

Serum Level and rs1800799 Polymorphism of MGP Gene Promoter in Patients with Coronary Arteries Stenosis

Asghar Mohammadi¹,
Seyyed Reza Hosseini-Fard¹,
Abazar Roustazadeh²,
Mohammad Naiafi³,
Abdollah Amirfarhangi⁴

¹ MSc Student in Clinical Biochemistry, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Assistant Professor, Department of Biochemistry, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

³ Associate Professor, Department of Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

⁴ Assistant Professor, Rajaee Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received February 22, 2016 ; Accepted August 22, 2016)

Abstract

Background and purpose: Coronary artery stenosis is a progressive process associated with artery calcification. Although the role of matrix Gla protein (MGP) is not completely clear but its expression in vascular smooth muscle cells (VSMCs) and sub-endothelial macrophages suggests a role in vascular calcification. The rs1800799 is one of the polymorphisms oriented within transcription factor elements in the promoter region of the MGP gene that may modify MGP expression patterns resulting in artery calcification. In this study, we examined the serum level and rs1800799 polymorphism of MGP gene promoter in patients with stenosis of coronary artery in Tehran.

Materials and methods: One hundred sixty three individuals undergoing coronary angiography were divided into two groups: patients (n=100) and controls (n=63). The lipid profile, serum MGP concentration and rs1800799 genotypes were measured by routine laboratory, ELIZA, and RFLP-PCR assays, respectively.

Results: In this study, we observed positive relationships between the two groups in LDL, total cholesterol, and TG levels ($P < 0.05$). The HDL, BMI, history of renal disease, diastolic blood pressure and systolic blood pressure were not significantly different between the patients and controls ($P > 0.05$). Also, genotype and allele distributions did not differ significantly between the cases and controls ($P > 0.05$). Furthermore, the serum levels of MGP were not significantly different between genotypes ($P > 0.1$).

Conclusion: In this study, the rs1800799 genotype distribution and serum MGP value were not significantly associated with coronary heart disease. Moreover, the serum MGP level showed no major role in the progression of coronary artery stenosis.

Keywords: stenosis, MGP, rs 1800799 polymorphism

مطالعه غلظت سرمی و پلی مورفیسم rs1800799 پروموتور ژن MGP در بیماران با تنگی عروق کرونر

اصغر محمدی^۱
سید رضا حسینی فرد^۱
اباذر روستازاده^۲
محمدنجفی^۳
عبداله امیرفرهنگی^۴

چکیده

سابقه و هدف: استنوزیس عروق کرونری یک فرآیند پیشرونده است که با کلسیفیکاسیون عروق همراه می شود. اگر چه هنوز نقش ماتریکس Gla پروتئین (MGP) کاملاً مشخص نیست، اما بیان آن در ماکروفاژهای ساب اندوتلیال و سلول های ماهیچه ای صاف عروق (VSMCs) نقش این پروتئین را در کلسیفیکاسیون عروقی پیشنهاد می کند. پلی مورفیسم rs1800799 یکی از پلی مورفیسم های قرار گرفته در عناصر فاکتورهای نسخه پرداری موجود در پروموتور ژن MGP بوده که ممکن است با تغییر میزان بیان MGP، منجر به تغییر در میزان کلسیفیکاسیون عروق شود. لذا در این مطالعه به بررسی غلظت سرمی و پلی مورفیسم rs1800799 پروموتور ژن MGP در بیماران با تنگی عروق کرونر شهر تهران پرداختیم.

مواد و روش ها: ۱۶۳ نفر از افراد آنژیوگرافی شده به دو دسته بیمار (۱۰۰ نفر) و کنترل (۶۳ نفر) تقسیم کرده و پس از نمونه گیری، پروفایل لیپیدی با تست های روتین آزمایشگاهی، غلظت سرمی MGP

یافته ها: در این مطالعه رابطه معنی داری بین سطح سرمی LDL، کلسترول تام و تری گلیسرید در دو گروه بیمار و کنترل مشاهده شد ($P < 0/05$). هم چنین رابطه معنی داری بین سطح سرمی HDL، BMI، سابقه بیماری های کلیوی و فشار خون سیستولی و دیاستولی در دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نگردید ($P > 0/05$). توزیع آللی و ژنوتیپی بین دو گروه بیمار و کنترل معنی دار نبود ($P > 0/05$). هم چنین سطوح سرمی MGP بین ژنوتیپ ها معنی دار نبود ($P > 0/1$).

