ORIGINAL ARTICLE

Association between Genetic Variants of Nitric Oxide/cGMP Pathway and Susceptibility to Hypertension in Kermanshah Province

Parham Nejati[1],
Saba Naseri [2],
Maryam Eini[2],
Reza Alibakhshi[3],
Sousan Mahmoudi[4],
Lida Haghnazari[5],
Nazanin Jalilian[6]

[1] M.Sc in Human Genetics, Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[2] Medical Student, Student Research Committee, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[3] Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[4] Assistant Professor, Cardiovascular Research Center, Health Institute, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[5] Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran
[6] Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received October 15, 2022 ; Accepted February 12, 2023)

Abstract

Background and purpose: Hypertension is a global health challenge due to its high prevalence and increased risk of cardiovascular disease. It is a multifactorial disease in which both genetic and environmental factors are involved. So far, a number of genes and pathways have been proposed to be associated with HTN, including the nitric oxide/cGMP pathway. To further clarify the role of NO /cGMP in the pathogenesis of HTN and also to find genetic determinants of predisposition to HTN in Kermanshah province, Iran, we aimed to investigate the association between three key points in nitric oxide signaling pathway, namely eNOS, GUCY1A3, and PDE1A genes, and susceptibility to hypertension.

Materials and methods: In this case-control study, a total of 130 patients and 110 healthy subjects were enrolled. Three polymorphisms (rs1799983 in *eNOS* gene, rs13139571 in *GUCY1A3* genes and rs16823124 in *PDE1A* gene) were investigated by PCR-RFLP method. Data were then statistically analyzed.

Results: This study showed a significant association between the genotypic and allelic frequencies of the rs1799983 polymorphism in the *eNOS* gene and the rs13139571 gene in *GUCY1A3* ($P<0.05$), while there was no significant association with *PDE1A* ($P>0.05$). However, the interaction with the other two SNPs may confer susceptibility to hypertension.

Keywords: hypertension, genetics, nitric oxide pathway, *eNOS* ،*GUCY1A3* ،*PDE1A*

J Mazandaran Univ Med Sci 2023; 33 (219): 16-26 (Persian).

Corresponding Author: Nazanin Jalilian - School of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran. (E-mail: n.jalilian@kums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و سوم شماره 219 فروردین سال 1402 (26-16)

ارتباط واریانت‌های ژنتیکی مسیر ترارسانی نیتریک اکسید/cGMP با استعداد ابتلا به پرفشاری خون در جمعیت استان کرمانشاه

پرهام نجاتی[1]
صبا ناصری[2]
مریم عینی[2]
رضا علی بخشی[3]
سوسن محمودی[4]
لیدا حق نظری[5]
نازنین جلیلیان[6]

چکیده

سابقه و هدف: پرفشاری خون به دلیل شیوع بالا و افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی، همواره یک چالش جهانی سلامت بوده است. فشار خون بالا در دسته بیماری‌های چندعاملی قرار دارد که عوامل ژنتیکی و محیطی، هر دو در ایجاد آن نقش دارند. تاکنون، ژن‌ها و مسیرهای ترارسانی مختلفی در ارتباط با پرفشاری خون پیشنهاد شده‌اند که از جمله آن‌ها، مسیر نیتریک اکسید/cGMP است. در این مطالعه و به منظور تعیین بهتر نقش این مسیر در پاتوژنز پرفشاری خون و در جهت یافتن عوامل ژنتیکی درگیر در ایجاد استعداد ابتلا به این بیماری در جمعیت استان کرمانشاه، سه نقطه کلیدی در مسیر نیتریک اکسید، یعنی ژن‌های *eNOS*، *GUCY1A3* و *PDE1A* را مورد بررسی قرار دادیم.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی، تعداد 130 بیمار و 110 فرد سالم وارد مطالعه شدند. سه واریانت rs1799983 در ژن eNOS، rs13139571 در ژن GUCY1A3 و rs16823124 در ژن PDE1A به روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به دست آمده مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: این مطالعه ارتباط معنی‌داری را بین فراوانی ژنوتیپی و آللی چندشکلی rs1799983 در ژن eNOS و rs13139571 در GUCY1A3 نشان داد، در حالی که در PDE1A ارتباط معناداری مشاهده نشد. با این حال میانکنش ژنوتیپ‌های واریانت rs16823124 در ژن PDE1A با دو جایگاه دیگر مورد بررسی، می‌تواند مستعدکننده ایجاد فشارخون بالا باشد.

استنتاج: مطالعه حاضر ارتباط قوی را بین واریانت‌های تک‌نوکلئوتیدی مسیر NO و استعداد ابتلا به پرفشاری خون در جمعیت استان کرمانشاه نشان داد.

واژه های کلیدی: پرفشاری خون، ژنتیک، مسیر نیتریک اکسید، eNOS، GUCY1A3، PDE1A

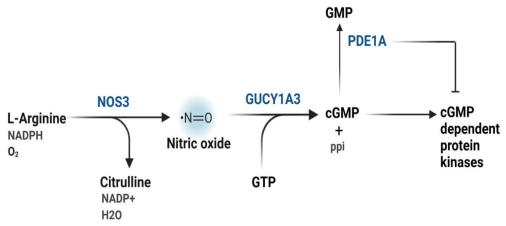
مقدمه

پرفشاری خون Hypertension (HTN) به دلیل شیوع بالا و نیز افزایش خطر بیماری‌های قلبی عروقی، همواره یک چالش جهانی نظام سلامت بوده است. HTN شایع ترین عامل خطر برای سکته قلبی، بیماری عروق کرونر (CAD) و نیز نارسایی قلبی است(1). پاتوژنز بیماری به صورت چندعاملی بوده و تحت

