Comparison of AGTR1 rs5186 (A1166C) Polymorphism between Coronary Artery Disease Patients and Normal Subjects: a Case Control Study

Mohammad Mehdi Heidari[1], Shirin Ghasemi[2], Faeghe Haji hosseini[2], Mehdi Hadadzadeh[3]

Background and Aim: Coronary artery disease (CAD) is a multifactorial inherited disorder in which the arteries that blood to the heart muscle become hardened and narrowed. We aimed at investigating the role of rs5186 (*A1166C*) polymorphism the angiotensin II type 1 receptor (*AGTR1*) gene as risk factors in some Iranian CAD patients.

Materials and Methods: In this case-control study 137 samples were selected from 141 CAD Iranian patients**,** who had had CABG surgery. Besides, 137 healthy controls matched for age, sex, and ethnicity were taken. After extracting DNA of the blood samples, A1166C *AGTR1* gene polymorphism was studied using tetra-primer ARMS-PCR method. The results of a single tube T-ARMS-PCR were validated using DNA sequencing method. For genetic analysis dominant, co-dominant, and recessive models of multiple logistic regression were applied using SPSS software (V: 22).

Results: It was found that 67.4% of the cases belonged to AA genotype, genotypes amounted 26.9% to AC, and 5.7% to CC. A significant association of *AGTR1* polymorphisms with CAD was found.

Conclusion: Polymorphism A1166C *AGTR1* gene can have an effective role in increasing the risk of coronary artery disease; thus, it can be used in clinical studies.

Key Words: CAD, Gene polymorphism, rs5186, *AGRT1*, T-ARMS-PCR.

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2017; 24 (1): 10-18.

Received: August 9, 2016 ***Accepted: May 31, 2017***

[1] ***Corresponding Author;*** *Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.*
Email: Heidarimm@yazd.ac.ir Tel:+983531233381 Fax:+9835138210644
[2] *Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran.*
[3] *Department of Cardiovascular Surgery, Afshar Hospital, Shahid Sadoughi University of Medical Sciences, Yazd, Iran.*

مقاله اصیل پژوهشی

مقایسه پلی‌مورفیسم rs5186 (A1166C) ژن *AGTR1* بیماران ایرانی مبتلا به عروق کرونری با افراد سالم: یک مطالعه مورد - شاهدی

محمدمهدی حیدری[1]، شیرین قاسمی[2]، فائقه حاجی‌حسینی[2]، مهدی حدادزاده[3]

چکیده

زمینه و هدف: بیماری عروق کرونری (CAD)، بیماری چندعاملی وراثتی است و شریان¬هایی که تامین کننده خون به قلب هستند سخت و بایک می¬شوند. هدف از این مطالعه، بررسی پلی‌مورفیسم rs5186 (A1166C) ژن *AGTR1* به‌عنوان عامل خطر در بیماران ایرانی مبتلا به عروق کرونری بود.

روش تحقیق: در این مطالعه مورد- شاهدی، 141 بیمار مبتلا به آترواسکلروز عروق کرونری که در بیمارستان افشار یزد تحت عمل جراحی CABG قرار گرفته بودند و 137 فرد سالم به‌عنوان گروه شاهد، بررسی شدند. پس از استخراج DNA از نمونه‌های خونی، پلی‌مورفیسم rs5186 (A1166C) ژن *AGTR1* به‌روش Tetra-primer ARMS-PCR مورد بررسی قرار گرفت. برای آنالیز داده‌های ژنتیکی (مدل‌های co-dominant, dominant, recessive) از آنالیز رگرسیون لجستک چندگانه (Multiple logistic regression) توسط نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش 22) استفاده شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که 67/4% افراد دارای پلی‌مورفیسم AA، 26/9% دارای پلی‌مورفیسم AC و 5/7% دارای پلی‌مورفیسم CC بودند. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1* از نظر آماری دارای تفاوت معنی‌دار در دو گروه بود.

نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1*، احتمالاً نقش مؤثّری در افـزایش خطـر ابـتلا بـه بیماری عروق کرونری دارد و می‌تواند در مطالعات بالینی به‌کار رود.

واژه‌های کلیدی: بیماری عروق کرونری، پلی مورفیسم‌ژنی، rs5186، ژن *AGTR1*، T-ARMS-PCR.

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. 1396؛ 24 (1): 10-18.