استنتاج: در این جامعه آماری، توزیع ژنوتیپی پلی مورفیسم rs1800799 و سطح سرمی MGP ارتباط معنی داری با بیماری های عروق کرونری نداشت. هم چنین سطح سرمی MGP نقش مهمی در پیشرفت استنوزیس عروق کرونری ندارد.

واژه های کلیدی: استنوزیس، MGP، پلی مورفیسم rs1800799

مقدمه

پیشرونده است که با کلسیفیکاسیون عروق همراه می شود (۲). برخی از مطالعات نشان داده اند که کلسیفیکاسیون عروق یک فرایند فعال و تنظیم شده همانند تشکیل استخوان می باشد که در آن کلسیم

با وجود کاهش مرگ و میر ناشی از بیماری های قلبی عروقی، گزارشات سازمان جهانی بهداشت (WHO) نشان می دهد که بیماری های مربوط به عروق کرونری هنوز هم مهم ترین عامل مرگ و میر می باشند

E-mail: rezahoseinfard1@gmail.com

مؤلف مسئول: سید رضا حسینی فرد - تهران: دانشگاه علوم پزشکی ایران

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران

۳. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۴. استادیار، بیمارستان حضرت رسول، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۶/۱

فسفات در رگ های خونی، قلب و دریچه های قلبی رسوب می کند (۳، ۴). عواقب بالینی کلسیفیکاسیون های قلبی و عروقی بستگی به میزان درگیری عضو مربوطه دارد (۵). هیدروکسی آپاتیت مهم ترین شکل کلسیم می باشد که در عروق رسوب می کند و دیده شده است که در بیش از ۹۰ درصد بیماران با بیماری های قلبی عروقی (CAD) سطوح آن بالا می باشد (۶). کلسیفیکاسیون خارج سلولی جزو شایع ترین و مهم ترین رویداد برخی از بیماری های مهم مانند آترواسکلروزیس و استنوزیس دریچه های قلبی می باشد. قبلاً نقش پروتئین های ماتریکس خارج سلولی در پاتوژنیز کلسیفیکاسیون عروقی در مراحل ابتدایی آترواسکلروزیس پیشنهاد شده است (۷، ۸). به نظر می رسد سلول های دیواره عروق در برخی شرایط می توانند یک فنوتیپ استئوبلاست مانند را بروز دهند که ممکن است در بیان پروتئین های ماتریکس خارج سلولی مانند پروتئین ماتریکسی Gla (MGP) درگیر باشد (۹). MGP در روی سلول های ماهیچه ای صاف عروق (VSMCs)، ماکروفاژها و در کندروسیت ها بیان شده ولی در استئوبلاست ها بیان نمی شود. MGP در ابتدا از استخوان جدا شده بود و مشاهده شده است که در بافت های مختلف از جمله کلیه، ریه، قلب، غضروف و VSMC دیواره عروق خونی بیان می شود (۱۰، ۱۱). این پروتئین دارای ۸۴ اسید آمینه (حدود ۱۲ کیلو دالتون) بوده و دارای پنج ریشه گاما-کربوکسی گلو تامیک اسید (Gla) می باشد. ریشه های Gla در MGP به وسیله گاما-کربوکسیلاسیون ریشه های خاصی از گلو تامیک اسید توسط آنزیم گاما-کربوکسیلاز که نیازمند شکل احیا ویتامین k می باشد، تولید می شوند (۱۲، ۱۳). ژن MGP (NCBI-Gene ID: 4256) روی بازوی کوچک کروموزوم ۱۲ (۳، ۱۲p۱۲) قرار دارد. تاکنون بیش از ۹۰ پلی مورفیسم از ژن MGP در dbSNP (www.ncbi.nlm.nih.gov/snp) گزارش شده است (۱۴، ۱۵). برخی از این پلی مورفیسم ها می توانند عملکرد این پروتئین را تغییر دهند. یکی از پلی مورفیسم های مهم در

ژن MGP پلی مورفیسم rs1800799 می باشد (۱۲، ۱۶). رابطه بین پلی مورفیسم های MGP و سکتة قلبی (۱۵)، کلسیفیکاسیون عروق کرونری (۱۳) و کلسیفیکاسیون واسکولار آترواسکلروتیک (۱۷) در چند مطالعه مورد بررسی قرار گرفته اند، اما نتایج با هم تطبیق نداشتند. هم چنین مطالعه ای که به بررسی استنوزیس عروق کرونر پرداخته باشد، انجام نگرفته است. هدف این مطالعه بررسی غلظت سرمی و پلی مورفیسم rs1800799 پروموتور ژن MGP در بیماران با تنگی عروق کرونر شهر تهران بود.