مولف مسئول: نازنین جلیلیان - کرمانشاه: بلوار شهید شیرودی - خیابان دانشگاه - دانشکده پزشکی E-mail:n.jalilian@kums.ac.ir
1. کارشناس ارشد ژنتیک انسانی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
2. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
3. استاد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
4. استادیار، مرکز تحقیقات قلب و عروق، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
5. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
6. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران
تاریخ دریافت : 1401/7/23 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : 1401/7/24 تاریخ تصویب : 1401/11/23

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

تأثیر عوامل متعدد ژنتیکی، محیطی و نیز میانکنش این دو قرار دارد(2). باتوجه به گستردگی و اهمیت موضوع، شناسایی عوامل ژنتیکی درگیر در HTN از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. به‌منظور تعیین فاکتورهای ژنتیکی درگیر در بیماری‌های چندعاملی، رویکردهای متفاوتی وجود دارد. یکی از مهم‌ترین این رویکردها، انجام مطالعات GWAS (Genome Wide Association Study) است که در مقیاس ژنومی انجام می‌گیرد و منجر به معرفی لکوس‌ها و مسیرهای جدید برای یک بیماری می‌گردد. در مقابل، رویکرد candidate gene قرار دارد؛ در این روش، یک ژن به صورت اختصاصی، بررسی می‌گردد. در میانه این دو رویکرد، رویکرد جدید و سومی هم پیشنهاد می‌شود و آن بررسی یک مسیر بیوشیمیایی است؛ در این حالت، نقش یک مسیر ترارسانی پیام و میانکنش ژن‌های آن، در ایجاد استعداد ابتلا به یک بیماری مورد مطالعه قرار می‌گیرد. این رویکرد می‌تواند در شناسایی دقیق‌تر مجموعه عوامل ژنتیکی درگیر، عوامل پایین دست و بالا دست و نیز میانکنش‌های ژنی در ایجاد استعدا ابتلا به یک بیماری راهگشا باشد. یکی از مسیرهای ترارسانی که بر اساس مطالعات GWAS برای فشار خون بالا پیشنهاد شده است، مسیر نیتریک اکسید است ($P=1.09 \times 10^{-5}$)(2). اندوتلیوم عروق میزان فشار عروق، ساختار و عملکرد عروق را از طریق آزادسازی عوامل فعال یا مسیرهای پیام‌رسانی تنظیم می‌کند. نیتریک اکسید (NO) حاصل از آنزیم نیتریک اکسید سنتاز، با اثر بر روی گشادی عروق نقش مهمی را در حفظ عملکرد آن‌ها دارد(3). هم‌چنین، مطالعات مختلف نشان داده‌اند که NO نقش حفاظتی مهمی در جلوگیری از آغاز و پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی دارد که این کار را از طریق مهار تکثیر و مهاجرت ماهیچه‌های صاف، جلوگیری از اتصال و تجمع پلاکت‌ها و در نهایت اکسیداسیون LDL انجام می‌دهد(4). واریانت‌های تک نوکلئوتیدی e-NOS با کاهش بیان، کاهش فعالیت آنزیم و در نتیجه کاهش تولید NO ارتباط دارند(5). از جمله این واریانت‌ها، چندشکلی G894T (Glu298Asp) در اگزون 7 است که بر روی بیان و فعالیت NOS3 تاثیر دارد و می‌تواند یک مارکر انتخابی بالقوه برای فشارخون باشد(6). با این وجود در خصوص ارتباط بین این چندشکلی و خطر ابتلا به فشار خون بالا، نتایج مشابهی در جمعیت‌های مختلف گزارش نشده است(8،7). NO برای اعمال نقش خود، در ادامه آنزیم گوانیلات سیکلاز (*GUCY1A3*) را فعال می‌کند که حاصل آن تولید گوانوزین-3 و 5-مونوفسفات حلقوی (cGMP) است. cGMP تولید شده، مسیرهای مختلف بیولوژیک را راه‌اندازی می‌کند و در یک پاسخ تنظیمی به آنزیم فسفودی استراز (PDE1A) متصل می‌گردد (تصویر شماره 1).



تصویر شماره 1: مسیر بیوشیمیایی NO/cGMP. نیتریک اکسید توسط آنزیم NOS3 سنتز شده و برای اعمال نقش خود، آنزیم گوانیلات سیکلاز (*GUCY1A3*) را فعال می‌کند که حاصل آن تولید گوانوزین-3 و 5- مونوفسفات حلقوی (cGMP) است. cGMP تولید شده، مسیرهای مختلف بیولوژیک را راه‌اندازی می‌کند. آنزیم PDE1A با هیدرولیز cGMP، غلظت داخلی آن و در نتیجه این مسیر را تنظیم می‌کند.

در جمعیت استان کرمانشاه نیز مسئله فشارخون یکی از مهم‌ترین دغدغه‌های حیطه سلامت است. در مطالعه‌ای که بر روی فراوانی پرفشاری خون در جمعیت استان کرمانشاه انجام گرفت، نشان می‌داد که 18/7 درصد جمعیت شرکت‌کننده پیش‌پرفشاری خون دارند و 15/1 درصد نیز از فشارخون بالا رنج می‌برند(9). این مسئله، ضرورت یافتن عوامل خطر و جمعیت در معرض خطر را بسیار پررنگ می‌کند. در همین راستا، در این مقاله پژوهشی و در جهت یافتن عوامل ژنتیکی درگیر در

