و Ejection fraction غیر نرمال ($p=0/671$) با ژنوتیپ *MTHFR* وجود ندارد. هم چنین تصویر شماره ۱ نتایج محصولات حاصل از تکثیر PCR ژن *MTHFR* را بر روی ژل آگارز ۳ درصد و هضم آنزیمی آنزیم محدود کننده *HinfI* را نشان می دهد.

آنزیمی با ۱ میکرولیتر آنزیم اندونوکلئاز *HinfI* در شرایط دمایی ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و محصول نهایی هضم شده بر روی ژل آگارز ۳ درصد در بافر TBE (Tris- Borate-EDTA) به مدت ۵۰ دقیقه با ولتاژ ۴۵ ولت الکتروفورز شد. پس از الکتروفورز، تصویر باندهای ژنی در دستگاه Gel Documentation تحت اشعه UV مشاهده شد و مورد ارزیابی قرار گرفت.

جدول شماره ۱: توالی پرایمر، آنزیم مورد استفاده و طول محصول

تکثیر شده	طول محصول (جفت باز)	آنزیم	پرایمر (3' → 5')
۱۹۸	<i>HinfI</i>	E: TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA	
		R: AGGACGGTGGCGTGAGAGT	

آنالیز آماری

پس از جمع آوری اطلاعات، داده ها توسط نرم افزار SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای توصیف اطلاعات از شاخص های مرکزی و پراکنندگی استفاده شد و جهت بررسی داده های کیفی از آزمون chi-square و رگرسیون لجستیک و t-test استفاده شد. برای همه تست ها $p < 0/05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

این مطالعه یک مطالعه مورد-شاهدی است که بر روی ۷۱ بیمار مبتلا به CAD به عنوان گروه مورد و ۷۱ فرد غیر مبتلا به عنوان گروه کنترل انجام شد. میانگین سنی افراد در گروه مورد و شاهد به ترتیب $58/2 \pm 8/9$ و $46 \pm 13/9$ سال بود ($p=0/000$). در گروه مورد ۳۷ نفر (۵۲/۱ درصد) مرد و ۳۴ نفر (۴۷/۹ درصد) زن و در گروه کنترل ۳۸ نفر (۵۳/۵ درصد) مرد و ۳۳ نفر (۴۶/۵ درصد) زن بودند که توزیع جنسیتی بین دو گروه اختلاف معنی داری نداشت ($p=0/867$). از میان بیماران ۵۰/۷ درصد مبتلا به دیابت، ۵۰/۷ درصد

جدول شماره ۲: خصوصیات نمونه های مورد بررسی در گروه مورد

متغیر	فراوانی	تعداد (درصد)
دیابت	بلی	۳۶ (۵۰/۷)
	خیر	۳۵ (۴۹/۳)
سیگار کشیدن	بلی	۱۶ (۲۲/۵)
	خیر	۵۵ (۷۷/۵)
فشار خون	بلی	۳۶ (۵۰/۷)
	خیر	۳۵ (۴۹/۳)
هایپرلیپیدمی	بلی	۳۰ (۴۲/۳)
	خیر	۴۱ (۵۷/۷)
Ejection fraction	< ۵۵ غیر نرمال	۴۴ (۶۲/۰)
	≥ ۵۵ نرمال	۲۷ (۳۸/۰)