مواد و روش ها

این مطالعه به صورت مقطعی-توصیفی (Descriptive Cross-Sectional) و نمونه گیری به صورت تصادفی (Randomized Sampling Method) انجام شد. تعداد افراد مورد مطالعه ۱۶۳ نفر از کسانی بودند که به منظور انجام آنژیوگرافی عروق کرونری به بیمارستان حضرت رسول شهر تهران مراجعه کرده بودند ($n=163$, $p=0.051$, $q=0.049$, $Z\alpha=1.96$, $Z\beta=1.28$, $d=0.29$) پس از کسب رضایت و آگاه کردن فرد از این که این مطالعه به سطح بهداشت جامعه کمک خواهد کرد، تاریخچه پزشکی افراد داوطلب توسط پزشک متخصص آنژیوگرافی پرسیده شد. افراد با سابقه سکتة قلبی، دیابت ($FBS < 120 \text{ mg/dl}$) و بیماری های کلیوی و کبدی از مطالعه حذف شدند. بیماران (۱۰۰ نفر) بر اساس تعداد رگ قلبی گرفته شده به سه گروه تقسیم شدند:

– Single Vessel Disease (SVD): در این بیماران یک رگ گرفته با حداقل گرفتگی ۵۰ درصد وجود داشت.
– Two Vessel Disease (2VD): در این بیماران دو رگ گرفته با حداقل گرفتگی ۵۰ درصد در هر کدام از رگ ها وجود داشت.
– Three Vessel Disease (3VD): در این بیماران سه رگ گرفته با حداقل گرفتگی ۵۰ درصد در هر کدام از رگ ها وجود داشت.

- اتصال پرایمر (Annealing): دمای Annealing به مدت ۳۵ ثانیه در 62°C بود.

- طولیل شدن (Extension): دمای Extension به مدت ۳۵ ثانیه در 72°C بود.

در پایان ۴ دقیقه در دمای 72°C به عنوان Extension نهایی منظور شد.

محصول PCR که ۴۷۳ باز طول داشت، روی ژل آگارز (۲ درصد) حاوی رنگ DNA Green Viewer (Bioran, Germany) مشاهده شد. rs1800799 فاقد مکان برش بود، بنابراین همان طور که در تصویر شماره ۱ نشان داده شده است، جایگاه برش آنزیم HinfI (Fermentas, Finland) که پیوند بین گوانین و آدنین در سکونس '5'GATC3' را برش می‌دهد، بر روی پرایمر ریورس طراحی شد. پس از اضافه کردن آنزیم بر روی محصول PCR، محصولات هضم شده بر روی ژل آگارز (۲ درصد) حاوی رنگ DNA Green Viewer برده شده و سپس به وسیله UV transillumination مشاهده شدند. آنزیم HinfI قادر بود که محصول PCR را که حاوی آلل T باشد را برش دهد. انتظار می‌رفت که در هموزیگوت‌های TT، قطعاتی به طول ۴۲۵ و ۴۸ جفت باز، در هموزیگوت‌های CC قطعه‌ای به طول ۴۷۳ جفت باز و در هتروزیگوت‌های CT قطعاتی به طول ۴۷۳، ۴۲۵ و ۴۸ جفت باز روی آگارز مشاهده شود (تصویر شماره ۲).

نتایج آماری

با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸، آنالیز انجام شد و نتایج کمی به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شدند. تفاوت بین گروه‌ها به وسیله تست‌های student-t، Chi square و ANOVA به دست آمد. از آنالیز رگرسیون لجستیک به منظور ارزیابی فاکتورهای مهم در استنوزیس عروق کرونر و غلظت MGP سرمی استفاده شد. p کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

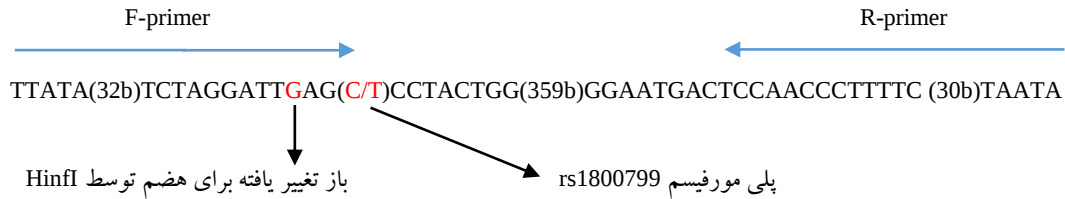
کنترل‌ها (۶۳ نفر) عروق کرونری نرمال (حداکثر ۵ درصد گرفتگی عروق کرونری) داشتند. نمونه‌گیری در دو لوله حاوی ضد انعقاد EDTA و فاقد ضد انعقاد خون (هر کدام ۵ سی‌سی خون) از افراد مورد مطالعه گرفته شد. به منظور جدا کردن سرم، لوله فاقد انعقاد خون را به مدت ۱۰ دقیقه در دور 2500 RPM سانتریفیوژ (۱۸) و پروفایل لیپیدی شامل کلسترول تام، تری‌گلیسرید، HDL-Cholesterol به وسیله روش‌های روتین آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. LDL-Cholesterol به وسیله فرمول Friedwald محاسبه و هم‌چنین غلظت MGP سرمی به وسیله تست الایزا (Antibodies Online, Cusabio Biotech Co) اندازه‌گیری شد.