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

ایجاد استعداد ابتلا به HTN در جمعیت استان کرمانشاه، سه نقطه کلیدی در مسیر نیتریک اکسید را، که در چند مطالعه GWAS اخیر به عنوان جایگاه‌های خطر برای پرفشاری خون پیشنهاد شده بودند، مورد بررسی قرار دادیم. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند به شناخت بهتر مسیر پاتوژنز پرفشاری خون و نیز شناسایی بهتر افراد در معرض خطر و تعیین پروفایل ژنتیکی مبتلایان در جمعیت استان کمک کند.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مورد- شاهدی بوده و افراد مورد (case) از میان مراجعین کلینیک مهدیه و کلینیک شهید فتاحی، وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، انتخاب شدند. حجم نمونه مورد نیاز برای مطالعه، با در نظر گرفتن سطح خطای 0/05 و نسبت برابر مورد و شاهد در دو گروه، با استفاده از نرم‌افزار PGA تحت نرم افزار MATLAB برآورد گردید(10)؛ بر این اساس تعداد نمونه جهت شرکت در مطالعه در مجموع 220 نفر (110 نفر مورد و 110 نفر شاهد) پیشنهاد گردید. معیارهای ورود به مطالعه شامل سن بالاتر از 18 سال و حضور پرفشاری خون اولیه بود. پرفشاری خون به صورت وجود فشار سیستولی بیش از 140mmHg و/یا فشار دیاستولی بیش از 90mmHg مشخص گردید. مواردی که فشار خون بالا به‌دلیل حضور یک عامل شناخته شده، مانند سابقه بیماری کلیوی، ایجاد می‌گردید (فشار خون ثانویه) و نیز زنان باردار از مطالعه حذف شدند. معیار انتخاب گروه شاهد از میان کسانی بود که از نظر سن، جنسیت و نژاد با گروه case منطبق باشند و سابقه پرفشاری خون نداشته باشند و فشار خون آن‌ها در دو مرتبه اندازه‌گیری مجزا، در فواصل زمانی مشخص، در محدوده طبیعی باشد. پس از اخذ رضایت‌نامه آگاهانه، به میزان 5 میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های EDTAدار جمع‌آوری شد. با توجه به ضرورت ناشتا بودن برای اندازه‌گیری پروفایل لیپید، برای نمونه‌گیری از تمام شرکت‌کنندگان شرط ناشتا بودن 12ساعته رعایت گردید. پیش از نمونه‌گیری از تمام شرکت‌کنندگان مطالعه رضایت آگاهانه اخذ می‌شد. این طرح در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه مطرح و تصویب گردیده است (IR.KUMS.REC.1397.366).

بخشی از نمونه خون در آزمایشگاه، مورد سنجش کمّی پارامترهای بیوشیمیایی قند خون ناشتا (FBS)، کلسترول، تری گلیسیرید، LDL و HDL قرار گرفت. بخش دیگری از نمونه به منظور استخراج DNA، با روش salting out، به آزمایشگاه تحقیقاتی گروه بیوشیمی بالینی منتقل گردید. به منظور استخراج DNA، به صورت خلاصه، ابتدا میزان 500µl خون با میزان 1000µl بافر لیز A که مخصوص لیز گویچه‌های قرمز است، ورتکس و در دور 5000rpm به مدت 4 دقیقه سانتریفیوژ شد. این مرحله 3-2 بار تکرار شد تا پلت سلولی سفید ایجاد گردد. در ادامه 225 میکرولیتر بافر لیز 2، 12/5 میکرولیتر 10% SDS، و 10 میکرولیتر پروتئیناز K (غلظت 10mg/ml) اضافه و به مدت یک ساعت در دمای 56° C انکوبه شد. در نهایت پس از اضافه کردن 100 میکرولیتر از NaCl (6 مولار) و سانتریفیوژ در 12000rpm به مدت 8 دقیقه، مایع رویی برداشته شد. در نهایت با اضافه کردن اتانل سرد به مایع رویی، DNA استخراج و سپس با اتانل 70 درصد تخلیص شد.

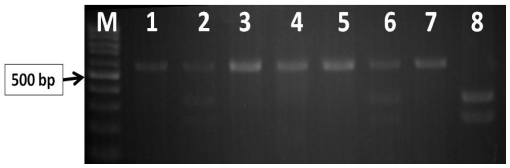
به منظور تعیین ژنوتیپ هر یک از سه واریانت rs1799983 در ژن eNOS، rs16823124 در ژن PDE1A و چندشکلی rs13139571 در ژن GUCY1A3، ابتدا برای نواحی اطراف هر واریانت پرایمر مناسب طراحی گردید. جایگاه هر یک از SNPها و توالی‌های اطراف آن از پایگاه داده‌های NCBI استخراج شد. طراحی پرایمرها با استفاده از برنامه Primer3 (http://primer3.ut.ee/) صورت می‌گرفت. در ادامه و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، توالی اطراف هر یک از واریانت‌ها تکثیر گردید. توالی پرایمرها، طول

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

محصول PCR و آنزیم‌های مورد استفاده در جدول شماره 1 آمده است. در مورد چندشکلی rs1799983 در ژن eNOS محصول PCR توسط آنزیم BanII هضم آنزیمی گردید. در صورت وجود آلل G قطعاتی با طول bp 89، 197، 359 و در صورت وجود آلل T قطعاتی با اندازه‌های 556 و 89 جفت باز ایجاد می‌شد. چندشکلی rs16823124 در ژن PDE1A با آنزیم BstUI برش خورده و آنزیم DraI نیز چندشکلی rs13139571 در ژن GUCY1A3 را برش می‌دهد. در مورد واریانت مورد بررسی در ژن *GUCY1A3* در صورت وجود آلل A قطعاتی به طول 16،60، 225، 320 جفت باز ایجاد می‌گردید و در صورت وجود آلل C، قطعاتی به طول 16،60، 545 تولید می‌شد (تصویر شماره2).