دریافت: 1395/05/19 **پذیرش: 1396/03/10**

[1] **نویسنده مسؤول؛** گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

تلفن: 035-31233381 نمابر: 035-38210644 پست الکترونیکی:Heidarimm@yazd.ac.ir

[2] گروه زیست‌شناسی، پردیس علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

[3] بخش جراحی قلب، بیمارستان افشار، دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی، یزد، ایران.

مقدمه

آترواسکلروز یا بیماری عروق کرونری (CAD)[1]، یک بیماری شایع در جوامع امروزی می‌باشد که از نظر آماری بیشترین تعداد افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی و مرگ ناشی از آن را در قرن بیست و یک به خود اختصاص می‌دهد. به‌عبارتی این بیماری شکل غیر معمول از التهاب مزمن در دیواره سرخرگ‌هاست که ممکن است موجب سکته و یا بیماری‌های فرعی سرخرگی شود (1, 2). بروز آترواسکلروز به نوع زندگی فردی نیز بستگی دارد و عواملی چون: فشار خون، دیس‌لیپیدما، دیابت و همچنین عدم فعالیت فیزیکی، از عوامل تشدیدکننده آن به حساب می‌آید. عملکرد نادرست متابولیسم لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها و همچنین آسیب به دیواره اندوتلیال از فاکتورهای بروز آترواسکلروز می‌باشند (3). آترواسکلروز یک بیماری چندعاملی است که در بروز آن، میانکنش بین فنوتیپ و محیط وجود دارد که البته عامل ژنتیک نقش مهمتری را در این میان ایفا می‌کند (4, 5).

بسیاری از مطالعات، ارتباطی قوی بین فاکتورهای ژنتیکی و بیماری CAD ارائه داده‌اند (6-8). یکی از این فاکتورهای ژنتیکی، پلی‌مورفیسم‌های ژنی در سیستم رنین- آنژیوتانسین آلدوسترون است که شامل: آنزیم‌های مبدل آنژیوتانسین (ACE)، رسپتور نوع 1 آنژیوتانسین II (AGTR1)، آنژیوتانسینوژن (AGT) و آلدوسترون سنتاز[2] (CYP11B2) می‌باشد (9، 10). تاکنون مطالعات زیادی، تأثیرات فیزیولوژیکی رسپتور نوع 1 آنژیوتانسین II را که به‌طور گسترده در اکثر اندام‌ها شامل: کبد، غده فوق‌کلیه، مغز، ریه، کلیه، قلب و عروق دیده شده را اثبات کرده‌اند (11، 12). AGTR1 یک گیرنده وابسته به G پروتئین است که از 359 آسیدامینه تشکیل شده است. وزن تقریبی آن 40KD است و شامل هفت دُمین[3] عرض غشایی می‌باشد. هفت دمین عرض غشایی، از طریق سه لوپ خارج سلولی و سه لوپ داخل سلولی با هم مرتبط می‌شوند. ناحیه C-ترمینال غنی از سرین، ترئونین و تیروزین می‌باشد و سه جایگاه فسفریلاسیون پروتئین کیناز C (PKC) در این ناحیه قرار دارد (12, 13). ژن *AGTR1* در موقعیت 25-3q23 واقع شده است و حدود 45 kb طول دارد. بر اساس توالی Refseq سایت NCBI شامل 4 اگزون و 3 اینترون است (14).

یکی از پلی‌مورفیسم‌های ژن *AGTR1*، تبدیل A به C در نوکلئوتید 1166 (A1166C, rs5186) واقع در ناحیه 3'-UTR این ژن می‌باشد که فاکتور پیشنهادی برای آترواسکلروز قلبی است (15). مطالعات نشان می‌دهد که ژنوتیپ CC به آنژیوتانسین II پاسخ بیشتری می‌دهد و با خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی مانند: هیپرتروفی بطن چپ، آنفارکتوس میوکارد و آنوریسم آئورت شکمی همراه است (16-19). از این رو هدف از این مطالعه، بررسی پلی‌مورفیسم rs5186 (A1166C) ژن *AGTR1* به روش tetra-primer ARMS-PCR بود.