جداسازی بافی‌کوت و استخراج DNA

به منظور جداسازی بافی‌کوت، لوله حاوی EDTA را ۱۰ دقیقه در دور 2800 RPM سانتریفیوژ و بافی‌کوت تشکیل شده جداسازی شد (۱۹). DNA گلبول‌های سفید با استفاده از روش نمکی (salting-out) استخراج شد (۲۰). RFLP-PCR (با استفاده از تکنیک RFLP-PCR پلی‌مورفیسم rs1800799 به صورت زیر تعیین شد: حجم نهایی واکنش PCR برابر با ۲۵ میکرولیتر و غلظت مواد استفاده شده به صورت زیر بود: Mgcl2 (۱/۵ میلی‌مولار)، تک پلی‌مراز (Hot start (1.5U)، DNA ژنومی (۰/۲ میکروگرم)، primer (1μM; 5'-ATAATTATATTATTGGCACTGAACTAGC R-primer و F-ATTGGAACCTTTTCCCAACC-3' (1μM; 5'-TTATAATATTCTGATTAGTCTGG GATTGATAGATTGGTCTAGGATTGAG-3')) پروتکل دمایی PCR استفاده شده به صورت زیر بود: دناتوراسیون اولیه (Initial Denaturation): دناتوراسیون اولیه DNA به مدت ۵ دقیقه در دمای 95°C بود.

- تعداد سیکل PCR برابر با ۲۰ سیکل و به صورت زیر بود:

- دناتوراسیون (Denaturation): دمای دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در 95°C بود.

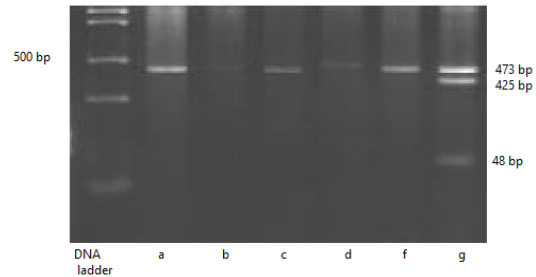


تصویر شماره ۱: قطعه تکثیر داده شده با PCR و محل برش آن توسط آنزیم HinfI

نداد. ژنوتیپ TT در بین جمعیت مورد مطالعه دیده نشد و بنابراین فراوانی ژنوتیپ CT نادر بود (جدول شماره ۲).

جدول شماره ۱: ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه

پارامتر	کنترل (N=63)	بیمار (N=100)	سطح معنی داری
جنسیت (مرد/زن)	۴۵/۱۸	۳۰/۷۰	۰/۰۰۱
سن (سال)	۱۴/۷۴ ± ۵۵/۴۳	۱۱/۸۳ ± ۶۱/۸۲	۰/۰۰۳
BMI(kg/m2)	۶/۳۰ ± ۲۶/۶۱	۴/۴۸ ± ۲۵/۲۱	۰/۱۱۸
فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)	۲۸/۴۹ ± ۱۲۳/۶۸	۲۳/۵۲ ± ۱۳۰/۸۹	۰/۰۰۸
فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)	۱۹/۳۲ ± ۷۵/۲۱	۱۷/۵۹ ± ۷۸/۷۸	۰/۲۲
سیگار (بله/خیر)	۵۱/۱۲	۷۵/۲۵	۰/۳۷
LDL-Cholesterol (mg/dl)	۲۹/۳۹ ± ۹۷/۲۷	۲۶/۴۷ ± ۱۲۱/۸۳	۰/۰۰۱
HDL-Cholesterol(mg/dl)	۱۰/۵۵ ± ۴۱/۱۱	۱۱/۶۳ ± ۴۰/۱۷	۰/۰۶
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۶۶/۴۶ ± ۱۶۳/۸۳	۷۸/۲۷ ± ۱۹۵/۴۵	۰/۰۰۹
کلسترول تام (میلی گرم در دسی لیتر)	۴۲/۴۶ ± ۱۶۱/۱۹	۴۰/۶۸ ± ۱۸۳/۳۸	۰/۰۰۱
سابقه بیماری کلیوی (ندارد/دارد)	۰/۶۳	۳/۹۷	۰/۱۶