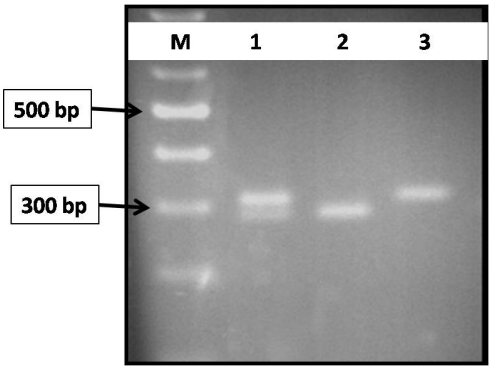
جدول شماره 1: والی پرایمرها و آنزیم‌های مورد استفاده

ژن	SNP	توالی پرایمر	طول محصول PCR	آنزیم
eNOS	rs1799983	F: ACGGAGACCCAGCCAATG R: TGGACCTGCTCTGATTGTCC	645	BanII
PDE1A	rs16823124	F:CGATTCTTGATAGGTTTTATTGcG R: GTGTTTCTATGGCATACAATCC	317	BstUI
GUCY1A3	rs16823124	F:CCAGAATAGAAGTCAGACAGG R:ACTGAGAAGGTGTAGACATG	621	DraI

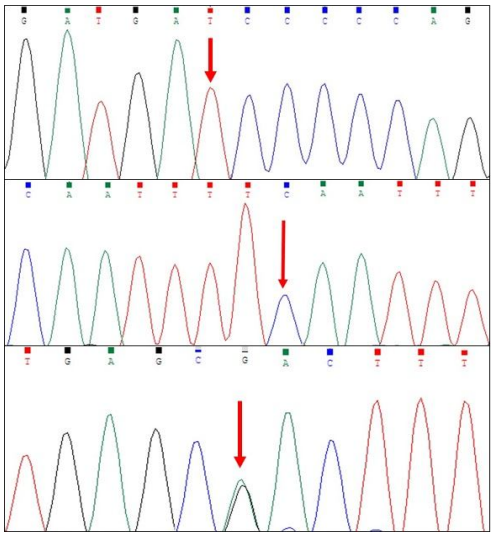


تصویر شماره 2: هضم آنزیمی محصول PCR چندشکلی rs13139571 در ژن *GUCY1A3* - هضم آنزیمی توسط آنزیم DraI انجام شده است. چاهک‌های ۳،۱، 4، 5، 7 مربوط به ژنوتیپ CC، چاهک 2 و 6 نشان‌دهنده ژنوتیپ AC و چاهک 8 ژنوتیپ AA است. (M=DNA size marker 100 bp, Yekta tajhiz)

در خصوص rs16823124 در ژن PDE1A، در صورتی که آلل A وجود داشته باشد محصول PCR برش نخورده و قطعه bp 317 خواهیم داشت و در صورت وجود آلل G قطعاتی به طول 293 و 24 ایجاد می‌گردید (تصویر شماره 3). در نهایت نتایج RFLP با استفاده از توالی یابی تأیید شدند (تصویر شماره 4).



تصویر شماره 3: هضم آنزیمی محصول PCR چندشکلی rs16823124 در ژن *PDE1A* بر روی ژل آگارز 3 درصد - هضم آنزیمی توسط آنزیم BstuI انجام شده است. چاهک‌های 1، 2 و 3 به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های AG، GG و AA می‌باشد. (M=DNA size marker 100 bp, Yekta tajhiz)



تصویر شماره 4: تصویر الکتروفورگرام حاصل از تعیین توالی واریانت‌ها، در هر شکل جایگاه تغییر با پیکان مشخص شده است - a_ واریانت rs1799983 (ژنوتیپ هوموزیگوت TT)، b- واریانت rs13139571 (ژنوتیپ هوموزیگوت CC)، c-ژنوتیپ واریانت rs16823124 (ژنوتیپ هتروزیگوت AG)

پارامترهای بالینی مورد مطالعه به صورت انحراف معیار ± میانگین نشان داده شدند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده ازنرم‌افزار SPSS 16.0 انجام گرفت. فراوانی آللی و ژنوتیپی بین دو گروه با تست $\chi 2$ مقایسه شده و OR با 95% confidence intervals (CIs) محاسبه

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

گردید. مقادیر P کوچک‌تر از 0/05 معنادار در نظر گرفته شد. تفاوت در توزیع ژنوتیپ‌ها، تحت مدل‌های مختلف توارث با استفاده از برنامه SNPStat محاسبه گردید(11). میانکنش‌های احتمالی بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از GMDR v0.9 برآورد گردید(12).

یافته ها

در مجموع تعداد 130 بیمار و 110 فرد سالم وارد مطالعه شدند. جمعیت بیماران شامل 42 مرد و 88 زن با میانگین سنی 57/9 سال و جمعیت افراد سالم شامل 38 مرد و 72 زن، با میانگین سنی 55/6 می‌باشد. هم‌چنین 25 درصد افراد مبتلای شرکت‌کننده در این مطالعه دارای سابقه خانوادگی مثبت بودند. اطلاعات کامل بیماران شامل میانگین سنی، توزیع جنسیتی و اطلاعات پاراکلینیکی در جدول شماره 2 آمده است.

جدول شماره 2: اطلاعات دموگرافیک شرکت کنندگان مطالعه

		مورد (n=130)	شاهد (n=110)	سطح معنی‌داری
سن		57.9091 (35-88)	55.6075 (35-84)	0/118
جنسیت	مرد	42	38	0/635
	زن	88	72	
SBP		16.293±0.14	10.24±0.18	0/0001
DBP		10.436±0.19	6.38±0.14	0/0001
TC		184/3059	188/1982	1/491
LDL		97/1059	98/1132	0/739
HDL		45/7143	45/6132	0/932
TG		164/1744	151/4673	0/839
FBS		113/5000	102/5047	0/074

SBP: Systolic blood pressure
DBP: Diastolic blood pressure

فراوانی آللی و ژنوتیپی برای هر یک از جایگاه‌های مورد بررسی در کل جمعیت محاسبه گردید. بر این اساس، فراوانی آللی مینور (Minor allele frequency:MAF) برای rs1799983 در ژن eNOS برابر با 0/29، rs13139571 در ژن GUCY1A3 برابر با 0/3 و درخصوص rs16823124 در ژن PDE1A به میزان 0/12 محاسبه گردید. بررسی‌های آماری ارتباط معنی‌داری را بین فراوانی آللی واریانت‌های rs1799983 و rs13139571 با استعداد ابتلا به پرفشاری خون نشان می‌داد. با این حال، در مورد واریانت rs16823124 مطالعه ما ارتباط معناداری را با استعداد ابتلا به پرفشاری خون مشخص نکرد (جدول شماره 3).