روش تحقیق

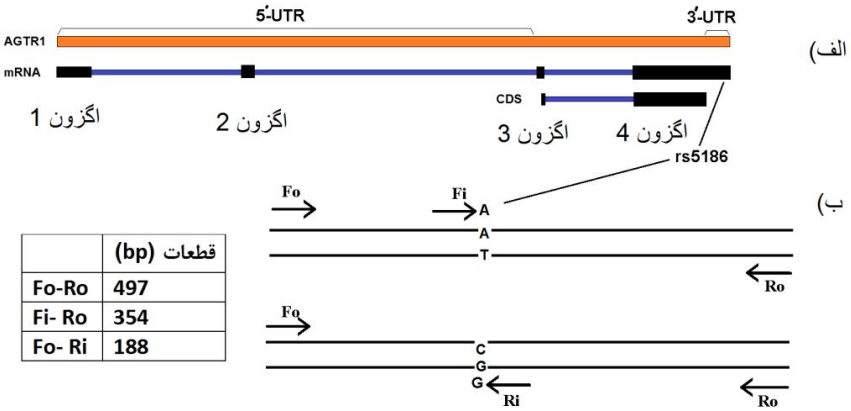
در این مطالعه موردی- شاهدی، تعداد 141 بیمار مبتلا به آترواسکلروز در محدوده سنّی 45 تا 65 سال که از سال 1392 تا 1394 به بیمارستان افشار یزد ارجاع شده و تحت عمل جراحی CABG[4] قرار گرفته بودند، به‌عنوان گروه مورد، انتخاب و بررسی شدند؛ همچنین 137 فرد سالم به‌عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. حجم نمونه با استفاده از فرمول $N=z^2p(1-p)/d^2$ به‌دست آمد.

پس از انجام آنژیوگرافی و بر اساس رؤیت فیلم آن توسط متخصصین قلب و عروق، بیماران دارای گرفتگی بیش از 50% در حداقل یکی از عروق کرونری، به‌عنوان گروه مورد انتخاب شدند (جدول 1). افراد گروه کنترل همگی تحت آزمایش‌های لازم و معاینات کامل قرار گرفتند و پس از تأیید سالم‌بودن آنها، نمونه‌های خون این افراد مورد استفاده قرار

[1] *Coronary Artery Disease (CAD)*
[2] *Aldosterone synthase*
[3] *Domain*
[4] *Coronary artery bypass grafting*

گرفت. در این مطالعه، جمع‌آوری نمونه‌های مورد و شاهد، با درنظرگرفتن همسانی فاکتورهای سن، جنس و نژاد انجام گرفت. به‌منظور نمونه‌گیری خون و انجام طرح، از کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد مجوز لازم اخذ شد؛ همچنین تمام افراد مورد مطالعه، رضایت‌نامه تدوین‌شده را آگاهانه امضا کردند.

پلی‌مورفیسم rs5186 (A1166C) ژن *AGTR1* از بانک اطلاعاتی dSNP انتخاب شد (شکل 1- الف). چهار پرایمر که در این مطالعه استفاده شد، توسط وب‌سایت: Primer1:http://primer1.soton.ac.uk/primer1.html برای پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1* طراحی گردید و با استفاده از برنامه BLAST در سایت http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast از نظر همولوژی با ژنوم، مورد بررسی قرار گرفت. برای افزایش اختصاصیت پرایمرهای داخلی، سوّمین نوکلئوتید از انتهای ´3 دارای جفت اشتباه بود (جدول 2).



	قطعات (bp)
Fo-Ro	497
Fi- Ro	354
Fo- Ri	188

شکل 1- الف) نقشه ژن AGTR1 انسانی و جایگاه پلیمورفیسم rs5186 و ب) قطعات حاصل از واکنش T-ARMS-PCR

جدول 1- مشخصات بالینی بیماران و افراد شاهد مورد مطالعه

متغیّر	گروه بیمار (141 نفر)	گروه شاهد (137 نفر)	p-value
جنس مذکر	100(%71)	90 (%66)	63/0
متوسط سن (سال)	52/3±7/3	51/4±6/2	51/0
استعمال سیگار	34 (%24)	31 (%23)	54/0
کلسترول تام (mg/dl) *	207/3±52/3	181/6±46/8	001/0
LDL-C (mg/dl)	124/9±44/3	112/7±44	215/0
HDL-C (mg/dl)	47/8±8/3	48/7±12/3	410/0
TGs (mg/dl) *	201/8±105/7	149/4±92/9	019/0
شاخص توده بدن (کیلوگرم/مترمربع)*	26/7±2/3	24/9±2/7	002/0
فشار خون سیستولی (mmHg)*	153/8±0/8	116/5±0/6	023/0
فشار خون دیاستولی (mmHg)*	96/2±0/5	79/7±0/2	016/0