تصویر شماره ۱: محصول PCR که با آنزیم HinfI شکسته شده است. محصول PCR دارای ۴۷۳ جفت‌باز بود. a, b, c, d و f موارد هموزیگوت CC بودند که به دلیل عدم جایگاه برش برای آنزیم HinfI دست نخورده ماندند. مورد g هتروزیگوت CT بود که در آن قطعاتی به طول ۴۷۳، ۴۲۵ و ۴۸ جفت باز ایجاد شد. فراوانی مورد TT صفر بود.

یافته ها

ویژگی‌های جمعیتی

برخی از ویژگی‌های ۱۶۳ نفر مورد مطالعه (۱۰۰ مرد و ۶۳ زن) در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. در مقایسه با گروه کنترل، بیماران به طور معنی داری مسن تر بودند. نتایج ما نشان داد که بیماران در مقایسه با افراد کنترل به طور معنی داری سطوح بالاتری از LDL-Cholesterol، کلسترول تام و تری گلیسرید داشتند. در این جا تفاوت معنی داری بین غلظت سرمی HDL-cholesterol، BMI، مصرف سیگار، سابقه بیماری کلیوی، فشار خون سیستولی و فشار خون دیاستولی دو گروه مشاهده نشد.

ژنوتیپ rs1800799 (C/T)

نتایج ما تفاوت معنی داری را بین ژنوتیپ‌ها (CC و CT) و آلل‌ها (C و T) در بین گروه کنترل و بیمار نشان

جدول شماره ۲: توزیع ژنوتیپی و آللی در گروه‌های کنترل و بیمار

آلل ژنوتیپ	کنترل (n=63) تعداد (درصد)	بیمار (n=100) تعداد (درصد)	سطح معنی داری
rs1800799			
C	۱۹۸ (۹۹/۰)	۱۲۳ (۹۷/۶۱)	آلل
T	۲ (۱/۰)	۳ (۲/۳۹)	
CC	۹۸ (۹۸)	۶ (۹۵/۲)	ژنوتیپ
TC	۲ (۲)	۳ (۴/۸)	
TT	۰ (۰)	۰ (۰)	

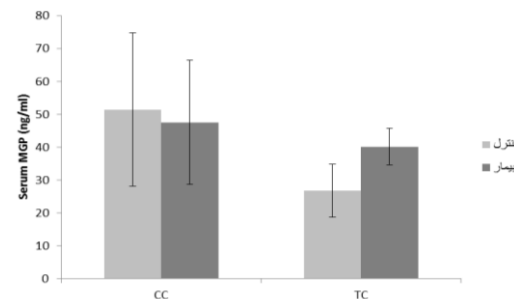
سطح سرمی MGP

تفاوت معنی داری بین سطح MGP و ژنوتیپ‌های CC و CT در گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد (به ترتیب $p=0/248$ و $p=0/136$) (نمودار شماره ۱). هم چنین سن، جنس، LDL-Cholesterol، HDLCholesterol و تری گلیسرید اثری بر غلظت MGP نداشتند (جدول شماره ۳). آنالیز رگرسیون لجستیک چندگانه نشان داد که در جامعه آماری مطالعه شده، پلی مورفیسم rs1800799

در پیشرفت استنوزیس نقش نداشته است. جنسیت با SVD، 2VD و 3VD رابطه معنی داری داشت. رابطه معناداری بین LDL-C با 3VD مشاهده شد (جدول شماره ۴).