بررسی فراوانی ژنوتیپی

نتایج بررسی فراوانی ژنوتیپی چندشکلی rs1799983 در ژن eNOS ارتباط معنی‌داری را بین هر سه ژنوتیپ GG، GT و TT با استعداد ابتلا به پرفشاری خون نشان می‌داد. محتمل‌ترین مدل ارتباط بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از برنامه SNPstat بررسی شد (جدول شماره 4) که نتایج به دست آمده ارتباط معنادار قوی را در تمام مدل‌ها نشان می‌داد؛ با این حال با در نظر گرفتن کم‌ترین مقادیر AIC و BIC، مدل توارثی غالب می‌تواند بهترین مدل باشد.

نتایج بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی چندشکلی rs13139571 در ژن *GUCY1A3* ارتباط معنی‌داری را بین فراوانی‌های آللی و ژنوتیپی این پلی‌مورفیسم با استعداد ابتلا به پرفشاری خون نشان می‌دهد. آنالیز نتایج براساس مدل‌های غالب، مغلوب، هم‌توان و Overdominant نشان می‌داد که به استثنا مدل مغلوب، روابط بین آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در سایر مدل‌ها معنی‌دار است (جدول شماره 5)، با این حال با توجه به این‌که کم‌ترین مقادیر AIC و BIC در مدل غالب به دست آمده، بهترین مدل پیشنهادی، مدل غالب است. بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی چندشکلی rs16823124 در ژن PDE1A ارتباط معناداری را بین ژنوتیپ‌های مختلف این واریانت و استعداد ابتلا به پرفشاری خون نشان نمی‌داد (جدول شماره 6).

بررسی ارتباط هاپلوتایپ سه جایگاه مورد بررسی با استعداد ابتلا به پرفشاری خون

نتایج بررسی ارتباط هاپلوتایپ های مختلف سه پلی مورفیسم مورد بررسی با خطر ابتلا به پرفشاری خون نشان می‌دهد که وجود هاپلوتایپ T C G به ترتیب از چپ به راست در ژن‌های *eNOS*، *GUCY1A3* و *PDE1A* نقش محافظت‌کننده در برابر پرفشاری خون دارد (OR=0/4 ، P=0/026).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

جدول شماره 3: فراوانی آللی واریانت‌های مورد مطالعه و ارتباط آن با استعداد ابتلا به پرفشاری خون

SNV	آلل	مورد تعداد (درصد)	شاهد تعداد (درصد)	OR	95%CI	سطح معنی داری
rs1799983 (*eNOS*)	Allele "G"	202 (0/77)	134 (0/630)	2/07	1.3904 to 3.1094	0/0004
	Allele :"T"	58 (0/23)	80 (0/27)			
(GUCY1A3) rs13139571	Allele "C"	171 (0/66)	163 (0/76)	0/60	0.4007 to 0.9019	0/0139
	Allele :"A"	89 (0/34)	51 (0/24)			
(PDE1A) rs16823124	Allele "G"	224 (0/86)	186	1/35	-0.33-0.6	0/32
	Allele :"A"	36 (0/14)	22			

جدول شماره 4: بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های rs1799983 در ژن eNOS بر اساس مدل‌های مختلف توارث

مدل	ژنوتیپ	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)	OR (95% CI)	سطح معنی داری	AIC	BIC
Codominant	G/G	(32/7)35	(57/7)75	1/00	3e-04	316/1	326/5
	G/T	(59/8)64	(40)52	(0/22 - 0/65)0/38			
	T/T	(7/5)8	(2/3)3	(0/04 - 0/70)0/18			
Dominant	G/G	(32/7)35	(57/7)75	1/00	1e-04	315/4	322/3
	G/T-T/T	(67/3)72	(42/3)55	(0/21 - 0/61)0/36			
Recessive	G/G-G/T	(92/5)99	(97/7)127	1/00	0/058	326/7	333/7
	T/T	(7/5)8	(2/3)3	(0/08 - 1/13)0/29			
Overdominant	G/G-T/T	(40/2)43	(60)78	1/00	0/0023	321	328
	G/T	(59/8)64	(40)52	(0/27 - 0/75)0/45			

جدول شماره 5: بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های rs13139571 در ژن *GUCY1A3* بر اساس مدل‌های مختلف توارث

مدل	ژنوتیپ	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)	OR (95% CI)	سطح معنی داری	AIC	BIC
Codominant	C/C	(54/2)58	(35/4)46	1/00	0/013	323/6	334
	A/C	(43/9)47	(60/8) 79	(1/25 - 3/60) 2/12			
	A/A	(1/9)2	(3/8)5	(0/58 - 17/00) 3/15			
Dominant	C/C	(54/2)58	(35/4)46	1/00	0/0036	321/8	328/8
	A/C-A/A	(45/8)49	(64/6)84	(1/28 - 3/65) 2/16			
Recessive	C/C-A/C	(98/1)105	(96/2)125	1/00	0/36	329/5	336/4
	A/A	(1/9)2	(3/8)5	(0/40 - 11/05) 2/10			
Overdominant	C/C-A/A	(56/1)60	(39/2)51	1/00	0/0096	323/6	330/5
	A/C	(43/9)47	(60/8)79	(1/18 - 3/32) 1/98			

جدول شماره 6: بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های rs16823124 در ژن *PDE1A* بر بر اساس مدل‌های مختلف توارث

