مطالعه توزیع پلی‌مورفیسم‌های rs1050450، rs4673 و rs13306294 و فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز-۱ در بیماران مبتلا به تنگی عروق کرونر در شهر تهران

اصغر محمدی[۱]، سید رضا حسینی فرد*[۱]، حسن قاسمی[۲]، بهنام علی‌پور[۲]، آمنه یارنظری[۱]، پریسا حسن‌پور[۱]، ابادر روستازاده[۳]، محمد نجفی[۴]، عظیم شمس بیرانوند[۱]، عبداله امیرفرهنگی[۵]

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

۲- دانشجوی دکترای تخصصی بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۳- استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی جهرم، جهرم، ایران.

۴- دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

۵- استادیار، بیمارستان شهید رجایی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.

یافته / دوره نوزدهم / شماره ۵ / زمستان ۹۶ / مسلسل ۷۴

چکیده

دریافت مقاله: ۹۶/۸/۲۹ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۰/۳۰

مقدمه: تنگی عروق کرونری یکی از عوارض ابتلا به آترواسکلروزیس بوده که می‌تواند منجر به کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت قلب و سکته قلبی شود. پلی‌مورفیسم rs1050450 یکی از پلی‌مورفیسم‌های مهم آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز-۱ (GPx1) بوده که می‌تواند فعالیت آنتی‌اکسیدانتی آن را تغییر دهد. همچنین دو پلی‌مورفیسم آنزیم NADPH اکسیداز، پلی‌مورفیسم‌های rs4673 و rs13306294، پیشنهاد شده است که نقش مهمی در عملکرد این آنزیم دارند. در این مطالعه ما به بررسی پلی‌مورفیسم‌های rs1050450، rs4673 و rs13306294 در بیماران با تنگی عروق کرونری پرداختیم.

مواد و روش‌ها: ۱۹۰ نفر از بیماران آنژیوگرافی شده به دو دسته بیمار (n=۱۱۴) و کنترل (n=۷۶) تقسیم شدند. پس از نمونه‌گیری پروفایل لیپیدی و مکان‌های پلی‌مورفیک به ترتیب با روش‌های روتین آزمایشگاهی و تست PCR RFLP-(ARMS) ارزیابی شدند.

یافته‌ها: در این مطالعه تفاوت معناداری بین سطوح پلاسمایی LDL و درجه تنگی عروق دیده شد. ما همچنین بین پلی‌مورفیسم rs13306294 و تنگی عروق کرونری رابطه معناداری مشاهده کردیم اما زمانی که سن، جنس و BMI لحاظ شد تفاوت معناداری بین پلی‌مورفیسم‌های rs1050450، rs4673 و rs13306294 و تنگی عروق کرونری مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم‌های rs4673، rs13306294 و rs13306294 نقشی در پیشرفت تنگی عروق کرونری ندارند.

واژه‌های کلیدی: تنگی عروق کرونری، پلی‌مورفیسم، rs4673، rs13306294، rs13306294.

*آدرس مکاتبه: تهران، دانشگاه علوم پزشکی ایران، گروه بیوشیمی بالینی.

پست الکترونیک: Rezahoseinifard1@gmail.com

مقدمه

آترواسکلروزیس یکی از بیماری‌های مهم می‌باشد که با ایجاد پلاک منجر به تنگ شدن عروق، کاهش اکسیژن‌رسانی به بافت و درنهایت سکته قلبی می‌شود (۱،۲). گونه‌های فعال اکسیژن نقش مهمی را در بسیاری از بیماری‌ها مانند فشارخون، آترواسکلروزیس، دیابت و سکته قلبی ایفا می‌کنند (۵-۳). سطوح بالای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) منجر به آسیب به پروتئین‌ها، لیپیدها، کربوهیدرات‌ها و DNA می‌شود (۶). مطالعات اخیر نشان داده‌اند که پیشرفت آترواسکلروزیس با سطوح بالای ROS در ارتباط می‌باشد (۷).

ژن GPx1 منجر به تولید گلوتاتیون پراکسیداز ۱ می‌شود (۸). گلوتاتیون پراکسیداز ۱ (GPx1) یک سلنوپروتئین محلول می‌باشد که در بالانس اکسیدانت/آنتی‌اکسیدانت نقش داشته و منجر به تبدیل پراکسیدهایی مانند H_2O_2 و ROOH به آب و الکل می‌شود (۹،۱۰). جایگاه‌های پلی‌مورفیسمی این ژن بیشتر در اینترون‌ها، اگزون‌ها و مناطق UTR ژن GPx1 قرار دارند (۱۱). این پلی‌مورفیسم‌ها می‌توانند عملکرد GPx1 را تحت تأثیر قرار دهند. یکی از SNP های مهم در ژن GPx1، rs1050450 می‌باشد (۱۲). این SNP درون اگزون شماره ۲ ژن GPx1 قرار داشته و دو آمینواسید پرولین یا لوسین را می‌تواند کد کند (۱۳). مطالعات قبلی نشان داده‌اند که فعالیت واریانت GPX1-198Leu، ۱۰ درصد کمتر از شکل طبیعی آنزیم فعالیت دارد (۱۴،۱۵). چندین مطالعه نشان داده‌اند که واریانت GPX1-198Leu ریسک ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان پستان را افزایش می‌دهد (۱۶). پرولین یک آمینواسید می‌باشد که منجر به ایجاد خمیدگی در ساختار پروتئین می‌شود؛ بنابراین جابجایی پرولین با لوسین با تغییر کنفورماسیون ساختاری جایگاه فعال آنزیم و فعالیت آن منجر به عدم بالانس اکسیدانتی/آنتی‌اکسیدانتی می‌شود (۱۷).

NAD(P)H اکسیداز، یکی از مهمترین آنزیم‌ها در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده می‌باشد. این آنزیم بیشتر در فاگوسیت‌ها، سلول‌های ماهیچه‌ای صاف عروق و سلول‌های اندوتلیال بیان می‌شوند (۱۸،۱۹). در پاسخ به برخی از محرک‌های سلولی، کمپلکس فعال شده این آنزیم بر روی غشا سازماندهی می‌شود. p22phox که ژن آن بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۶(16q24) قرار دارد یکی از اجزای عملکردی مهم NAD(P)H اکسیداز است (۲۰). در زیر واحد p22phox پلی‌مورفیسم rs4673 قرار دارد. این پلی‌مورفیسم توانایی تغییر فعالیت NAD(P)H اکسیداز را داشته و بنابراین در بیماری‌های قلبی عروقی بیشتر ارزیابی شده است (۲۱). یکی دیگر از پلی‌مورفیسم‌های مهم زیر واحد p22phox، پلی‌مورفیسم rs13306294 می‌باشد که در مجاورت پلی‌مورفیسم rs4673 قرار دارد (۲۲).