جدول 2- توالی و موقعیت پرایمرهای طراحی شده برای واکنش T-ARMS-PCR

اندازه محصولات PCR	توالی پرایمر	ژن (شناسه پلی‌مورفیسم)
باند کنترل(479 bp)	Fo: 5'- TGAGCACGCTTTCCTACCGC-3'	AGTR1 (SNP ID: rs5186)
آلل A (354 bp)	Ro: 5'- CCTTTGGAAACTGGACAGAAC-3'	
آلل C (188 bp)	Fi: 5'-AGCACTTCACTACCAAATGAACA-3'	
	Ri: 5'-TTCAATTCTGAAAAGTAGCTGAG-3'	

استخراج DNA از 200 میکرولیتر خون با روش استاندارد رسوب نمکی انجام شد و برای اطلاع از مقدار کمّی ژنوم استخراج‌شده، از روش اسپکتروفتومتری با نور ماوراءبنفش استفاده شد (20). واکنش PCR در حجم نهایی 25 میکرولیتر شامل50 نانوگرم DNA الگو، 5 پیکومول از هر یک از پرایمرهای خارجی (Fo و Ro)، 10 پیکومول از پرایمرهای داخلی (Fi و Ri) و محلول X1، با کمک دستگاه PCR Master Mix (شرکت یکتا تجهیز آزما، تهران، ایران) انجام گرفت. برنامه زمانی و دمایی واکنش Touchdown PCR به این صورت انجام گرفت: دناتوراسیون اولیه در دمای 95 درجه سانتی‌گراد به‌مدّت 2 دقیقه و به‌دنبال آن 10 سیکل دمایی متشکل از دمای دناتوراسیون 95 درجه سانتی‌گراد به‌مدّت 20 ثانیه، دمای اتصال از درجه حرارت 70 تا 61 درجه سانتی‌گراد (به‌صورت کاهشی 1 درجه سانتی‌گراد به‌ازای هر سیکل) و مرحله گسترش به‌مدت یک دقیقه در درجه حرارت 72 درجه سانتی‌گراد. سپس 25 سیکل انتهایی هر چرخه شامل سه مرحله حرارتی: مرحله واسرشتی اولیه (در دمای 95 درجه سانتی‌گراد به‌مدّت 30ثانیه)، مرحله اتصال آغازگر به الگو (در دمای 60 درجه سانتی‌گراد به‌مدّت 1دقیقه) و مرحله گسترش (در دمای 72 درجه سانتی‌گراد به‌مدّت 1دقیقه) بود. در نهایت برای اطمینان از تکثیر قطعات مورد نظر و تعیین ژنوتیپ هر نمونه، محصولات PCR روی ژل آگاروز 2/5درصد الکتروفورز شدند (شکل 2). در نهایت برای تأیید نتایج، تعدادی از نمونه‌ها برای تعیین توالی به شرکت ماکروژن (کره) ارسال گردید.

تجزیه و تحلیل توالی با استفاده از نرم‌افزار Chromas Lite صورت گرفت. هم‌ردیفی توالی به‌کمک نرم‌افزار آنالیزی MEGA 4، با توالی مرجع ژن انسانی (Gene Bank ID: NG-008468) مقایسه شد. تأثیر تغییر نوکلئوتیدی بر خمش RNA در سر '3 با استفاده از سایت Vienna RNA folding انجام گرفت (http://rna.tbi.univie.ac.at). از آنالیز رگرسیون لجستک چندگانه (Multiple logistic regression) برای آنالیز داده‌های ژنتیکی (مدل‌های Co-dominant, Dominant, Recessive)، توسط نرم‌افزار آماری SPSS (ویرایش 22) استفاده گردید. سطح معنی‌داری کمتر از 0/05 انتخاب شد.