مدل	ژنوتیپ	شاهد تعداد (درصد)	مورد تعداد (درصد)	OR (95% CI)	سطح معنی داری	AIC	BIC
Codominant	G/G	(80/8)84	(76/9) 100	1/00	0/48	326	336/4
	A/G	(17/3)18	(18/5)24	(0/57 - 2/20) 1/12			
	A/A	(1/9)2	(4/6)6	(0/50 - 12/82) 2/52			
Dominant	G/G	(80/8)84	(76/9)100	1/00	0/47	325	331/9
	A/G-A/A	(19/2)20	(23/1)30	(0/67 - 2/38) 1/26			
Recessive	G/G-A/G	(98/1)102	(95/4)124	1/00	0/25	324/2	331/1
	A/A	(1/9)2	(4/6)6	(0/49 - 12/49) 2/47			
Overdominant	G/G-A/A	(82/7)86	(81/5)106	1/00	0/82	325/4	332/4
	A/G	(17/3)18	(18/5)24	(0/55 - 2/12) 1/08			

بررسی ارتباط میانکنش بین جایگاه‌های مورد مطالعه

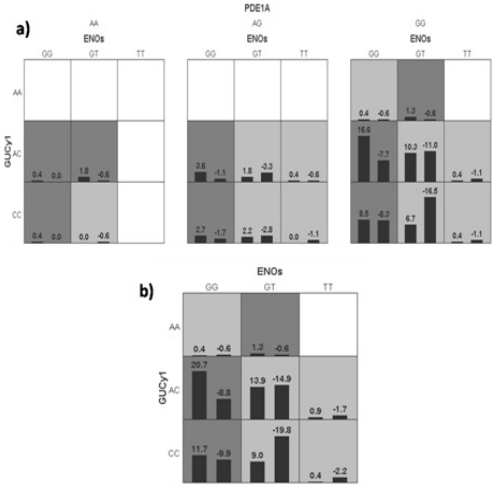
خلاصه نتایج میانکنش‌های بین ژن‌ها در شکل شماره 5 آمده است. ترکیب مختلف ژنوتیپ‌ها برای مدل‌های مختلف SNPها به صورت پرخطر (خاکستری تیره) و کم خطر (خاکستری روشن) مشخص شده‌اند. به عنوان مثال، همان‌گونه که در تصویر شماره 4-a

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

مشخص است، ترکیب ژنوتیپ‌های GG در PDE1A، AC در GUCY1A و GG در PDE1A یک ترکیب پرخطر است. از سوی دیگر، اگرچه پلی‌مورفیسم rs16823124 در ژن PDE1A به تنهایی ریسک معناداری را برای ابتلا به HTN، ایجاد نمی‌کرد، اما همان‌طورکه در شکل نیز مشخص است، میانکنش ژنوتیپ‌های مختلف آن می‌تواند در ایجاد و پیشرفت HTN موثر باشد.

بحث

پرفشاری خون، یک بیماری مزمن است که در آن فشارخون در شریان‌ها بالا می‌رود. به دنبال این افزایش فشار، قلب باید برای حفظ گردش خون در رگ‌های خونی، شدیدتر از حالت طبیعی فعالیت کند. این عارضه ماهیت چندعاملی دارد و عوامل محیطی و ژنتیکی هر دو در ایجاد آن نقش دارند(13). مطالعاتی که مبتنی بر بررسی یک مسیر باشند، می‌توانند در درک بهتر مکانیسم‌های مولکولیِ درگیر در بیماری‌های کمپلکس راهگشا باشند. با همین رویکرد، ما در این مطالعه به بررسی مسیر ترارسانی NO/cGMP پرداختیم و با انتخاب سه نقطه از این مسیر، ارتباط پلی‌مورفیسم‌های آن را با استعداد ابتلا به HTN را مورد سنجش قرار دادیم. نتایج ما حاکی از ارتباط قوی دو ژن *eNOS* و *GUCY1A3* با استعداد ابتلا به پرفشاری خون بود؛ در حالی که در خصوص ژن *PDE1A* ارتباط معناداری پیدا نشد. هم‌چنین، میانکنش‌های ژنتیکی بین ژنوتیپ‌های مختلف سه ژن، نتایج معنی‌داری مبنی بر میانکنش‌های بینِ ژنی این 3 جایگاه و خطر ابتلا به فشارخون بالا نشان می‌داد (تصویر شماره 4). در تصویر شماره 5 هم‌چنین پیش‌بینی میانکنش بین این سه ژن، که به کمک برنامه genemania (genemania.org) ترسیم شده، آمده است.



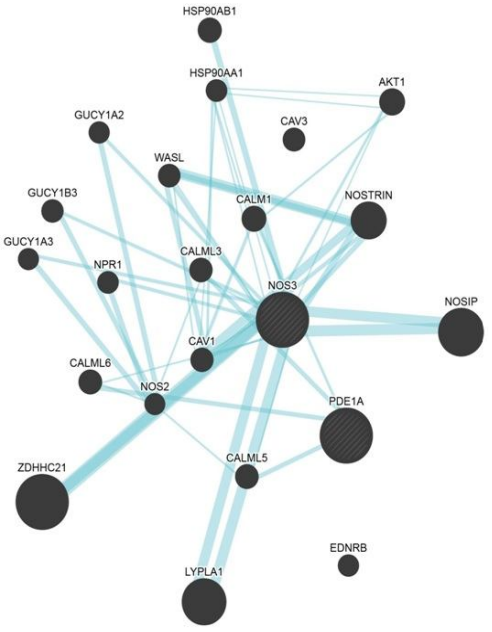
تصویر شماره 5: بهترین مدل‌های میانکنش بین ژن‌ها بر اساس الگوریتم MDR –a- میانکنش‌های پیشنهادی بین سه ژن *PDE1A*، *GUCY1A3* و *eNOS*- b) میانکنش‌های بین دو ژن *eNOS* و *GUCY1A3*.