هدف از این مطالعه ارزیابی فراوانی آللی و ژنوتیپی rs1050450، rs4673 و rs13306294 و همچنین اندازه‌گیری فعالیت GPx1 در بیماران مبتلا به تنگی عروق کرونری بود.

مواد و روش‌ها

جامعه مورد مطالعه

این مطالعه از نوع مقطعی توصیفی با نمونه‌گیری به صورت تصادفی بود. افراد بررسی شده این مطالعه ۱۹۰ نفر از کسانی بودند که طی سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۳ به منظور آنژیوگرافی عروق کرونری به بیمارستان حضرت رسول شهر تهران مراجعه کرده بودند. پس از آگاه کردن مریض از مفید بودن نتایج مطالعه در ارتقای سطح بهداشت و پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، تاریخچه بیماران داوطلب توسط پزشک متخصص آنژیوگرافی گرفته شد. بیماران با سابقه سکته قلبی در سه ماه قبل از مراجعه به بیمارستان، دیابت (قند خون ناشتا بیشتر از ۱۲۰ میلی‌گرم در دسی لیتر)، بیماری‌های کلیوی و کبدی از مطالعه حذف شدند. افراد کنترل (n=۷۶) این مطالعه دارای حداکثر ۵ درصد گرفتگی عروق کرونری بودند. افراد بیمار (n=۱۱۴) این مطالعه در سه دسته قرار گرفتند:

۱- Single Vessle Disease (SVD): در این بیماران یک رگ کرونری گرفته شده با حداقل گرفتگی ۵۰ درصد وجود دارد.

۲- Two Vessle Disease (2VD): در این بیماران دو رگ کرونری گرفته شده با حداقل گرفتگی ۵۰ درصد وجود دارد.

۳- Three Vessle Disease (3VD): در این بیماران سه رگ کرونری گرفته شده با حداقل گرفتگی ۵۰ درصد وجود دارد.

نمونه‌گیری

از بیماران و افراد کنترل ۱۰ سی‌سی خون گرفته و به دو لوله حاوی ضدانعقاد EDTA و بدون ضدانعقاد (هر کدام ۵ سی‌سی) منتقل شد. در دو لوله حاوی EDTA و بدون ضدانعقاد (هر کدام ۵cc) گرفته شد. به منظور جداسازی سرم لوله بدون ضدانعقاد خون را در دور ۲۵۰۰ rpm سانتریفیوژ و پروفایل لیپیدی که شامل کلسترول تام، تری‌گلیسرید و HDL-C بود با استفاده از تست‌های روتین آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. بافی‌کوت با استفاده از سانتریفیوژ لوله حاوی ضدانعقاد EDTA در دور ۳۰۰۰ rpm جداسازی شده و DNA گلبول‌های سفید با روش Salting-Out استخراج و تا زمان انجام آزمایش در ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری فعالیت GPx1

فعالیت GPx1 همولیزات طبق پروتکل انجام شده توسط نجفی و همکارانش که اساس آن جذب نوری توسط اسپکتروفتومتر بود اندازه‌گیری شد (۲۳).

ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم rs1050450 (C/T)

به منظور تعیین پلی‌مورفیسم rs1050450 از تست PCR استفاده شد. پرایمرها طوری طراحی شده بودند که پلی‌مورفیسم rs1050450 درون محصول PCR قرار گیرد. پرایمرهای مورد استفاده در تعیین این پلی‌مورفیسم به صورت زیر بود؛

پرایمر رفت:

5′-AGACAGCAGCACTGCAACTGCCAA-3′

پرایمر برگشت:

5′-AGACCAGACATGCCTGCTGCTCCTT-3′

پروتکل دمایی استفاده شده در این تست به صورت زیر بود؛

۱- واسرشت اولیه: واسرشت اولیه DNA به مدت ۱ دقیقه در دمای ۹۵°C بود.

تعداد سیکل PCR برابر با ۶۰ سیکل و به صورت زیر بود:

۲- واسرشت: دمای واسرشت به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۴°C بود.

۳- اتصال پرایمر: دمای اتصال به مدت ۳۰ ثانیه در ۵۹°C بود.

۴- طویل شدن: دمای طویل شدن به مدت ۶۰ ثانیه در ۷۲°C بود.

در پایان ۴ دقیقه در دمای ۷۲°C به عنوان طویل شدن نهایی منظور شد. همواره در هر مرحله ۲ نمونه از نمونه‌هایی که ژنوتیپ آنها مشخص شده بود به عنوان کنترل مورد استفاده قرار می‌گرفت.

طول محصول PCR، ۱۱۹۵ جفت‌باز بود و پلی‌مورفیسم rs1050450 درون محصول PCR قرار داشت. به منظور ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم rs1050450 (C/T) محصول PCR با آنزیم ApaI (که پیوند بین سیتوزین اول و دوم سمت '۳ توالی 5'GGGCCC3' را برش می‌دهد) تیمار شد. این آنزیم در صورتی که آلل C درون پلی‌مورفیسم rs1050450 باشد، محصول PCR را برش داده و دو قطعه به طول ۱۱۳۱ جفت‌باز و ۶۴ جفت‌باز را تولید می‌کند. انتظار بر این بود که در هموزیگوت‌های CC پس از تیمار با آنزیم ApaI دو قطعه به طول ۱۱۳۱ و ۶۴ جفت‌باز تشکیل شود. همچنین انتظار می‌رفت که در هموزیگوت‌های TT یک قطعه به طول ۱۱۹۵ جفت‌باز و در هتروزیگوت‌های CT تولید سه قطعه به طول ۱۱۹۵ جفت‌باز، ۱۱۳۱ جفت‌باز و ۶۴ جفت‌باز روی ژل آگارز ۳٪ مشاهده شود.

ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم rs13306294

به منظور تعیین پلی‌مورفیسم rs13306294 از تست ARMS-PCR استفاده شد. در این تست از یک پرایمر عمومی

و دو پرایمر اختصاصی به منظور تعیین پلی‌مورفیسم rs13306294 به صورت زیر استفاده شد؛

پرایمر مشترک:

5′-GGGTAAACCAAGGCCGGTGCCTG-3′

پرایمرهای اختصاصی:

5′-GACTGCAGACCCAGGGTACGAGT-3′ و

5′-GACTGCAGACCCAGGGTACGAGC-3′

روند انجام این تست بدین صورت بود که PCR هر نمونه در دو میکروتیوب جدا از هم صورت گرفت. در هر میکروتیوب از پرایمر مشترک و یکی از پرایمرهای اختصاصی استفاده شد. در شکل ۱ پرایمرهای مشترک و اختصاصی استفاده شده و پلی‌مورفیسم rs13306294 نشان داده شده است. همواره در هر مرحله ۲ نمونه از نمونه‌هایی که ژنوتیپ آنها مشخص شده بود به عنوان کنترل مورد استفاده قرار می‌گرفت.

پروتکل دمایی استفاده شده در این تست به صورت زیر بود؛

۱- واسرشت اولیه: واسرشت اولیه DNA به مدت ۴ دقیقه در دمای ۹۵°C بود.

تعداد سیکل PCR برابر با ۳۰ سیکل و به صورت زیر بود:

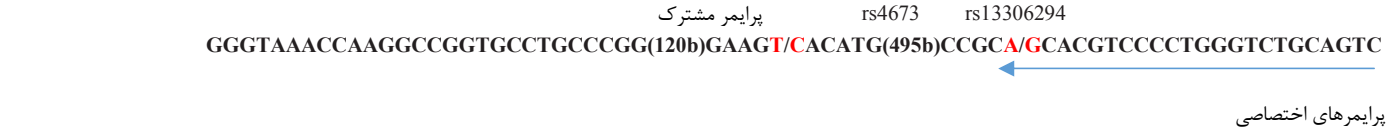
۲- واسرشت: دمای واسرشت به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۵°C بود.

۳- اتصال پرایمر: دمای اتصال به مدت ۴۵ ثانیه در ۶۵°C بود.

۴- طویل شدن: دمای طویل شدن به مدت ۴۰ ثانیه در ۷۲°C بود.

در پایان ۴ دقیقه در دمای ۷۲°C به عنوان طویل شدن نهایی منظور شد.

محصول ARMS–PCR هر دو میکروتیوب بر روی ژل آگارز ۱٪ برده شد. انتظار بر این بود که در افراد هتروزیگوت (AG) محصول که ۶۸۰ جفت‌باز طول داشت، در هر دو میکروتیوب مشاهده شد درحالی‌که در افراد هموزیگوت (AA و GG) محصول فقط در یکی از میکروتیوب‌ها مشاهده شد.



شکل ۱. پرایمرهای مشترک و اختصاصی بکار گرفته شده در تست ARMS–PCR در جهت شناسایی پلی‌مورفیسم‌های rs4673 و rs13306294

ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم rs4673

محصول ARMS-PCR مربوط به پلی‌مورفیسم rs13306294 که ۶۸۰ جفت‌باز طول داشت، طوری طراحی شده بود که پلی‌مورفیسم rs4673 درون آن قرار گیرد (شکل ۱). آلل‌های پلی‌مورفیسم rs4673 توسط آنزیم RsaI (که پیوند بین باز تیمین و آدنین در سکونس 5’-GTAC-3’ را برش می‌دهد) تعیین شدند. بدین منظور ۱۰ میکرولیتر از محصول ARMS–PCR با RsaI تیمار شد. انتظار بر این بود در صورتی که آلل T در این پلی‌مورفیسم باشد آنزیم RsaI آن را برش داده و دو قطعه (۵۲۷ جفت‌بازی و ۱۵۳ جفت‌بازی) بر روی ژل آگارز ۳٪ دیده شود؛ اما اگر آلل C درون این پلی‌مورفیسم باشد آنزیم نمی‌تواند آن را برش دهد و درنتیجه محصول دست نخورده باقی می‌ماند. همواره در هر مرحله ۲ نمونه از نمونه‌هایی که ژنوتیپ آنها مشخص شده بود به عنوان کنترل مورد استفاده قرار می‌گرفت.

آنالیز آماری

آنالیز آماری اطلاعات به وسیله نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام گرفت. تفاوت آماری بین داده‌های پارامتری به وسیله آزمون تی-استیودنت و داده‌های کیفی به وسیله آزمون مربع کای انجام گرفت. همچنین به منظور ارزیابی ریسک خطر ژنوتیپ‌های مطالعه شده، سطح OR به وسیله رگرسیون چندگانه انجام گردید به طوری که تنگی عروق کرونری به عنوان متغیر وابسته و سایر متغیرها ازجمله سن، جنس و

توزیع ژنوتیپی به عنوان متغیر مستقل لحاظ گردید. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

ویژگی‌های جمعیتی

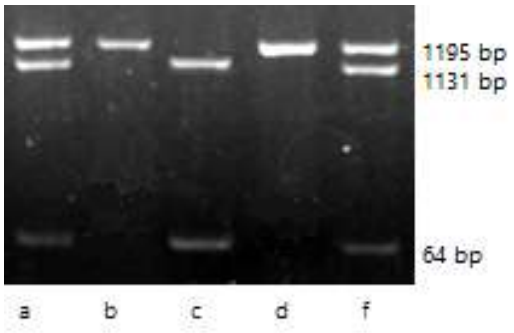
ویژگی‌های جمعیتی افراد مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است. نتایج نشان داد که تنگی عروق کرونری بیشتر در مردان با میانگین سنی ۶۲/۷ سال وجود داشت. سطوح LDL-C، HDL-C، کلسترول تام، تری‌گلیسیرید و مصرف سیگار در گروه بیمار در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری بالاتر بود. در این مطالعه تفاوت معناداری در سطوح سرمی، BMI، فشارخون سیستولی و فشارخون دیاستولی در میان گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد.

فعالیت GPx1

تفاوت معناداری در فعالیت GPx1 میان گروه‌های بیمار و کنترل وجود نداشت که این نشان‌دهنده عدم تغییر فعالیت این آنزیم در تنگی عروق کرونری می‌باشد (جدول ۱).