بحث

بیماری‌های قلبی عروقی عموماً تحت تاثیر فاکتورهای محیطی و ژنتیکی می‌باشند. فاکتورهای ژنتیکی می‌تواند استعداد ابتلا به بیماری را از طریق تغییرات آللی و در نهایت تغییر عملکرد پروتئین تحت تاثیر قرار دهد. بنابراین تغییرات آللی و پلی مورفیسم‌های ژنی مربوط به بیماری‌های قلبی و عروقی، می‌تواند در تعیین افراد مستعد به این بیماری‌ها کمک کند (۹). برای تشخیص پلی مورفیسم‌های ژن *MTHFR* حدود ۳۰ روش مختلف گزارش شده است. این روش‌ها به طور گسترده‌ای می‌تواند به چهار دسته تقسیم شود که می‌تواند به PCR/RFLP، PCR اختصاصی آلل، آزمایشات Hetroduplex و Real Time PCR مبتنی بر پروب‌های ایمونوفلورسانس اشاره کرد (۱۰). برای شناسایی جهش‌های شناخته شده از روش‌های Allele-specific oligonucleotide (ASO)، RFLP و ARMS استفاده می‌شود (۱۱). بنابراین با توجه به امکانات موجود، در این مطالعه از تکنیک PCR/RFLP جهت شناسایی پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* استفاده شد. این پلی مورفیسم با سطح بالای هموسیستین (هیپر هموسیستینمی) سرم و متعاقباً خطر سکنه ارتباط دارد (۱۲، ۱۳). هیپر هموسیستینمی سبب اختلال در عملکرد اندوتلیال شریان‌ها و پیشرفت اولیه آترواسکلروز می‌شود (۱۳)؛ همچنین هموسیستین در افزایش سطح آنیون سوپراکسید، تجمع پلاکت‌ها و کاهش قابلیت ذخیره زیستی نیتریک اکسید نقش دارد. به این ترتیب سطح بالای هموسیستین سرمی یکی از ریسک فاکتورهای ترومبوز و ریدی و شریانی شناخته می‌شود (۱۴). اگرچه هنوز در ارتباط بین پلی مورفیسم *MTHFR* و افزایش هموسیستین و خطر استعداد ابتلا به CAD اختلاف نظر وجود دارد؛ برخی مطالعات نشان دادند که بین ژنوتیپ TT و افزایش هموسیستین ارتباط وجود داشته (۱۵)، و از طرف دیگر در برخی مطالعات این ارتباط دیده نشده است (۱۶، ۱۷). مطالعه حاضر بین دو

جدول شماره ۳: توزیع پلی مورفیسم ژن *MTHFR* در بیماران مبتلا به بیماری CAD و گروه کنترل

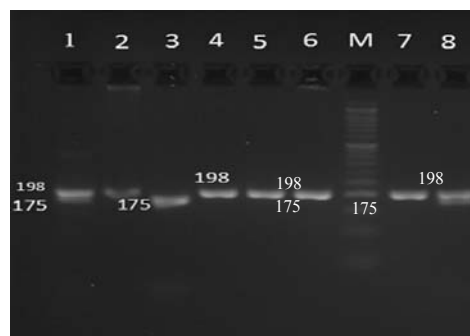
معنی داری	گروه کنترل (N=71)		گروه مورد (N=71)	
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
آلل				
C	۶۷ (۹۴٫۴)	۶۷ (۹۴٫۴)		
T	۲۷ (۳۸٫۰)	۲۹ (۴۰٫۸)		
CC	۴۴ (۶۲٫۰)	۴۴ (۵۹٫۲)		
CT	۲۳ (۳۲٫۴)	۲۵ (۳۵٫۲)		
TT	۴ (۵٫۶)	۴ (۵٫۶)		

جدول شماره ۴: ارتباط پلی مورفیسم ژن *MTHFR* در بیماران مبتلا به بیماری CAD با برخی پارامترهای مربوط به بیماری

معنی داری	CC (N=42)		CT/TT (N=29)	
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
دیابت				
بلی	۲۱ (۵۰٫۰)	۱۵ (۵۱٫۷)		
خیر	۲۱ (۵۰٫۰)	۱۴ (۴۸٫۳)		
سیگار کشیدن				
بلی	۱۰ (۲۳٫۸)	۶ (۲۰٫۷)		
خیر	۳۲ (۷۶٫۲)	۲۳ (۷۹٫۳)		
فشار خون				
بلی	۱۹ (۴۵٫۲)	۱۷ (۵۸٫۶)		
خیر	۲۳ (۵۴٫۸)	۱۲ (۴۱٫۴)		
هیپرلیپیدی				
بلی	۱۶ (۳۸٫۱)	۱۴ (۴۸٫۳)		
خیر	۲۶ (۶۱٫۹)	۱۵ (۵۱٫۷)		
Ejection fraction				
<۵۵ غیر نرمال	۲۶ (۶۱٫۹)	۱۸ (۶۲٫۱)		
≥۵۵ نرمال	۱۶ (۳۸٫۱)	۱۱ (۳۷٫۹)		