یافته‌ها

در این مطالعه 141 بیمار با گرفتگی 50% عروق کرونری و میانگین سنّی 7/3±52/3 و 137 فرد سالم با میانگین سنّی 6/2±51/4 مورد بررسی قرار گرفتند (جدول 1). فراوانی آللی پلی‌مورفیسم *AGTR1* در بیماران CAD^{+} و کنترل برای آلل A به‌ترتیب: 80/9% و 90/9% و برای آلل C (موتانت) به‌ترتیب: 19/1% و 9/1% مشاهده شد. نتایج این مطالعه اختلاف معنی‌داری بین گروه مورد و شاهد برای آلل C نشان داد (OR=2/39، 95%CI=1/41-3/97 و P=0/001).

در مدل وراثت Dominant، فراوانی بالاتری از نظر آماری برای ژنوتیپ‌های AC و CC در گروه مورد در مقابل گروه شاهد (به‌ترتیب 32/6% در مقابل 17/5% و P=0/004) در مقایسه با گروه‌های دارای ژنوتیپ AA با نسبت شانس 2/28 (95% CI=1/29-4/00) مشاهده شد (جدول 3).

مدل وراثتی Recessive نیز فراوانی بالاتری را از نظر آماری برای ژنوتیپ‌های AA و AC در گروه مورد در مقابل گروه شاهد (به‌ترتیب 94/3% در مقابل 99/3% و P=0/049) در مقایسه با گروه‌های دارای ژنوتیپ CC با نسبت شانس 8/18 (95% CI= 1/01-66/31) نشان داد (جدول 3).

جدول 3- فراوانی ژنوتیپی و آللی پلیمورفیسم A1166G ژن AGTR1 در افراد مورد مطالعه

ژنوتیپ‌ها		مورد (141 نفر)	شاهد (137 نفر)	OR(95% CI)	سطح معنی‌داری
مدل Co-dominant	AA	(67/4%) 95	(82/5%) 113	1 (رفرنس)	-
	AC	(26/9%) 38	(16/8%) 23	1/96 (1/09-3/52)	0/024
	CC	(5/7%) 8	(0/7%) 1	9/51 (1/16-77/45)	0/035
مدل Dominant	AA	(67/4%) 95	(82/5%) 113	-	-
	AC+ CC	(32/6%) 46	(17/5%) 24	2/28(1/29-4/00)	0/004
مدلRecessive	AA+AC	(94/3%) 133	(99/3%) 136	-	-
	CC	(5/7%) 8	(0/7%) 1	8/18(1/01-66/31)	0/049
آلل‌ها	A	(80/9%) 228	(90/9%) 249	-	-
	C	(19/1%) 54	(9/1%) 25	2/39(1/41-3/97)	0/001

بحث

سیستم رنین-آنژیوتانسین، یک سیستم هورمونی است که به‌عنوان تنظیم‌کننده اصلی فشار خون عمل می‌کند و تأثیرات فیزیولوژیکی متفاوتی بر ارگان‌های بدن دارد و می‌تواند در عملکردهای متعددی از جمله تنظیم سیکل سلولی دخالت کند. AGTR1 یک گیرنده غالب در این سیستم می‌باشد و کاندید مناسبی به‌عنوان یک عامل تأثیرگذار در بیماری عروق کرونری است (21).

He و همکاران در مطالعه خود در سال 2010، بعد از بررسی 1906 شرکت‌کننده از ناحیه شمال چین، چندین پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی در سیستم رنین- آنژیوتانسین در ارتباط با فشار خون بالا را بررسی کردند. بر اساس این مطالعه تنوع ژنتیکی در سیستم رنین- آنژیوتانسین از جمله پلی‌مورفیسم A1166C در ژن *AGTR1* با پاسخ فشار خون بالا آشکار شد (22).