ژنوتیپ GPx1 rs1050450(C/T)

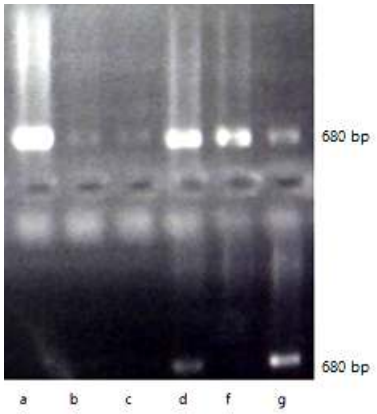
شکل ۲ تیمار آنزیم ApaI را بر روی محصول PCR و قطعات حاصل از آن را نشان می‌دهد. همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است تفاوت معناداری بین توزیع آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs1050450 در دو گروه بیمار و کنترل وجود نداشت. تخمین خطر برای این پلی‌مورفیسم تفاوت معناداری را بین دو گروه بیمار و کنترل نشان نداد. همچنین پس از لحاظ کردن سن، جنس، سیگار و BMI تفاوت معناداری مشاهده نشد (جدول ۳). علاوه بر این اثرات ژنوتیپی روی ریسک تنگی عروق کرونری در زیرگروه‌های سن و جنس حتی بعد از لحاظ کردن جنس، سن، سیگار و BMI معنادار نبود (جدول ۴). آنالیز رگرسیون چندگانه نشان داد که این پلی‌مورفیسم تأثیری بر شدت تنگی عروق کرونری ندارد (جدول ۵).



شکل ۲. محصولات PCR پلی‌مورفیسم rs1050450. در اینجا موارد a و f نمونه‌های هتروزیگوت بوده که تولید سه قطعه کرده‌اند. مورد c نمونه هموزیگوت CC و موارد c و d هموزیگوت TT هستند.

ژنوتیپ P22phox rs13306294(A/G)

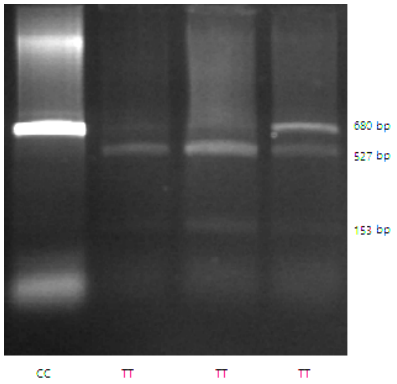
شکل ۳ نتایج تست ARMS-PCR در تعیین پلی‌مورفیسم rs13306294 را نشان می‌دهد. نتایج مطالعه نشان داد که هرچند که توزیع ژنوتیپی rs13306294 با تنگی عروق کرونری ارتباط معناداری داشت اما با پیشرفت بیماری رابطه‌ی معناداری حاصل نشد (جدول ۲). تفاوت معناداری بین توزیع آللی این ژنوتیپ در دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد. تخمین خطر برای پلی‌مورفیسم rs13306294 در بین بیماران و افراد کنترل تفاوت معناداری نداشت و همچنین پس از لحاظ کردن سن، جنس، سیگار و BMI نتایج تغییری نکرد (جدول ۳). اثرات ژنوتیپی روی ریسک تنگی عروق کرونری در زیرگروه‌های سن و جنس بعد از لحاظ کردن جنس، سن، سیگار و BMI همچنان باقی ماند (جدول ۴). آنالیز رگرسیون چندگانه نشان داد که rs13306294 تأثیری بر شدت تنگی عروق کرونری ندارد (جدول ۵).



شکل ۳. نتیجه PCR هر نمونه که در دو میکروتیوب حاوی یک پرایمر مشترک و یک پرایمر اختصاصی انجام شده بود به صورت عمودی نشان داده شده است. محصول ARMS PCR که ۶۸۰ جفت‌باز طول داشت. در نمونه a، b، c و f محصول فقط در یکی از میکروتیوب‌ها مشاهده شد که این نشان دهنده هموزیگوت بودن فرد (AA یا GG) است اما در نمونه‌های d و g در هر دو میکروتیوب محصول مشاهده شد که این نشان‌دهنده هتروزیگوت بودن فرد بود.

ژنوتیپ P22phox rs4673(C/T)

شکل ۴ نتایج حاصل از تیمار آنزیم RsaI روی محصول ARMS-PCR در تعیین پلی‌مورفیسم rs4673 را نشان می‌دهد. تفاوت معناداری بین فراوانی آللی و ژنوتیپی rs4673 در میان بیماران و کنترل مشاهده نشد (جدول ۲). تخمین خطر برای پلی‌مورفیسم rs4673 در بین بیماران و افراد کنترل تفاوت معناداری نداشت و پس از لحاظ کردن سن، جنس، سیگار و BMI نتایج کماکان باقی ماند (جدول ۳). اثر ژنوتیپی روی تنگی عروق کرونری در زیرگروه‌های سن و جنس بعد از لحاظ کردن جنس، سن، سیگار و BMI همچنان باقی ماند (جدول ۴). آنالیز رگرسیون چندگانه نشان داد که این پلی‌مورفیسم تأثیری بر شدت تنگی عروق کرونری ندارد (جدول ۵).



شکل ۴. اثر آنزیم RsaI بر روی برش محصول ۶۸۰ جفت‌بازی. در هموزیگوت‌های CC محصول PCR دست‌نخورده ماند. در نمونه‌های TT دو قطعه به طول ۵۲۷ و ۱۵۳ جفت‌باز تشکیل شد. در نمونه‌های CT سه قطعه به طول ۶۸۰، ۵۲۷ و ۱۵۳ جفت‌باز تشکیل شد. توجه شود که باندهای مربوط به قطعه ۱۵۳ جفت‌بازی ضعیف می‌باشند.