جدول شماره ۵: نتایج رگرسیون لجستیک ارتباط پلی مورفیسم ژن *MTHFR* در بیماران مبتلا به بیماری CAD با برخی پارامترهای مربوط به بیماری

متغیر	B	S.E.	Sig.	Exp(B)	
				پایین	بالا
جنسیت (زن)	۰٫۹۹۸	۰٫۶۶۱	۰٫۱۳۱	۲٫۱۳	۰٫۷۴۳
دیابت	۰٫۴۶۰	۰٫۵۴۶	۰٫۶۳۵	۰٫۲۹۶	۰٫۴۴۴
سیگار کشیدن	۰٫۴۹۸	۰٫۷۳۰	۰٫۴۹۵	۰٫۶۰۸	۰٫۱۴۵
فشار خون	۰٫۳۷۲	۰٫۵۴۳	۰٫۴۹۳	۰٫۶۸۹	۰٫۲۳۸
هیپرلیپیدی	۰٫۴۳۳	۰٫۵۱۲	۰٫۳۹۸	۰٫۶۴۸	۰٫۲۳۷
Ejection fraction (غیر نرمال)	۰٫۲۳۵	۰٫۵۵۵	۰٫۶۷۱	۰٫۷۹۰	۰٫۲۶۶
ثابت	۰٫۱۸۹	۱٫۹۰۶	۰٫۹۲۱	۱٫۲۰۸	



تصویر شماره ۱: نتایج مربوط به تعیین ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* بعد از هضم آنزیمی توسط آنزیم *HinfI* (۱: هتروزیگوت (CT)؛ ۳: هموزیگوت موتانت (TT)؛ ۲ و ۴: ۸-۴ هموزیگوت وحشی (CC)؛ M؛ نشان دهنده مارکر ۵۰ جفت بازی است).

در مطالعه Ramkaran و همکاران در سال ۲۰۱۵ ارتباط بین پلی مورفیسم *MTHFR* C677T و بیماری CAD در سرخ پوستان جوان آفریقای جنوبی مورد بررسی قرار گرفت. جمعیت مورد مطالعه شامل ۱۰۶ بیمار مبتلا به CAD (تشخیص توسط آنژیوگرافی)، ۱۰۰ کنترل هندی و ۸۴ کنترل مرد سیاه پوست بود. نتایج این مطالعه بیانگر آن بود که ارتباط معنی داری میان آلل C677T در بیماران مبتلا به CAD در مقایسه با افراد سالم وجود داشت ($p=0/03$). همچنین این آلل در گروه کنترل هندی نسبت به افراد سیاه پوست کمی بالاتر بود (۷ درصد نسبت به ۲ درصد، $p=0/05$). مشخص شده است که سطح کلسترول تام، HDL، LDL، تری گلیسیرید، هیپرلیپیدمی نیز می تواند تحت تاثیر ژنوتیپ های مختلف واریانت C677T، ژن *MTHFR* قرار بگیرد (۲۳). در این مطالعه نیز ارتباط بین بیماری دیابت، فشارخون، هایپرلیپیدمی و استعمال دخانیات با ژنوتایپ های این پلی مورفیسم مورد بررسی قرار گرفت اما ارتباط معناداری مشاهده نشد (جدول شماره ۴). همچنین در مطالعات دیگری که به ترتیب در سال های ۲۰۱۵ و ۲۰۱۸ توسط Dhar و همکاران و Tantray و همکاران با هدف بررسی پلی مورفیسم ژن *MTHFR* به عنوان ریسک فاکتور بیماری CAD با در نظر گرفتن وجود یا عدم وجود موتاسیون C677T از طریق RFLP انجام شد، نتایج آنها نشان داد که آلل T به طور معنی داری با CAD مرتبط است (۲۴، ۲۵).