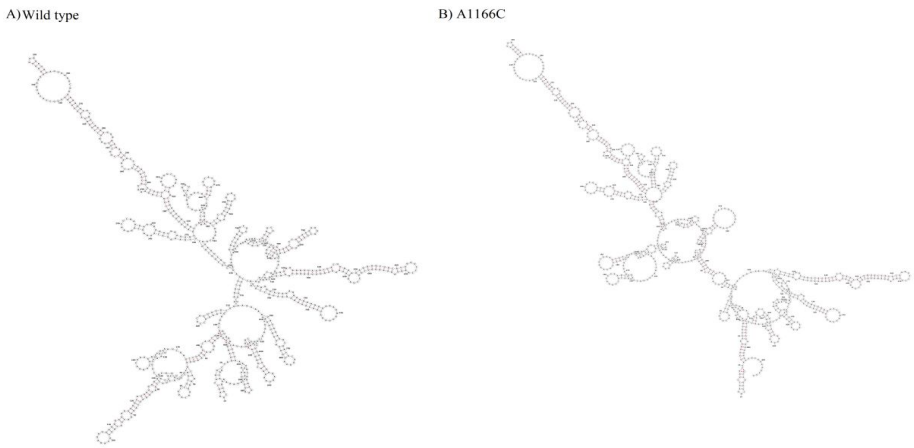
Jin و همکاران در سال 2012، فرضیه‌ای را براساس حضور پلی‌مورفیسم A1166C در ژن *AGTR1* مطرح کردند. طبق این فرضیه، حجم بطن چپ با پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1* وابستگی دارد. در واقع حضور پلی‌مورفیسم C در mRNA، جفت‌شدن خود را با microRNA-155، دچار اختلال کرده و باعث پایداری mRNA و افزایش بیان تولید پروتئین AGTR1 در شرایط آزمایشگاهی می‌شود. در ارزیابی این فرضیه، 708 فرد که به‌صورت تصادفی از جمعیت سفید اروپایی انتخاب شده بودند، شرکت داشتند. در این آزمایش ساختار بطن چپ از طریق اکوکاردیوگرافی و پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1* و همچنین آلدوسترون 24 ساعته ادرار بررسی شد. در این مطالعه، نتایج فراوانی ژنوتیپ‌ها به‌صورت 49/1% AA، 42/8% AC و 8/1% CC مشاهده شد (23).

در این مطالعه برای بررسی پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1*، از تکنیک tetra- primer ARMS- PCR استفاده شد. برتری این تکنیک نسبت به تکنیک‌هایی مانند: PCR-RFLP، SSCP، و ARMS-PCR، عدم نیاز این روش به آنزیم‌های محدودکننده و رادیوایزوتوپ‌ها می‌باشد؛ همچنین این تکنیک قادر به تشخیص ژنوتیپ اختصاصی در یک واکنش PCR بدون نیاز به دستورزی پس از PCR می‌باشد.

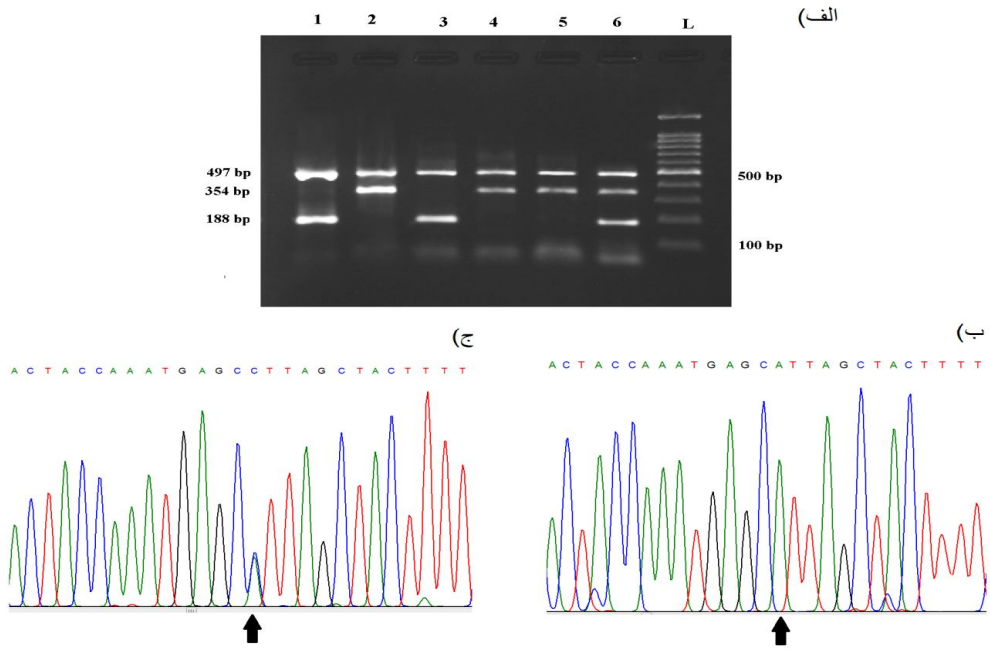
در مطالعه حاضر، آنالیز داده‌ها بر اساس مدل‌های ژنتیکی Co-dominant، Dominant و Recessive انجام گرفت. نتایج نشان داد که پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1* از

نظر آماری دارای تفاوت معنی‌دار در دو گروه بود (جدول 3). در این مطالعه از نظر فراوانی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم A1166C به‌ترتیب: 67/4% افراد دارای پلی‌مورفیسم AA، 26/9% دارای پلی‌مورفیسم AC و 5/7% دارای پلی‌مورفیسم CC بودند.