جدول ۱. ویژگی‌های جمعیتی مورد مطالعه

پارامتر	کنترل (n=۷۶)	بیمار (n=۱۱۴)	P value
جنسیت (زن/مرد)	۲۰/۴۶	۸۵/۳۹	*۰/۰۰۰۱
سن (سال)	۵۶/۷۲ ±۱۳/۳۴	۶۲/۵۱ ±۱۱/۳۴	*۰/۰۰۰۱
BMI (kg/m^2)	۲۶/۴۰ ±۶/۸	۲۵/۶۶ ±۴/۲	۰/۲۸
فشارخون سیستولی (میلی‌متر جیوه)	۱۲۶/۴۱ ±۲۶/۴۱	۱۳۱/۳۷ ±۲۲/۸۴	۰/۱۱
فشارخون دیاستولی (میلی‌متر جیوه)	۷۶/۶۵ ±۱۷/۶۵	۷۹/۴۰ ±۱۶/۵۱	۰/۲۲
سیگار (بله/خیر)	۶۶/۱۰	۸۲/۳۲	*۰/۰۱۴
LDL-C (mg/dl)	۹۸/۵۲ ±۲۵/۹۵	۱۲۰/۶۸ ±۲۸/۲۶	*۰/۰۰۰۱
HDL-C (mg/dl)	۴۳/۴۶ ±۱۵/۲۹	۳۹/۷۶ ±۱۱/۲۱	*۰/۰۲۵
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی لیتر)	۱۷۱/۶۲ ±۶۲/۰۵	۱۹۶/۱۹ ±۷۵/۶۶	*۰/۰۰۵
کلسترول تام (mg/dl)	۱۶۶/۲۳ ±۳۲/۸۴	۱۸۴/۹۶ ±۳۸/۹۰	*۰/۰۰۰۱
فعالیت GPx1 (U/gr Hb)	۵۱/۰۱ ±۲۵/۴	۵۲/۲۹ ±۲۹/۹۱	۰/۹۶

* اختلاف معنی‌دار از نظر آماری (P<۰/۰۵)

جدول ۲. توزیع ژنوتیپی و آللی جمعیت مورد مطالعه

آلل و ژنوتیپ‌ها	کنترل (n=۷۶)	بیمار (n=۱۱۴)	P value
rs1050450			
C	۷۸(۵۵/۷٪)	۱۲۶(۵۲/۶٪)	۰/۶
T	۶۲(۴۴/۳٪)	۱۱۴(۴۷/۳٪)	
CC	۲۶(۳۷/۱٪)	۳۸(۳۱/۶٪)	۰/۵۵
CT	۲۶(۳۷/۱٪)	۵۰(۴۱/۶٪)	
TT	۱۸(۲۵/۷٪)	۳۲(۲۶/۶٪)	
rs4673			
C	۷۷(۵۸/۳٪)	۱۴۵(۵۸/۴٪)	۰/۹۷
T	۵۵(۴۱/۶۷٪)	۱۰۳(۴۱/۵٪)	
CC	۲۲(۳۳/۳٪)	۴۴(۳۵/۴٪)	۰/۴
CT	۳۳(۵۰/۰٪)	۵۷(۴۵/۹٪)	
TT	۱۱(۱۶/۶٪)	۲۳(۱۸/۵٪)	
rs13306294			
A	۴۳(۲۸/۲٪)	۹۴(۳۸/۲٪)	۰/۱۴
G	۱۰۹(۷۱/۷٪)	۱۵۲(۶۱/۷٪)	
AA	۹(۱۱/۸٪)	۱۳(۱۰/۵٪)	٭۰/۰۳۵
AG	۲۵(۳۲/۸٪)	۶۸(۵۵/۲٪)	
GG	۴۲(۵۵/۲٪)	۴۲(۳۴/۱٪)	

٭ اختلاف معنی‌دار از نظر آماری (P<۰/۰۵)

جدول ۳. ریسک خطر برای ژنوتیپ‌ها

پارامتر	بیمار--کنترل	Unadjusted model OR (95%CI)	P-value	adjusted model OR (95%CI)	P-value
rs1050450 CC/ CT + TT	۲۶/۴۴--۳۸/۸۲	۱/۲۳(۰/۶۱-۲/۵)	۰/۵۴	۰/۰۷۹(۰/۲۸-۲/۲)	۰/۶
rs13306294 AA/ AG+GG	۹/۶۷--۱۳/۱۱۰	۱/۱۹(۰/۵۱-۲/۷)	۰/۸۲	۰/۹۸(۰/۹۹-۱/۰۵)	۰/۶۸
rs4673 TT/ CT + CC	۱۱/۵۵--۲۳/۱۰۱	۰/۸۹(۰/۴۶-۱/۷)	۰/۸۴	۰/۷(۰/۲۷-۱/۷۷)	۰/۴۵

جدول ۴. آنالیز ژنوتیپی برای زیرگروه‌های سن و جنس در گروه‌های بیمار و کنترل

پارامتر	بیمار--کنترل	Unadjusted model OR (95%CI)	P-value	Adjusted model OR (95%CI)	P-value
rs1050450 (CC/CT+TT)					
مرد	۸/۱۲//۳۰/۵۵	۱/۲۱(۰/۳۸-۳/۸)	۰/۷۴	۱/۵(۰/۳۳-۶/۸۴)	۰/۷۹
زن	۱۷/۲۹//۱۷/۲۲	۰/۸۱(۰/۳۷-۲/۱)	۰/۶	۰/۷۹(۰/۲۸-۲/۲۴)	۰/۲۹
سال ۵۵>	۱۶/۲۳--۱۵/۱۷	۰/۷۸(۰/۲۷-۲/۲۵)	۰/۷۴	۰/۳(۰/۰۵-۱/۹۳)	۰/۷۹
سال ۵۵≥	۱۰/۲۰--۲۵/۶۴	۱/۲۵(۰/۴۶-۳/۳۸)	۰/۶۶	۱/۰۷(۰/۲۴-۴/۶)	۰/۲۹
rs13306294 AA/ AG+GG					
مرد	۲/۱۸--۱۰/۷۵	۰/۷۷(۰/۲۲-۲/۷۴)	۱	۰/۸۷(۰/۱۵-۴/۷)	۰/۸۹
زن	۷/۳۹--۴/۳۵	۱/۱(۰/۷۱-۱/۷۱)	۰/۵۱	۲/۲۵(۰/۵-۱۰/۲)	۰/۲۹
سال ۵۵>	۳/۳--۵/۲۴	۰/۷(۰/۲۷-۱/۷۶)	۰/۴۶	۰/۷۴(۰/۱۳-۴/۰۱)	۰/۷۳
سال ۵۵≥	۵/۲۶--۷/۷۹	۱/۳۴(۰/۷۳-۲/۴۶)	۰/۳۹	۲/۲(۰/۵۸-۸/۸۶)	۰/۲۳
rs4673 TT/ CT+CC					
مرد	۵/۱۵--۱۵/۷۰	۰/۷۵(۰/۲-۱/۳۱)	۰/۲۸	۱/۴۷(۰/۳۸-۵/۶)	۰/۵۷
زن	۶/۴--۸/۳۱	۰/۸۱(۰/۳۷-۲/۱)	۰/۶۶	۰/۴۲(۰/۱۲-۱/۴۶)	۰/۱۷
سال ۵۵>	۵/۲۸--۹/۲۴	۱/۱۱(۰/۶-۲/۰۳)	۱	۰/۱۹(۰/۰۴-۰/۹۷)	٭۰/۰۴
سال ۵۵≥	۵/۲۷--۱۴/۷۷	۱/۲۵(۰/۴۶-۳/۳۸)	۰/۶۶	۱/۵(۰/۴۸-۰/۵۱)	۰/۴۵