جدول شماره ۳: اثر پارامترهای جنس، سن و پروفایل لیپیدی بر روی غلظت سرمی MGP

پارامتر	Unstandardized coefficients B	Standardized coefficients Beta	T	سطح معنی داری
سن (سال)	-۰/۱۸	-۰/۱۱	-۱/۴۸	۰/۱۴
جنس (مرد/زن)	۳/۴۶	۰/۱۳۸	۱/۴۵	۰/۰۸۳
LDL-cholesterol(mg/dl)	۰/۶۲	۰/۱۲۷	۱/۴۰۱	۰/۱۶۳
HDL-cholesterol(mg/dl)	-۰/۰۶۹	-۰/۰۳۸	-۰/۴۷۹	۰/۶۳۳
تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)	۰/۰۰۷	۰/۰۲۶	۰/۲۸۸	۰/۷۷۳



نمودار شماره ۱: رابطه بین غلظت MGP با ژنوتیپ های CC و CT

بحث

MGP یک مهارکننده قوی در کلسیفیکاسیون عروق و غضروف می باشد. بنابراین می تواند در کلسیفیکاسیون پلاک ها و در بیماری های قلبی - عروقی نقش داشته باشد. در استنوزیس عروق کرونری،

کلسیفیکاسیون یک مشکل پزشکی مهم محسوب می شود. برخی مطالعات نشان داده اند که پلی مورفیسم rs1800799 در پروموتور MGP منجر به تغییر بیان ژن MGP می شود (۲۱). از آنجایی که موقعیت پلی مورفیسم rs1800799 در محل اتصال فاکتورهای نسخه برداری قرار دارد، لذا در این پلی مورفیسم مورد توجه قرار گرفت. در این مطالعه ما برای اولین بار به بیان رابطه بین پلی مورفیسم rs1800799 مربوط به پروموتور MGP با سطح MGP در بیماران CAD پرداختیم. با این وجود فراوانی تغییرات این سایت بسیار اندک بود و در مطالعه ما تنها ۵ مورد هتروزیگوت مشاهده گردید. اگرچه در مطالعات محدودی از جمله مطالعه Herrmann و همکاران (۱۶) در جمعیت فرانسوی و فنلاندی چنین نتایجی به دست آمده است، ولی در بسیاری از مطالعات به اهمیت این مکان پلی مورفیک اشاره نشده است. به عبارتی مطالعه کنونی و مطالعه Herrmann تنها مطالعاتی هستند که این موقعیت را بررسی نموده اند. هم جهت با نتایج ما، Ataman، Harbuzova و همکارانشان (۲۳، ۲۲) گزارش کرده بودند که پلی مورفیسم rs1800799 در ایجاد سندرم حاد کرونری و سکتة ایسکمیک نقش ندارد. در مطالعه ما گروه های بیمار و کنترل بر اساس درجه استنوزیس عروق کرونر تقسیم بندی شدند، در حالی که اکثر مطالعات از لحاظ آنژیوگرافی، عروق کرونر را ارزیابی نکرده بودند. بدین ترتیب، میزان آسیب عروق

جدول شماره ۴: اثر متغیرهای مورد بررسی بر روی استنوزیس عروق کرونر بر اساس آنالیز رگرسیون لجستیک چندگانه

3VD		2VD		SVD		پارامترها
P value	OR(CI)	P value	OR(CI)	P value	OR(CI)	
۰/۲۱۳	۱/۰۲۶ (۰/۹۸۵-۱/۰۶۹)	۰/۰۰۷	۱/۰۷۰ (۱/۰۱۹-۱/۱۲۳)	۱/۰۷۰-۰/۹۶۴	۱/۰۱۵	سن (سال)
۰/۰۰۰	۰/۰۷۸ (۰/۰۲۸-۰/۲۲۱)	۰/۰۰۲	۰/۱۶۱ (۰/۰۵۲-۰/۵۰۰)	۰/۰۱۸	۰/۲۱۶ (۰/۰۶۱-۰/۷۶۵)	جنس (مرد/زن)
۰/۰۰۳	۱/۰۴۲ (۱/۰۱۴-۱/۰۷۰)	۰/۱۰۲	۱/۰۲۵ (۰/۹۹۵-۱/۰۵۵)	۰/۱۰۴	۱/۰۲۹ (۰/۹۹۴-۱/۰۶۴)	LDL-C (mg/dl)
۰/۷۴۱	۰/۹۹۲ (۰/۹۴۶-۱/۰۴۰)	۰/۵۷۶	۱/۰۱۵ (۰/۹۶۳-۱/۰۷۰)	۰/۲۳۲	۱/۰۳۹ (۰/۹۷۶-۱/۰۱۰۶)	HDL-C (mg/dl)
۰/۷۰۲	۱/۰۰۱ (۰/۹۹۴-۱/۰۰۹)	۰/۱۴۳	۱/۰۰۷ (۰/۹۹۸-۱/۰۱۵)	۰/۵۵۴	۱/۰۰۳ (۰/۹۹۳-۱/۰۱۲)	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۶۸۷	۰/۹۹۶ (۰/۹۸۰-۱/۰۱۴)	۰/۵۲۱	۰/۹۹۴ (۰/۹۷۵-۱/۰۱۳)	۰/۶۳۰	۱/۰۰۶ (۰/۹۸۳-۱/۰۲۹)	کلسترول (میلی گرم در دسی لیتر)
۰/۶۷۵	۰/۹۸۱ (۰/۸۹۷-۱/۰۷۳)	۰/۱۹۵	۰/۹۴۰ (۰/۸۵۵-۱/۰۳۲)	۰/۳۷۰	۱/۰۶۰ (۰/۹۳۴-۱/۰۲۰۳)	BMI(km/m2)
۰/۰۶۲	۱/۰۲۸ (۰/۹۹۹-۱/۰۵۹)	۰/۳۱۸	۱/۰۱۷ (۰/۹۸۴-۱/۰۵۰)	۰/۳۲۰	۰/۹۵۲ (۰/۹۰۱-۱/۰۰۶)	* SBP (mmHg)
۰/۲۴۲	۰/۹۷۵ (۰/۹۳۴-۱/۰۱۷)	۰/۸۴۹	۱/۰۰۵ (۰/۹۵۷-۱/۰۵۵)	۰/۵۶۳	۱/۰۱۵ (۰/۹۶۵-۱/۰۶۸)	** DBP (mmHg)
۰/۴۸۳	۰/۹۹۱ (۰/۹۶۷-۱/۰۱۶)	۰/۴۴۹	۱/۰۰۹ (۰/۹۸۴-۱/۰۳۴)	۰/۳۹۵	۰/۹۸۶ (۰/۹۵۴-۱/۰۱۹)	MGP(ng/ml)
۰/۷۹۳	۰/۷۰۱ (۰/۰۵۰-۰/۹۰۸)	۰/۹۵۶	۱/۰۷۶ (۰/۰۸۳-۱/۳/۹۹)	۰/۹۸۵	۰/۹۸۶ (۰/۹۵۴-۱/۰۱۹)	rs1800799