در مورد تاثیر چندشکلی‌های تک نوکلئونیدی eNOS بر استعداد ابتلا به پرفشاری خون، مطالعات مختلفی انجام شده که نتایج به‌دست آمده در بعضی موارد ضدونقیض بوده‌اند(16-14). در خصوص پلی‌مورفیسم G894T که در این مطالعه بررسی شد نیز نتایج به همین ترتیب است؛ در حالی که برخی مطالعات ارتباط قوی این واریانت را با فشار خون بالا پیشنهاد می‌کنند(17)، دسته دیگری از تحقیقات نتوانسته‌اند ارتباط موثری را پیدا کنند(8). در مطالعه پیش‌رو، ما موفق شدیم ارتباط قوی را بین فروانی‌های آللی و نیز ژنوتیپی G894T با خطر ابتلا به فشار خون بالا پیدا کنیم، به این ترتیب که وجود ژنوتیپ‌های TT و GT نقش محافظتی در ایجاد ابتلا به پرفشاری خون داشتند. این در حالی است که در مطالعه دیگری که در جمعیت بندرعباس انجام شده است، ژنوتیپ GT با ایجاد استعداد ابتلا به پرفشاری خون ارتباط دارد (OR=1/62، P<0/031)(15). در مقابل، نتایج ما مطابق با نتایج به دست آمده از بررسی پلی‌مورفیسم G894T در جمعیت ژاپنی است. در مطالعه‌ای که توسط Shoji و همکاران در سال 2000 انتشار یافته است نشان می‌دهد که ژنوتیپ GG

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

به‌طور معنی‌داری خطر ابتلا به فشارخون را افزایش می‌دهد(OR=1/8)(18). این در حالی است که در مطالعه‌ای که بر روی جمعیت مراکش انجام شده است، ژنوتیپ‌های GG و GT با خطر افزایش یافته ابتلا به پرفشاری خون همراهند (به‌ترتیب OR=20/2، P<0/0001 ؛ OR=332/5 ، P<0/0001)(19). نتایجی از این دست، لزوم انجام مطالعات جمعیتی در تایید نقش ژن‌های مختلف در اتیولوژی بیماری‌ها را پررنگ می‌کند.

دومین واریانتی که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت، rs13139571 در ژن *GUCY1A3* است. گوانیلات سیکلاز محلول (sGC) به عنوان تنها گیرنده NO، یک آنزیم کلیدی در مسیر ترارسانی پیام نیتریک اکسید است. مطالعاتی که بر روی مدل‌های حیوانی انجام شده نشان می‌دهند که هر یک از زیرواحدهای sGC از طریق تاثیر بر مسیر NO-sGC-cGMP نقش مهمی را در تنظیم فشارخون بر عهده دارند(21،20). چندشکلی rs13139571، یک واریانت اینترونی است که ارتباط آن با فشار خون بالا نخستین بار در یک مطالعه GWAS، پیشنهاد شد. در تایید این یافته، ما در این مطالعه موفق شدیم ارتباط معنی‌داری را بین این واریانت ژن GUCY1A3 با استعداد ابتلا به پرفشاری خون نشان دهیم؛ به این ترتیب که ژنوتیپ CC دارای نقش محافظت‌کننده (OR=0/4626) و AC مستعدکننده ایجاد HTN است (OR=1/9775). مطالعه دیگری که در جمعیت چینی انجام شد نشان می‌داد که یک پلی‌مورفیسم دیگر این ژن، rs13143871، با افزایش خطر ابتلا به HTN همراه است(22). در مورد نقش PDE1A در سبب‌شناسی HTN اطلاعات محدودی در دسترس است. نخستین بار و در سال 2011 یک مطالعه GWAS نقش این ژن در ایجاد HTN را مشخص کرد(23). این پروتئین عضو خانواده PDE1 و یک Cyclic nucleotide phosphodiesterases است که از طریق هیدرولیز cAMP و/یا cGMP سطح داخل سلولی آن‌ها را تنظیم کرده و در نتیجه در ترارسانی پیام در سلول ایفای نقش می‌کند. اعضای خانواده PDE1 توسط کالمادولین و در حضور کلسیم فعال می‌شوند(24). در این مطالعه، ارتباط معناداری بین rs16823124 در ژن PDE1A با فشارخون بالا مشاهده نشد، با این حال، وجود آلل G در هاپلوتایپ T C G (که آلل T مربوط به G894T در ژن eNOS و C مربوط به rs13139571 در ژن GUCY1A3) می‌تواند نقش محافظت‌کننده علیه پرفشاری خون داشته باشد. هم‌چنین، میانکنش ژنوتیپ‌های این ژن، با دو ژن دیگر تحت بررسی، می‌تواند عامل خطری برای HTN باشد (تصویر شماره 6). تعیین دقیق نقش PDE1A در پاتوژنز فشار خون بالا نیازمند مطالعات بیشتر جمعیتی و عملکردی است. اگرچه ما در این مطالعه، ارتباط قوی را بین واریانت‌های مسیر NO/cGMP با استعداد ابتلا به پرفشاری خون مشاهده کردیم، با این حال یک محدودیت که در مطالعه حاضر با آن روبرو بودیم، حجم نمونه مورد بررسی بود؛ با افزایش حجم نمونه و بررسی تعداد بیش‌تری واریانت از این مسیر، می‌توان به نتایج دقیق‌تری در خصوص نقش مسیر NO/cGMP در پاتوژنز پرفشاری خون رسید.



تصویر شماره 6: شبکه میانکنش بین ژنی *eNOS*، *GUCY1A3* و *PDE1A*.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

مطالعه حاضر ارتباط قوی را بین پلی‌مورفیسم‌های مسیر NO/cGMP و استعداد ابتلا به فشارخون بالا در جمعیت استان کرمانشاه نشان داد. مطالعاتی از این دست می‌تواند در شناسایی بهتر عوامل مستعدکننده ژنتیکی، کمک به شناسایی افراد در معرض خطر و نیز درک بهتر مکانیسم پاتوژنز بیماری کمک کند. انجام مطالعات تکمیلی بر روی نمونه‌های بیش‌تر، بررسی سایر نقاط کلیدی این مسیر و نیز مسیرهای ترارسانی پیام که با مسیر NO/cGMP میانکنش دارند، می‌تواند در درک بهتر ما از سبب‌شناسی پرفشاری خون موثر باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از تمام شرکت‌کنندگان این مطالعه ابراز میدارند. مقاله حاضر منتج از پژوهش مصوب معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه است (شماره طرح: 97354).