در مطالعه Li و همکاران در سال ۲۰۱۷، ارتباط بین پلی مورفیسم *MTHFR* C677T، سطح هومو سیستین در گردش (Hcy) و شدت ضایعه کرونر در بیماران مبتلا به سندرم حاد کرونری (ACS) مورد بررسی قرار گرفت. این مطالعه بر روی ۳۰۰ بیمار سندرم کرونر حاد با روش ARMS-PCR انجام و تعیین پلی مورفیسم شد. فراوانی پلی مورفیسم $CC:25.2\%$ ، $CT:44.2\%$ ، $TT:30.6\%$ گزارش شد ولی اختلاف معنی دار مشاهده نشد. بیماران با پلی مورفیسم TT به طور معنی داری سطح بالای هومو سیستین داشتند اما میزان

گروه مورد و شاهد شامل ۷۱ بیمار مبتلا به CAD و ۷۱ فرد سالم با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* و CAD انجام شد که ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ TT و استعداد ابتلا به CAD مشاهده نشد. مطالعه ای توسط Chen W و همکارانش در سال ۲۰۱۴ تحت عنوان "ارتباط پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* با افزایش خطر بیماری CAD در جمعیت چین" انجام شد. در این مطالعه جمعیتی شامل ۴۳۵ نفر بیمار مبتلا به CAD و ۴۸۰ نفر کنترل، مورد بررسی قرار گرفتند، ژنوتیپ هموزیگوت CC به عنوان گروه مرجع و ژنوتیپ TT یا ژنوتیپ های CT/TT با افزایش خطر ابتلا به بیماری CAD در نظر گرفته شد. یافته های آنها نشان داد که پلی مورفیسم *MTHFR* rs1801133 C/T پیشرفت بیماری CAD در ارتباط است (۱۸). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۱۶ توسط Shan و همکاران انجام شد، به ارتباط معنی دار بین پلی مورفیسم *MTHFR* و خطر ابتلا به CAD در جمعیت چینی دست یافتند (۱۹).

در مطالعه Ince بر روی ۵۳ بیمار CAD در ترکیه، مشخص شد که شدت علائم بالینی CAD با سطح هموسیستین و پلی مورفیسم *MTHFR* ارتباط ندارد، همچنین از نظر توزیع جنسیتی، BMI، فشارخون، دیابت، سن و هیپرلیپیدمی ارتباط معنی دار دیده نشد (۲۰). در صورتی که در مطالعه حاضر، بین دو گروه بیمار و کنترل از نظر سن ارتباط معنادار مشاهده شد ($p=0/00$). در سال ۲۰۰۶، Aleyasin و همکاران به بررسی رابطه CAD و پلی مورفیسم *MTHFR* در جمعیت ایرانی (۱۰۰ بیمار و ۱۰۰ کنترل) پرداختند و نتایج آن ها بیانگر این بود که پلی مورفیسم *MTHFR* به طور قابل توجهی با CAD ارتباط دارد (۲۱).

در سال ۲۰۱۵ Ghaznavi و همکارانش ۶۷ بیمار مبتلا به CAD و ۶۷ کنترل را در جمعیت ایران مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که اگرچه ژنوتیپ TT با افزایش هموسیستین ارتباط دارد اما این ژنوتیپ با بیماری ترومبوز وریدی ارتباطی ندارد (۲۲).

هموزیگوت TT با علائم بالینی CAD در جمعیت ایتالیایی ارتباطی ندارد (۲۹). Afaque Alam در مطالعه خود در سال ۲۰۱۶ گزارش کرد که جهش‌های C به T در موقعیت ۶۷۷ ژن *MTHFR* در مناطق مختلف جهان در بین نژادها و قومیت‌های مختلف متفاوت است (۳۰). در مجموع در مطالعه حاضر از نظر توزیع جنسیتی، فشار خون، هایپرلیپیدمی، مصرف سیگار، Ejection fraction پایین، توزیع پلی مورفیسم ژن *MTHFR* و مقایسه ژنوتیپی آن اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مورد و شاهد وجود نداشت اما از نظر سن ارتباط معنادار مشاهده شد. از محدودیت‌های مطالعه حاضر تعداد محدود گروه مورد و شاهد بود که پیشنهاد می‌شود در آینده مطالعات مشابهی با حجم نمونه بیش‌تر در این خصوص صورت پذیرد. هم‌چنین در صورت امکان میزان هموسیستین و فولات سرم و ارتباط آن با ژنوتیپ مقایسه گردد.