* SBP: فشار خون سیستولی

** DBP: فشار خون دیاستولی

ژنوتیپ و فنوتیپ پلی مورفیسم rs1800799 پروموتور ژن MGP با استنوزیس عروق مشاهده نشد. هم‌چنین رابطه معنی‌داری بین سطح سرمی پروتئین MGP، به عنوان یک جاروب‌کننده کلسیم، در فرآیند آترواسکلروزیس مشاهده نشد؛ بنابراین کلسیفیکاسیون عروقی ممکن است به سایر مسیرهای فعال‌شده مولکولی مربوط باشد. البته مطالعات باید ادامه پیدا کنند، زیرا در مطالعه حاضر، عملکرد MGP روی بهبود پلاک‌های آترواسکلروزی در عروق کرونر ارزیابی نشد.

به عنوان معیاری برای تقسیم‌بندی، خصوصاً برای افراد سالم، کمی مبهم بود. اگرچه برخی مطالعات رابطه بین غلظت MGP سرمی با میزان کلسیفیکاسیون عروقی را گزارش کرده بودند (۲۴)، اما در موش‌هایی که ژن MGP آن‌ها از بین برده شده است، افزایش سطح سرمی MGP کلسیفیکاسیون عروقی را مهار نمی‌کند (۲۵). نتایج ما با نتایج Farzaneh-Far و همکارانش در مورد عدم رابطه بین سطح سرمی MGP و پلی مورفیسم rs1800799 مشابه بود (۱۲). در نهایت در جامعه مطالعه شده، رابطه‌ای بین توزیع

References

1. Erbel R, Budoff M. Improvement of cardiovascular risk prediction using coronary imaging: subclinical atherosclerosis: the memory of lifetime risk factor exposure. *Eur Heart J* 2012; 33(10): 1201-1213.
2. Lee KB, Budoff MJ, Zavodni A, Polak JF, Jeffrey Carr J, Burke GL, Herrington DM. Coronary artery calcium is associated with degree of stenosis and surface irregularity of carotid artery. *Atherosclerosis* 2012; 223(1): 160-165.
3. Takeda Y, Hoshiga M, Tatsugami F, Morinaga I, Takehara K, Hotchi J, et al. Clinical significance of calcification in ascending aorta as a marker for the requirement of coronary revascularization. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16(4): 346-354.
4. Brancaccio D, Biondi ML, Gallieni M, Turri O, Galassi A, Cecchini F, et al. Matrix GLA protein gene polymorphisms: clinical correlates and cardiovascular mortality in chronic kidney disease patients. *Am J Nephrol* 2005; 25(6): 548-552.
5. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte MJ, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15(4): 827-832.
6. Proudfoot D, Shanahan CM. Biology of calcification in vascular cells: intima versus media. *Herz* 2001; 26(4): 245-251.
7. Sanz-Garcia A, Oliver-de-la-Cruz J, Mirabet V, Gandia C, Villagrasa A, Sodupe E, Escobedo-Lucea C. Heart valve tissue engineering: how far is the bedside from the bench? *Expert Rev Mol Med* 2015; 17: e16.
8. Mohler ER 3rd. Are atherosclerotic processes involved in aortic valve calcification? *Lancet* 2000; 356(9229): 524-525.
9. Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, Cleutjens KB, Geusens PP, Kitslaar PJ, et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21(12): 1998-2003.
10. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004; 165(5): 625-630.
11. Hansson K, Ma X, Eliasson L, Czerwiec E, Furie B, Furie BC, et al. The first gamma-carboxyglutamic acid-containing contryphan. A selective L-type calcium ion channel