References

1. National High Blood Pressure Education Program. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. National Heart, Lung, and Blood Institute (US): Bethesda (MD); 2004. Report No.: 04-5230.
2. Cabrera CP, Ng FL, Warren HR, Barnes MR, Munroe PB, Caulfield MJ. et al. Exploring hypertension genome-wide association studies findings and impact on pathophysiology, pathways, and pharmacogenetics. Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med 2015; 7(2): 73-90.
3. Strijdom H, Chamane N, Lochner A. Nitric oxide in the cardiovascular system: a simple molecule with complex actions. Cardiovasc J Afr 2009; 20(5): 303-310.
4. Bian K, Doursout MF, Murad F. Vascular system: role of nitric oxide in cardiovascular diseases. J Clin Hypertens (Greenwich) 2008; 10(4): 304-310.
5. Rafikov R, Fonseca FV, Kumar S, Pardo D, Darragh C, Elms S, et al. eNOS activation and NO function: structural motifs responsible for the posttranslational control of endothelial nitric oxide synthase activity. J Endocrinol 2011; 210(3): 271-284.
6. Qian J, Fulton D. Post-translational regulation of endothelial nitric oxide synthase in vascular endothelium. Front Physiol 2013; 4: 347.
7. Liu J, Wang L, Liu Y, Wang Z, Li M, Zhang B, et al. The association between endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism and hypertension in Han Chinese: a case-control study and an updated meta-analysis. Ann Hum Biol 2015; 42(2): 184-194.
8. Kayhan FE, Koldemir M, Cagatay P, Ciftci C, Susleyici-Duman B. Prevalence of endothelial nitric oxide synthase E298D polymorphism in Turkish patients with essential hypertension. Diabetes & Metabolic Syndrome 2013; 7(1): 12-16.
9. Azizi A, Abdoli MR, Abdoli G. The Prevalence of hypertension and its association with age, sex, and BMI in a population being educated using community-based medicine in Kermanshah: 2003. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2008; 10(4): 323-329.
10. Menashe I, Rosenberg PS, Chen BE. PGA: power calculator for case-control genetic association analyses. BMC Genet 2008; 9: 36.
11. Sole X, Guino E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]

association studies. Bioinformatics 2006; 22(15): 1928-1929.

12. Xu HM, XU LF, Hou TT, Luo LF, Chen GB, Sun XW, et al. GMDR: versatile software for detecting gene-gene and gene-environment interactions underlying complex traits. Curr Genomics 2016; 17(5): 396-402.
13. Singh M, Singh AK, Pandey P, Chandra S, Singh KA, Gambhir IS. Molecular genetics of essential hypertension. Clin Exp Hypertens 2016; 38(3): 268-277.
14. Hingorani AD. Endothelial nitric oxide synthase polymorphisms and hypertension. Curr Hypertens Rep 2003; 5(1): 19-25.
15. Farbood Z, Sabeti Aghabozorgi A, Nejatizadeh A, Farshidi H, Shams L, Bahreyni A, et al. Endothelial Nitric Oxide Synthase Gene Polymorphisms (-922A>G, -786T>C, Intron 4 b/a VNTR and 894G>T) and Essential Hypertension: An Association Study with Haplotypes Analysis. Biochem Genet 2020; 58(4): 518-532.
16. Srivastava K, Narang R, Sreenivas V, Das S, Das N. Association of eNOS Glu298Asp gene polymorphism with essential hypertension in Asian Indians. Clin Chim Acta 2008; 387(1-2): 80-83.
17. ALrefai AA, Habib MS, Yaseen RI, Gabr MK, Habeeb RM. Association of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene G894T polymorphism with hypertension risk and complications. Mol Cell Biochem 2016; 421(1-2): 103-110.
18. Shoji M, Tsutaya S, Saito R, Takamatu H, Yasujima M. Positive association of endothelial nitric oxide synthase gene polymorphism with hypertension in northern Japan. Life Sci 2000; 66(26): 2557-2562.
19. Nassereddine S, Hassani Idrissi H, Habbal R, Abouelfath R, Korch F, et al. The G894T polymorphism of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene and susceptibility to essential hypertension (EH) in Morocco. BMC Med Genet 2018; 19(1): 127.
20. Friebe A, Mergia E, Dangel O, Lange A, Koesling D. Fatal gastrointestinal obstruction and hypertension in mice lacking nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. Proc Natl Acad Sci U S A 2007; 104(18): 7699-7704.
21. Buys ES, Sips P, Vermeersch P, Raher MJ, Rogge E, Ichinose F, et al. Gender-specific hypertension and responsiveness to nitric oxide in sGCalpha1 knockout mice. Cardiovasc Res 2008; 79(1): 179-186.
22. Ehret GB, Munroe PB, Rice KM, Bochud M, Johnson AD, Chasman DI, et al. Novel pathways-related genetic variants influence blood pressure and cardiovascular disease risk. Nature 2011; 478(7367): 103-109.
23. Fidock M, Miller M, Lanfear J. Isolation and tissue-specific distribution of two splice variants of human cDNAs encoding PDE1 splice variants. Cell Signal 2002; 14(1): 53-60.
24. Chen Y, Zhu L, Fang Z, Jin Y, Shen C, Yao Y,et al. Soluble guanylate cyclase contribute genetic susceptibility to essential hypertension in the Han Chinese population. Ann Transl Med 2019; 7(22): 620.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-25]