جدول ۵. آنالیز رگرسیون لجستیک چندگانه

پارامترها	SVD		2VD		3VD	
	OR(CI)	P value	OR(CI)	P value	OR(CI)	P val
سن (سال)	۱/۰۲۰ (۰/۹۸–۱/۰۶۲)	۰/۳۳۶	۱/۰۶۵ (۱/۰۱۸–۱/۱۱۵)	۰/۰۰۶	۱/۰۴۸ (۰/۰۰۹–۱/۰۸۸)	۰/۰۱۶
جنس (مرد/زن)	۰/۲۲۸ (۰/۱۰۶–۰/۷۸۲)	۰/۰۱۵	۰/۱۶۶ (۰/۰۵۹–۰/۴۶۱)	۰/۰۰۱	۰/۱۴۱ (۰/۰۵۷–۰/۳۵)	۰/۰۰۰۱
LDL-C (mg/dl)	۱/۰۳۲ (۱/۰۰۵–۱/۰۵۹)	۰/۰۲	۱/۰۲۲ (۰/۹۹۸–۱/۰۴۶)	۰/۰۷۱	۱/۰۳۸ (۱/۰۱۵–۱/۰۶۲)	۰/۰۰۱
HDL-C (mg/dl)	۰/۹۹۷ (۰/۹۶۷–۱/۰۲۸)	۰/۸۶	۰/۹۹۵ (۰/۹۶۳–۱/۰۲۷)	۰/۷۴۸	۰/۹۷۴ (۰/۹۳۷–۱/۰۱۱)	۰/۱۶۹
تری‌گلیسیرید (mg/dl)	۰/۹۹۷ (۰/۹۸۹–۱/۰۰۵)	۰/۵	۱/۰۰۸ (۰/۹۹۹–۱/۰۱۶)	۰/۰۷۲	۱/۰۰۰ (۰/۹۹۲–۱/۰۰۷)	۰/۹۲۵
کلسترول (mg/dl)	۱/۰۰۹ (۰/۹۸۸–۱/۰۰۵)	۰/۴	۰/۹۹۷ (۰/۹۸۱–۱/۰۱۴)	۰/۷۵۸	۱/۰۰۰(۰/۹۸۵–۱/۰۱۶)	۰/۹۹۶
rs1050450 $\frac{CT+TT}{CC}$	۰/۹۸۶ (۰/۹۵۴–۱/۰۱۹)	۰/۹۸۵	۱/۰۷۶ (۰/۰۸۳–۱۳/۹۹)	۰/۹۵۶	۰/۷۰۱(۰/۰۵۰–۹/۹۰۸)	۰/۷۹۳
rs4673 $\frac{CT+TT}{CC}$	۰/۶۷۰ (۰/۱۹۴–۲/۳۰۷)	۰/۵۲	/۸۴۹ (۰/۲۳۵–۳/۰۶)	۰/۸۰۲	۰/۷۰۸(۰/۲۳۳–۲/۱۴۶)	۰/۵۴۱
rs13306294 $\frac{AA+AG}{GG}$	۰/۹۳۳ (۰/۲۰۴–۴/۲۶۶)	۰/۹۲	۰/۹۶۶ (۰/۱۹۷–۴/۷۲)	۰/۹۶۵	۱/۳۴۸(۰/۳۲۰–۵/۶۷۷)	۰/۶۸۴

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه ما به بررسی فعالیت GPx1 و پلی‌مورفیسم‌های rs1050450، rs4673 و rs13306294 در بیماران با تنگی عروق کرونر پرداختیم. آنزیم GPx1 که ژن آن بر روی کروموزوم ۳ قرار دارد یکی از آنزیم‌های مهم درگیر در حذف اکسیدانت‌ها می‌باشد. این آنزیم حاوی آمینواسید سلنوسیستئین بوده که نقش مهمی را در عملکرد این آنزیم ایفا می‌کند. نقش این آنزیم تبدیل H_2O_2 به آب می‌باشد. پلی‌مورفیسم rs1050450 یکی از پلی‌مورفیسم‌های مهم در این آنزیم می‌باشد که بیشترین مطالعات بر روی آن انجام شده است. این پلی‌مورفیسم بر روی اگزون شماره ۲ ژن GPx1 قرار دارد و منجر به جایگزینی پرولین با لوسین می‌شود (۲۴،۲۵). NADPH اکسیداز آنزیمی است که در زیر عروق می‌تواند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد شود. مطالعات نشان داده است که نقش زیر واحد p22phox در عملکرد آنزیم بسیار مهم است. چندین پلی‌مورفیسم از این زیر واحد در برخی از مطالعات ارزیابی شده‌اند. پلی‌مورفیسم C242T (rs4673) پلی‌مورفیسمی است که در بیماری‌های قلبی عروقی بیشتر مطالعه شده است (۲۶). علاوه بر این پلی‌مورفیسم، پلی‌مورفیسم rs13306294 (G/A) که جزء پلی‌مورفیسم‌های مهم این زیر واحد است را نیز بررسی کردیم.

نتایج ما نشان داد که سطح LDL نه تنها در بیماران بالا است بلکه LDL با پیشرفت تنگی عروق کرونری در ارتباط می‌باشد. نتایج ما نشان می‌دهد که سطح LDL-C به عنوان عامل مهم در ایجاد آترواسکلروزیس است. این نتیجه با نتایج برخی مطالعات هم‌جهت بود (۲۷،۲۸). همچنین در مطالعه هافمن و همکاران در سال ۲۰۱۱ فعالیت GPx1 تفاوت معناداری در میان گروه‌های بیمار و افراد سالم نداشت (۲۹). همچنین مطالعه ما با مطالعه ویلیامز و همکاران که گفته بودند مصرف آنتی‌اکسیدانت‌ها، عوامل ضد التهابی و ضد میکروبی در بهبود بیماران CAD مؤثر نمی‌باشد، هم‌جهت بود (۳۰). برخلاف نتایج ما مطالعاتی، نشان داده بودند که بین فعالیت GPx1 و بیماری‌های قلبی عروقی رابطه وجود دارد (۳۱،۳۲). در برخی مطالعات پلی‌مورفیسم rs1050450 به سرطان و بیماری‌های قلبی عروقی نسبت داده شده بود (۱۸)، اما در این مطالعه رابطه‌ای بین این پلی‌مورفیسم و بیماری‌های قلبی عروقی مشاهده نکردیم.