همچنین بررسی تأثیر این پلی‌مورفیسم بر ساختار انتهای 3' mRNA، خمش اشتباه را نشان داد (شکل 2). در این مطالعه، علاوه بر تعیین فراوانی این پلی‌مورفیسم و تأثیر آن بر بیماری عروق کرونری، از طریق تعیین توالی تعدادی از نمونه‌های جمعیت مورد مطالعه، صحّت و دقّت استفاده از روش tetra primer ARMS PCR نیز ارزیابی شد. نتایج مطالعه حاضر انطباق 100% را بین نتایج T-ARMS-PCR و تعیین توالی نشان داد (شکل 3).



شکل 2. تأثیر پلی‌مورفیسم A1166C ژن AGTR1 بر خمش انتهای '3 RNA. الف) ساختار 3'-UTR نرمال. ب) ساختار 3'-UTR موتانت.



شکل 3: الف) ژل الکتروفورز آگاروز واکنش T-ARMS-PCR پلی‌مورفیسم A1166C ژن AGTR1. لاین‌های 2، 4 و 5 نمونه هموزیگوت AA و لاین 6 نمونه هتروزیگوت AC و لاین‌های 1 و 3 نمونه‌های هموزیگوت CC می‌باشد. ب) توالی نمونه هموزیگوت نرمال (AA)، ج) توالی نمونه هتروزیگوت (AC).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر، می‌توان استنباط کرد که پلی‌مورفیسم A1166C ژن *AGTR1*، نقشی مؤثّری در افـزایش خطـر ابـتلا بـه بیماری عروق کرونری دارد.

با توجه به اهمیّت پلی‌مورفیسم‌ها در ابتلا به انواع بیماری‌ها از جمله آترواسکلروز، پیشنهاد می‌شود که بررسی‌های بیشتری بر روی آنها انجام شود. همچنین با توجه به کم‌بودن جامعه آماری تحقیق حاضر، بررسی بر روی تعداد افراد بیشتر پیشنهاد می‌گردد؛ چرا که افزایش کمّیت باعث کاهش ضریب خطای موجود در نتایج به‌دست‌آمده می‌شود.

تقدیر و تشکر

این مقاله برگرفته از طرح مصوب در دانشگاه یزد با کد اخلاق IR.SSU.REC.1395.223 می‌باشد. بدین‌وسیله مراتب تقدیر و تشکر خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه و نیز از تمام افراد شرکت‌کننده در مطالعه، اعلام می‌داریم.

منابع:

1- Kovarnik T, Kral A, Skalicka H, Skalicka L, Dostal O, Kralik L, et al. Prediction of coronary vessel involvement on the basis of atherosclerosis risk factor analysis. Bratisl Lek Listy. 2013; 114(7): 413-7.

2- Libby P, Ridker PM, Hansson GK; Leducq Transatlantic Network on Atherothrombosis. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. J Am Coll Cardiol. 2009; 54(23): 2129-38.

3- Boudoulas KD, Triposciadis F, Geleris P, Boudoulas H. Coronary Atherosclerosis: Pathophysiologic Basis for Diagnosis and Management. Prog Cardiovasc Dis. 2016; 58(6): 676-92.

4- Ganesh SK, Arnett DK, Assimes TL, Basson CT, Chakravarti A, Ellinor PT, et al. Genetics and genomics for the prevention and treatment of cardiovascular disease: update: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation. 2013; 128(25): 2813-51.

5- O'Donnell CJ, Nabel EG. Genomics of cardiovascular disease. N Engl J Med. 2011; 365(22): 2098-109.

6- Heidari MM, Khatami M, Hadadzadeh M, Kazemi M, Mahamed S, Malekzadeh P, et al. Polymorphisms in NOS3, MTHFR, APOB and TNF-alpha Genes and Risk of Coronary Atherosclerotic Lesions in Iranian Patients. Res Cardiovasc Med. 2016; 5(1): e29134.