اسید فولیک آن‌ها پایین گزارش شد، هم‌چنین بیماران دارای ژنوتیپ TT دارای ضایعات شدید کرونری نسبت به دیگر گروه‌ها بودند (۲۶). هم‌چنین در مطالعه متاآنالیزی که در سال ۲۰۰۲، ۴۰ مقاله را مورد بررسی قرار داد (۱۱۱۶۲ مورد و ۱۲۷۵۸ شاهد)، مشخص شد که افراد با ژنوتیپ TT به طور قابل توجهی ریسک بالاتری برای ابتلا به بیماری‌های قلبی به دلیل کمبود فولات خواهند داشت (۲۷). در مطالعه متاآنالیز دیگری در سال ۲۰۱۶، تعداد ۳۳ مطالعه بررسی شد و نتایج آن نشان داد که واریانت C677T ژن *MTHFR* در جمعیت چینی به‌طور معناداری با استعداد ابتلا به CAD مرتبط است (۱۹). از مجموعه داده‌های منتشر شده مربوط به ۴۸۱۷۵ بیمار CAD و ۶۷۹۶۱ کنترل در یک مطالعه متاآنالیز، ارتباط معنی‌داری بین افزایش خطر بیماری قلبی با آلل‌های پلی مورفیسم C677T ژن *MTHFR* مشاهده نشد (۲۸).
Abbate در مطالعه خود بیان داشت که ژنوتیپ

References

1. Yang L, Li L, Lewington S, Guo Y, Sherliker P, Bian Z, et al. Outdoor temperature, blood pressure, and cardiovascular disease mortality among 23 000 individuals with diagnosed cardiovascular diseases from China. *Eur Heart J* 2015; 36(19): 1178-1185.
2. Cooney GM, Dwan K, Greig CA, Lawlor DA, Rimer J, Waugh FR, et al. Exercise for depression. *Cochrane Database Syst Rev* 2013(9).
3. Kazemi T, Bijari B. Knowledge, Attitude and Performance of Birjand City Veterans and their Wives about Cardiovascular Diseases Risk Factors. *Iran J War Public Health* 2014; 6(3): 95-100 (Persian).
4. Hedayatizadeh-Omran A, Rafiei A, Khajavi R, Alizadeh-Navaei R, Mokheri V, Moradzadeh K. Association between ghrelin gene (Leu72Met) polymorphism and ghrelin serum level with coronary artery diseases. *DNA Cell Biol* 2014; 33(2): 95-101.
5. Reilly R, McNulty H, Pentieva K, Strain J, Ward M. MTHFR 677TT genotype and disease risk: is there a modulating role for B-vitamins? *Proc Nutr Soc* 2014; 73(1): 47-56.
6. Wu X, Yang K, Tang X, Sa Y, Zhou R, Liu J, et al. Folate metabolism gene polymorphisms MTHFR C677T and A1298C and risk for preeclampsia: a meta-analysis. *J Assist Reprod Genet* 2015; 32(5): 797-805.
7. McEwen BJ. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): Mythology or polymorphism (ology)? *Adv Integr Med* 2016; 3(3): 79-81.
8. Liew S-C, Gupta ED. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T polymorphism: epidemiology, metabolism and the associated diseases. *Eur J Med Genet* 2015; 58(1): 1-10.
9. Brass LM, Isaacsohn JL, Merikangas KR,