در این مطالعه ما برای اولین بار به ارزیابی پلی‌مورفیسم rs13306294 در بیماران قلبی عروقی پرداختیم. تفاوت معناداری در توزیع آللی این پلی‌مورفیسم در بین دو گروه بیمار و کنترل مشاهده نشد اما توزیع ژنوتیپی این پلی‌مورفیسم به طور معنی‌داری بین گروه بیمار و کنترل فرق داشت؛ اما پس از لحاظ کردن سن، جنس و BMI تفاوت

معناداری مشاهده نشد که این بدین معنی است که معنادار شدن توزیع ژنوتیپی rs13306294 کاذب بوده است. همچنین بین شدت تنگی عروق کرونری و پلی‌مورفیسم rs13306294 رابطه معناداری پیدا نشد. در این مطالعه بین پلی‌مورفیسم rs4673 و تنگی عروق کرونری رابطه معناداری دیده نشد. نتایج مطالعه ما با برخی مطالعات دیگر در مورد بیماری‌های قلبی عروقی هم‌راستا بود (۳۳،۳۴).

درنهایت ما در این جامعه آماری پی بردیم که فعالیت GPx1 در ایجاد و پیشرفت تنگی عروق کرونری فاقد نقش است. به نظر می‌رسد سطح بالای LDL منجر به ایجاد آسیب‌هایی در دیواره عروق کرونری شده که درنهایت پاسخ‌هایی را ایجاد می‌کند که منجر به ایجاد آترواسکلروز و تنگی عروق کرونری می‌شود. در این مطالعه دیده شد که پلی‌مورفیسم‌های rs1050450، rs4673 و rs13306294 در ایجاد و پیشرفت تنگی عروق کرونری نقش نداشته و نمی‌توانند منجر به تنگی عروق کرونری شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان کمال تشکر را از کارمندان بیمارستان حضرت رسول شهر تهران و مرکز تحقیقات علوم سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران دارند.

References

1. Haberland ME, Znojil V. Atherosclerosis. Nature. 2000; 16: 233-241.
2. Xue Y, Zhao R, Du SH, Zhao D, Li DR, Xu JT, et al. Decreased mRNA levels of cardiac Cx43 and ZO1 in sudden cardiac death related to coronary atherosclerosis: a pilot study. Int J Legal Med. 2016; 6: 12-22.
3. Yagi H, Sumino H, Yoshida K, Aoki T, Tsunekawa K, Araki O, et al. Biological Antioxidant Potential Negatively Correlates With Carotid Artery Intima-Media Thickness. Int Heart J. 2016; 66: 101-115.
4. Wang PW, Lin TK, Weng SW, Liou CW. Mitochondrial DNA variants in the pathogenesis of type 2 diabetes - relevance of Asian population studies. Rev Diabet Stud. 2009; 6: 237-246.
5. Zhong C, You S, Zhong X, Chen GC, Xu T, Zhang Y. Retinal vein occlusion and risk of cerebrovascular disease and myocardial infarction: A meta-analysis of cohort studies. Atherosclerosis. 2016; 247: 170-176.
6. Rai G, Mishra S, Suman S, Shukla Y. Resveratrol improves the anticancer effects of doxorubicin in vitro and in vivo models: A mechanistic insight. Phytomedicine. 2016; 23: 233-242.
7. Mangum LC, Mangum LH, Chambers JE, Ross MK, Meek EC, Wills RW, et al. The association of serum trans-nonachlor levels with atherosclerosis. J Toxicol Environ Health. 2016; 6: 1-11.
8. Cao XL, Zhao MF, Li DG, Xing Y, Zhang YC, Chen J, et al. Establishment of macrophage model of iron overload in vitro and the injury induced by oxidative stress on macrophage with iron overload. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2016; 96:129-133.
9. Hao S, Hu J, Song S, Huang D, Xu H, Qian G, et al. Selenium Alleviates Aflatoxin B1-Induced Immune Toxicity through Improving Glutathione Peroxidase 1 and Selenoprotein S Expression in Primary Porcine Splenocytes. J Agric Food Chem. 2016; 64: 1385-1393.
10. Gugliandolo A, Gangemi C, Calabrò C, Vecchio M, Di Mauro D, Renis M. Assessment of glutathione peroxidase-1 polymorphisms, oxidative stress and DNA damage in sensitivity-related illnesses. Life Sci. 2016; 145: 27-33.
11. Kalkan G, Seckin HY, Benli I, Akbaş A, Bas Y, Karakus N. Relationship between manganese superoxide dismutase (MnSODAla-9Val) and glutathione peroxidase (GPx1 Pro 197 Leu) gene polymorphisms and alopecia areata. Int J Clin Exp Med. 2015; 8: 33-40.
12. Cardoso BR, Busse AL, Hare DJ, Cominetti C, Horst MA, McColl G, et al. Pro198Leu polymorphism affects the selenium status and GPx activity in response to Brazil nut intake. Food Funct. 2016; 7: 825-833.
13. Kidir V, Uz E, Yigit A, Altuntas A, Yigit B, Inal S, et al. Manganese superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase gene polymorphisms and clinical

