مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی- مولکولی
دوره سوم، شماره یازدهم، تابستان ۱۳۹۲

NCMBJ
Research Article
مقاله تحقیقی

غربالگری پلی مرفیسم های جدید زیرواحد ۱ ژن آنزیم سیتوکروم اکسیداز میتوکندریایی در بیماران مبتلا به انسداد مزمن ریوی

فرید ابن رسولی[۱]، محمد سعید هخامنشی*[۲]، ناصح سیگاری [۳]، محمدرضا اصغرزاده[۱]

[۱] کارشناسی ارشد گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
[۲] استادیار،گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران
[۳] استادیار، گروه بیماری های داخلی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، بیمارستان توحید، سنندج، ایران

چکیده

سابقه و هدف : بیماری انسداد مزمن ریوی (COPD) از التهاب و تخریب بخش هایی از بافت ریه به وجود می آید و معمولاً افراد را در سنین بالای ۵۰ سال مبتلا می نماید. با توجه به اینکه مشکل اصلی این بیماران ضعف در انجام کارهای فیزیکی به دلیل بروز تنگی نفس و کمبود انرژی است این سوال مطرح می شود که آیا تغییرات در آنزیم سیتوکروم اکسیداز (COX) به عنوان آخرین و مهم ترین جزء زنجیره تنفسی می تواند در بروز این بیماری دخیل باشد. در همین راستا ۶۵ بیمار COPD با میانگین سنی ۸ ± ۷۱ و ۵۰ فرد سالم با میانگین سنی۴±۵۶ انتخاب شده و از DNA تخلیص شده از نمونه خون آن ها برای انجام این تحقیق استفاده شد.

مواد و روش ها : DNA های جدا شده برای تکثیر زیر واحد یک میتوکندریایی آنزیم COX مورد استفاده قرار گرفت. در این تحقیق غربالگری ۴ پلی مرفیسم با استفاده از روش جدید ARMS Real time PCR در قطعه COXI انجام شد.

یافته ها : بعد از انجام PCR، نتایج بدست آمده در دو گروه بیمار و سالم جهت تعیین درصد پلی مرفیسم در آن ها مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان دهنده اختلاف قابل ملاحظه میزان پلی مرفیسم ها بین دو گروه مبتلا به COPD و گروه سالم بود.

نتیجه گیری : بیشترین اختلاف میزان پلی مرفیسم در دو گروه بیمار و سالم در نوکلوتید ۶۰۶۰ بود که تنها پلی مرفیسم منجر به تغییر اسید آمینه است. افزایش مقدار این پلی مرفیسم ها در افراد مبتلا به COPD نسبت به افراد نرمال می تواند این پلی مرفیسم ها را به عنوان یکی از عوامل دخیل در ابتلا به COPD معرفی کند.

کلمات کلیدی : بیماری انسداد مزمن ریوی (COPD)، آنزیم سیتوکروم اکسیداز (COX)، ARMS Real time PCR

مقدمه

بیماری انسداد مزمن ریوی یا[۱](COPD) ، بیماری است که با کاهش ظرفیت تنفسی به طور برگشت ناپذیر مشخص می شود که ناشی از یک پاسخ التهابی غیر طبیعی شش ها به ذرات زیان آور و یا گازها می باشد (۷). علائم اصلی آسم و COPD یکسان است ولی یکسری اختلافات کلی نیز وجود دارد که به نحوه بروز بیماری و قابلیت درمان آن ارتباط دارد (۳) . COPD معمولاً می تواند با آسم همراه باشد هر چند که مشخصات التهابی آن با آسم فرق دارد (۳). تخمین های قابل دسترس از میزان شیوع COPD، یا متناسب با گزارش های مرتبط با علائم تنفسی است و یا اینکه بر اساس گزارش های تشخیصی COPD، برونشیت مزمن و آمفیزم ارائه شده توسط پزشکان، می باشد (۶). میزان شیوع این بیماری به طور قابل توجهی وابسته به عوامل بیماریزا، وضعیت توزیع سنی و میزان تغییرات ژن های حساس در جمعیت های مختلف می باشد (۱۳). امروزه، تمامی مطالعات جمعیتی نشان داده که میزان شیوع این بیماری در مردان بیشتر از زنان است (۴).