- Robinette CD. A study of twins and stroke. *Stroke*. 1992; 23(2): 221-223.
10. Ulvik A, Ueland PM. Assays for methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms. *MTHFR Polymorphisms and Disease*: CRC Press; 2005.
 11. Konstantinos KV, Panagiotis P, Antonios VT, Agelos P, Argiris NV. PCR–SSCP: A method for the molecular analysis of genetic diseases. *Mol Biotechnol* 2008; 38(2): 155-163.
 12. Brattström L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene mutation leads to hyperhomocysteinemia but not to vascular disease: the result of a meta-analysis. *Circulation* 1998; 98(23): 2520-2526.
 13. Frosst P, Blom H, Milos R, Goyette P, Sheppard CA, Matthews R, et al. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10(1): 111.
 14. Signorello MG, Segantin A, Passalacqua M, Leoncini G. Homocysteine decreases platelet NO level via protein kinase C activation. *Nitric Oxide* 2009; 20(2): 104-113.
 15. de Bree A, Verschuren WM, Bjørke-Monsen A-L, van der Put NM, Heil SG, Trijbels FJ, et al. Effect of the methylenetetrahydrofolate reductase 677C→T mutation on the relations among folate intake and plasma folate and homocysteine concentrations in a general population sample. *Am J Clin Nutr* 2003; 77(3): 687-693.
 16. Sarecka-Hujar B, Kopyta I, Pienck-Reclawowicz K, Reclawowicz D, Emich-Widera E, Pilarska E. *Mol Biol Rep* 2012; 39(8): 7957-7963.
 17. Alsayouf H, Zamel KM, Heyer GL, Khuhro AL, Kahwash SB, de los Reyes EC. Role of methylenetetrahydrofolate reductase gene (MTHFR) 677C>T polymorphism in pediatric cerebrovascular disorders. *J Child Neurol* 2011; 26(3): 318-321.
 18. Chen W, Hua K, Gu H, Zhang J, Wang L. Methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in a Chinese population. *Scand J Immunol* 2014; 80(5): 346-353.
 19. Shan J-G, Xue S. MTHFR C677T polymorphism and coronary artery disease risk in the Chinese population: a meta-analysis based on 33 studies. *Int J Clin Exp Med* 2016; 9(2): 2822-2830.
 20. Ince FD, Atay A, Koseoglu MH, Ellidag HY, Yesil M, Deveci E. The severity of coronary artery disease and methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) enzyme gene polymorphism. *Int Cardio Res J* 2016; 10(4): e9805.
 21. Aleyasin A, Ghaedi M, Davoodi S, Abassi SH, Madani M. Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T polymorphism is associated with coronary atherosclerosis disease in a sample of Iranian patients. *JTHC* 2006; 1(2): 77-81 (Persian).
 22. Ghaznavi H, Soheili Z, Samiei S, Soltanpour MS. Association of methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism with hyperhomocysteinemia and deep vein thrombosis in the Iranian population. *Vasc Specialist Int* 2015; 31(4): 109-114.
 23. Ramkaran P, Phulukdaree A, Khan S, Moodley D, Chuturgoon AA. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism is associated with increased risk of coronary artery disease in young South African Indians. *Gene* 2015; 571(1): 28-32.
 24. Dhar S, Chatterjee S, Ray S, Dutta A, Sengupta B, Chakrabarti S. Polymorphisms

- of methylenetetrahydrofolate reductase gene as the genetic predispositions of coronary artery diseases in eastern India. *J Cardiovasc Dis Res* 2010; 1(3): 152-157.
25. Ahmad Tantray J, Pratap Reddy K, Kumar Yerra S, Jamil K. A Study of C677T Polymorphism of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR) Gene and It's Susceptibility in Coronary Artery Disease. *A J O B* 2018; 6(1): 1-8.
26. Li M-N, Wang H-J, Zhang N-R, Xuan L, Shi X-J, Zhou T, et al. MTHFR C677T gene polymorphism and the severity of coronary lesions in acute coronary syndrome. *Medicine* 2017; 96(49): e9044.
27. Klerk M, Verhoef P, Clarke R, Blom HJ, Kok FJ, Schouten EG. MTHFR 677C→ T polymorphism and risk of coronary heart disease: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288(16): 2023-2031.
28. Clarke R, Bennett DA, Parish S, Verhoef P, Dötsch-Klerk M, Lathrop M, et al. Homocysteine and coronary heart disease: meta-analysis of MTHFR case-control studies, avoiding publication bias. *PLoS Med* 2012; 9(2): e1001177.
29. Abbate R, Sardi I, Pepe G, Marcucci R, Brunelli T, Prisco D, et al. The high prevalence of thermolabile 5-10 methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) in Italians is not associated to an increased risk for coronary artery disease (CAD). *Thromb Haemost* 1998; 79(4): 727-730.
30. Alam M. Methylenetetrahydrofolate Reductase Gene Polymorphisms and Cardiovascular Diseases. *Cell Dev Biol* 2016; 5(172): 2.