outcomes in acute kidney injury. Ren Fail. 2016; 38: 372-377.
14. Mao J, Vanderlelie J, Perkins AV, Redman CW, Ahmadi KR, Rayman MP. Genetic polymorphisms that affect selenium status and response to selenium supplementation in United Kingdom pregnant women. Am J Clin Nutr. 2016; 103: 100-106.
15. Jablonska E, Gromadzinska J, Peplonska B, Fendler W, Reszka E, Krol MB. Lipid peroxidation and glutathione peroxidase activity relationship in breast cancer depends on functional polymorphism of GPX1. BMC Cancer. 2015; 15: 657-662.
16. Sabet EE, Salehi Z, Khodayari S, Zarafshan SS, Zahiri Z. Polymorphisms of glutathione peroxidase 1 (GPX1 Pro198Leu) and catalase (CATC-262T) in women with spontaneous abortion. Syst Biol Reprod Med. 2014; 60: 304-307.
17. Ichimura Y, Habuchi T, Tsuchiya N, Wang L, Oyama C, Sato K, et al. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. J Urol. 2004; 172: 728-732.
18. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. Physiol Rev. 2007; 87: 308-313.
19. Anthony W. The function of the NADPH oxidase of phagocytes and its relationship to other NOXs in plants, invertebrates, and mammals. Int J Biochem Cell Biol. 2008; 40: 604-618.
20. Izakovicova-Holla L, Kanková K, Znojil V. Haplotype analysis of the NADPH oxidase p22 phox gene in patients with bronchial asthma. Int Arch Allergy Immunol. 2009; 148: 73-80.
21. Piérola J, Alemany A, Yanez A, de-la-Peña M, Sánchez-de-la-Torre M, Esquinas C, et al. NADPH oxidase p22phox polymorphisms and oxidative stress in patients with obstructive sleep apnoea. Respir Med. 2011; 105: 1748-1754.
22. Najafi M, Alipoor B, Shabani M, Amirfarhangi A, Ghasemi H. Association between rs4673 (C/T) and rs13306294 (A/G) haplotypes of NAD(P)H oxidase p22phox gene and severity of stenosis in coronary arteries. Gene. 2012; 10; 499: 213-217.
23. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. J Lab Clin Med. 1967; 70: 158-169.
24. Najafi M, Firoozrai M, Gohari HL, Zavarehie A, Basiri G. Direct haplotyping of bi-allelic SNPs using ARMS and RFLP analysis techniques. Biomol Eng. 2007; 24: 609-612.
25. Erdem O, Eken A, Akay C, Arsova-Sarafinovska Z, Matevska N, Suturkova L, et al. Association of GPX1 polymorphism, GPX activity and prostate cancer risk. Hum Exp Toxicol. 2012; 31: 24-31.
26. Moreno MU, San Jose G, Fortuño A, Beloqui O, Díez J, Zalba G. The C242T CYBA polymorphism of NADPH oxidase is associated with essential hypertension. J Hypertens. 2006; 24: 1299-1306.
27. Boullier A, Bird DA, Chang MK, Dennis EA, Friedman P, Gillotre-Taylor K, et al. Scavenger receptors, oxidized LDL, and

atherosclerosis. Ann N Y Acad Sci. 2001; 947: 214-222.
28. Shi W, Haberland ME, Jien ML, Shih DM, Lusis AJ. Endothelial responses to oxidized lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. Circulation. 2000; 102: 75-81.
29. Hoffmann FW, Hashimoto AS, Lee BC, Rose AH, Shohet RV, Hoffmann PR. Specific antioxidant selenoproteins are induced in the heart during hypertrophy. Arch Biochem Biophys. 2011; 512: 38-44.
30. Williams KJ, Tabas I. Lipoprotein retention-and clues for atheroma regression. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2005; 25: 1536-1540.
31. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Borji A, Farkhondeh T. Effect of crocin on aged rat kidney through inhibition of oxidative stress and proinflammatory state. Phytother Res. 2016; 20: 232-239.
32. Goldschmidt-Clermont PJ, Creager MA, Losordo DW, Lam GK, Wassef M, Dzau VJ. Atherosclerosis: recent discoveries and novel hypotheses. Circulation. 2005; 112: 48-53.
33. Fang S, Wang L, Jia C. Association of p22phox gene C242T polymorphism with coronary artery disease: a meta-analysis. Thromb Res. 2010; 125: 197-201.
34. Renner W, Schallmoser K, Gallippi P, Krauss C, Toplak H, Wascher TC, et al. C242T polymorphism of the p22 phox gene is not associated with peripheral arterial occlusive disease. Atherosclerosis. 2000; 152: 175-179.

Study of rs1050450, rs4673 and rs13306294 polymorphic distributions and Glutathione Peroxidase-1 (Gpx-1) activity of patients with coronary artery stenosis in Tehran

Mohammadi A[1], Hosseini-Fard SR[*1], Ghasemi H[2], Alipoor B[2], Yarnazari A[1], Hasanpour P[1], Roustazadeh A[3], Najafi M[4], Shams Beiranvand A[1], Amirfarhangi A[5]

1. MSc Student in Medical Biochemistry, Department of Biochemistry, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran Rezahoseinifard1@gmail.com.

2.PhD Student in Medical Biochemistry, Department of Biochemistry, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3.Assistant Professor, Department of Biochemistry, Jahrom University of Medical Sciences, Jahrom, Iran

4.Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

5.Assistant Professor, Rajaee Hospital, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: *20 Nov 2017* **Accepted:** *20 Dec 2017*

Abstract

Background: Coronary artery stenosis is one of the atherosclerotic complications which can lead to decreased oxygen supply in heart tissue and heart attack. rs1050450 Polymorphism is one of polymorphisms in GPx1 gene that may change its antioxidant activity. Furthermore, two polymorphisms of NADPH Oxidase, rs4673 and rs13306294, are suggested to have a role in the function of this enzyme. In this study, we examined the rs1050450, rs4673 and rs13306294 polymorphisms in the patients with coronary artery stenosis.

Materials and Methods: 190 angiography subjects are subdivided into two groups (patients (n =114) and control (n =76)). Lipid profile and polymorphic sites were measured by routine laboratory tests and RFLP-(ARMS) PCR, respectively.

Results: In this study we, observed the significant difference between serum LDL level and degree of stenosis. Also, we observed significant difference for rs13306294 polymorphism between patients and controls. On the controlling age, gender and BMI, no correlations were observed between rs13306294, rs1050450 and rs4673 polymorphisms and coronary artery stenosis ($P<0.05$).

Conclusion: rs13306294, rs4673 and rs13306294 polymorphisms have not a basic role in the progression of coronary artery stenosis.

***Keywords*:** Stenosis, Polymorphism, Rs4673, Rs1050450, Rs13306294.

Citation: Mohammadi A, Hosseini-Fard SR, Ghasemi H, Alipoor B, Yarnazari A, Hasanpour P, Roustazadeh A, Najafi M, Shams Beiranvand A, Amirfarhangi A. Study of rs1050450, rs4673 and rs13306294 polymorphic distributions and Glutathione Peroxidase-1 (Gpx-1) activity of patients with coronary artery stenosis in Tehran. Yafte.2018; 19(5): 93-105.