7- Heidari MM, Foruzannia SK, Khatami M, Hadadzadeh M, Emami Meybodi M. Apolipoprotein E gene polymorphism in Iranian coronary atherosclerosis patients candidate for coronary artery bypass graft. Iran J Basic Med Sci. 2013; 16(7): 841-4.

8- Khatami M, Heidari MM, Hadadzadeh M, Scheiber-Mojdehkar B, Bitaraf Sani M, Houshmand M. Simultaneous Genotyping of the Rs4762 and Rs699 Polymor-phisms in Angiotensinogen Gene and Correlation with Iranian CAD Patients with Novel Hexa-primer ARMS-PCR. Iran J Public Health. 2017; 46(6): 811-9.

9- MacGregor GA, Markandu ND, Roulston JE, Jones JC, Morton JJ. Maintenance of blood pressure by the renin-angiotensin system in normal man. Nature. 1981; 291(5813): 329-31.

10- Kim HK, Lee H, Kwon JT, Kim HJ. A polymorphism in AGT and AGTR1 gene is associated with lead-related high blood pressure. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. 2015; 16(4): 712-9.

11- Vinson GP, Ho MM, Puddefoot JR. The distribution of angiotensin II type 1 receptors, and the tissue renin-angiotensin systems. Mol Med Today. 1995; 1(1): 35-9.

12- Guo DF, Sun YL, Hamet P, Inagami T. The angiotensin II type 1 receptor and receptor-associated proteins. Cell Res. 2001;11(3):165-80.

13- Mehta PK, Griendling KK. Angiotensin II cell signaling: physiological and pathological effects in the cardiovascular system. Am J Physiol Cell Physiol. 2007; 292(1): C82-97.

14- Caulfield M, Lavender P, Farrall M, Munroe P, Lawson M, Turner P, et al. Linkage of the angiotensinogen gene to essential hypertension. N Engl J Med. 1994; 330(23): 1629-33.

15- Bonnardeaux A, Davies E, Jeunemaitre X, Fery I, Charru A, Clauser E, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension. Hypertension. 1994; 24(1): 63-9.

16- Ulgen MS, Ozturk O, Yazici M, Kayrak M, Alan S, Koc F, et al. Association between A/C1166 gene polymorphism of the angiotensin II type 1 receptor and biventricular functions in patients with acute myocardial infarction. Circ J. 2006; 70(10): 1275-9.

17- Tiret L, Bonnardeaux A, Poirier O, Ricard S, Marques-Vidal P, Evans A, et al. Synergistic effects of angiotensin-converting enzyme and angiotensin-II type 1 receptor gene polymorphisms on risk of myocardial infarction. Lancet. 1994; 344(8927): 910-3.

18- Chistiakov DA, Kobalova ZhD, Tereshchenko SN, Moiseev SV, Nosikov VV. [Polymorphism of vascular angiotensin II receptor gene and cardiovascular disorders]. Ter Arkh. 2000; 72(4): 27-30. [Russian]

19- Makeeva OA, Puzyrev KV, Pavliukova EN, Koshel'skaia OA, Golubenko MV, Efimova EV, et al. [ACE and AGTR1 genes polymorphisms in left ventricular hypertrophy pathogenesis in humans]. Mol Biol (Mosk). 2004; 38(6): 990-6. [Russian]

20- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res. 1988; 16(3): 1215.

21- Kato N, Tatara Y, Ohishi M, Takeya Y, Onishi M, Maekawa Y, et al. Angiotensin-converting enzyme single nucleotide polymorphism is a genetic risk factor for cardiovascular disease: a cohort study of hypertensive patients. Hypertens Res. official journal of the Japanese Society of Hypertension. 2011; 34(6): 728-34.

22- Kelly T, Hixson J, Rao D, Mei H, Rice T, Jaquish C, et al. Genome-wide Linkage and Positional Candidate Gene Study of Blood Pressure Response to Dietary Potassium Intervention: the genetic epidemiology network of salt sensitivity study. Circ Cardiovasc Genet. 2010; 3(6): 539-47.

23- Jin Y, Kuznetsova T, Thijs L, Schmitz B, Liu Y, Asayama K, et al. Association of left ventricular mass with the AGTR1 A1166C polymorphism. Am J Hypertens. 2012; 25(4): 472-8.