- blocker isolated from the venom of *Conus marmoreus*. *J Biol Chem* 2004; 279(31): 53-63.
12. Farzaneh-Far A, Davies JD, Braam LA, Spronk HM, Proudfoot D, Chan SW, et al. A polymorphism of the human matrix gamma-carboxyglutamic acid protein promoter alters binding of an activating protein-1 complex and is associated with altered transcription and serum levels. *J Biol Chem* 2001; 276(35): 32466-32473.
 13. Crosier MD, Booth SL, Peter I, Dawson-Hughes B, Price PA, O'Donnell CJ, et al. Matrix Gla protein polymorphisms are associated with coronary artery calcification in men. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* 2009; 55(1): 59-65.
 14. Proudfoot D, Shanahan CM. Molecular mechanisms mediating vascular calcification: Role of matrix Gla protein. *Nephrology (Carlton)* 2006; 11(5): 455-461.
 15. Jono S, Ikari Y, Vermeer C, Dissel P, Hasegawa K, Shioi A, et al. Matrix Gla protein is associated with coronary artery calcification as assessed by electronbeam computed tomography. *Thromb Haemost* 2004; 91(4): 790-794.
 16. Herrmann SM, Whatling C, Brand E, Nicaud V, Gariépy J, Simon A, et al. Polymorphisms of the human matrix gla protein (MGP) gene, vascular calcification, and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20(11): 2386-2393.
 17. Kobayashi N, Kitazawa R, Maeda S, Schurgers L, Kitazawa S. T-138C polymorphism of matrix gla protein promoter alters its expression but is not directly associated with atherosclerotic vascular calcification. *Kobe J Med Sci* 2004; 50(3-4): 69-81.
 18. Lv W, Ma W, Yin X, Chai Z, Li B, Situ B, et al. Optimization of the Original TRIzol-Based Technique Improves the Extraction of Circulating MicroRNA from Serum Samples. *Clin Lab* 2015; 61(12): 1953-1960.
 19. Brenier-Pinchart MP, Capderou E, Bertini RL, Bailly S, Fricker-Hidalgo H, Varlet-Marie E. Molecular diagnosis of toxoplasmosis: value of the buffy coat for the detection of circulating *Toxoplasma gondii*. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2015; 82(4): 289-291.
 20. Shaik M, Shivanna DK, Kamate M, Ab V4, Tp KV1. Single Lysis-Salting Out Method of Genomic DNA Extraction From Dried Blood Spots. *J Clin Lab Anal* 2016.
 21. Ladich E, Nakano M, Carter-Monroe N, Virmani R. Pathology of calcific aortic stenosis. *Future Cardiol* 2011; 7(5): 629-642.
 22. Ataman AV, Garbusova VY, Ataman YA, Matlaj OI, Obuchova OA. Investigation of the MGP promoter and exon 4 polymorphisms in patients with ischemic stroke in the Ukrainian population. *J Cell Mol Biol* 2012; 10(1): 19-26.
 23. Harbuzova Vlu, Hur'ianova VL, Parkhomenko OM, Dosenko VIe, Ataman OV. The frequency of allelic polymorphism of matrix Gla-protein gene in acute coronary syndrome patients. *Fiziol Zh* 2011; 57(3): 16-24.
 24. Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006; 18(9): 1400-1407.
 25. Pombinho AR, Laize V, Molha DM, Marques SM, Cancela ML. Development of two bone-derived cell lines from the marine teleost *Sparus aurata*; evidence for extracellular matrix mineralization and cell-type-specific expression of matrix Gla protein and osteocalcin. *Cell Tissue Res* 2004; 315(3): 393-406.