آدرس نویسنده مسئول : گروه بیوشیمی،دانشگاه علوم پزشکی کردستان

Email : shakhamanesh@yahoo.com
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۳/۲۳
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱

1- Chronic Obstructive Pulmonary Disease

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]

اعتقاد بر این است که بسیاری از عوامل ژنتیکی احتمال ابتلا به COPD را افزایش و یا کاهش می دهند. مطالعات نشان داده که احتمال ابتلا به COPD در خانواده هایی که فرد مبتلا به COPD داشته اند، بیشتر است (۵،۱۰). از بین بسیاری از عواملی که مردم در طول زندگیشان ممکن است استنشاق کنند، دود سیگار، غبارها و مواد شیمیایی محیط کار و زندگی به عنوان عواملی شناخته شده اند که به تنهایی می توانند COPD ایجاد کنند (۹،۲). میتوکندری یکی از مهم ترین اندامک های سلولی است و با توجه به انجام روند متابولیسمی بسیار مهم فسفریلاسیون اکسیداتیو آنرا اصطلاحاً نیروگاه سلول گویند (۱۲) میتوکندری دارای DNA خاص خود است که در انسان یک ملکول مدور بسته دو رشته‌ای با ۱۶۵۶۹ جفت نوکلئوتید است و یکی از متراکم ترین و فشرده‌ترین بخش‌های اطلاعات ژنتیکی است (۱۲). سیتوکروم C اکسیداز (COX) آخرین و کلیدی ترین آنزیم زنجیرهٔ انتقال الکترون بوده و وظیفهٔ اکسید کردن سیتوکروم C و احیاء اکسیژن و تشکیل آب را به عهده دارد (۲،۱۲) سه زنجیرهٔ آن یعنی (COx I , COx II ,COx III) توسط mtDNA و سایر زنجیره‌ها توسط nDNA رمز می‌شوند. زنجیره های حاصل از ژنوم میتوکندری بزرگ ترین زیر واحدهای آنزیم بوده و هستهٔ اصلی و کاتالیتیک آن را تشکیل می دهد (۱۱). لازم به ذکر است که شناسایی پلی مرفیسم های موضوع این طرح به روش Sequencing در قالب بخشی از رساله دکتری به صورت طرح مشترک بین دانشگاه تربیت مدرس و مرکز ملی تحقیقات سل و بیماری های ریوی انجام گرفت (۱).

جدول ۱- پلی مرفیسم های شناسایی شده در ژن COXI

Position	Consensus residues	polymorphic residues	Polymorphism
6060	**A**	G	Conflict: missense SNP Ile 6061 Val on COXI
6140	**C**	G	Conflict: sense SNP on COXI
6179	**G**	A	Conflict: sense SNP on COXI
6299	**A**	G	Conflict: sense SNP on COXI

مواد و روش ها

شناسایی و انتخاب بیماران

در اولین قدم انتخاب بیماران مورد نظر حائز اهمیت ویژه ای است. به همین منظور بیماران COPD که حداقل یک دورهٔ تشدید بیماری را تجربه کرده بودند و به همین دلیل بستری شده بودند برای تحقیق انتخاب شدند. تمامی بیماران مورد نظر، تحت درمان با داروهای خاص تجویز شده برای کنترل تظاهرات بالینی بیماری COPD بودند. نمونه های قابل استفاده برای جمع آوری اطلاعات مورد نظر می توانست خون، بافت و خلط باشد که نمونه خون تحت نظر پزشک معالج و رعایت اخلاق پزشکی انتخاب و توسط پرستاران بیمارستان توحید سنندج تهیه شد. جمعیت مورد مطالعه به طور Cross-Sectional انتخاب شده و شامل ۵۰ فرد سالم غیر سیگاری (۴۲ مرد و ۸ زن) به عنوان گروه شاهد و ۶۵ نفر بیمار (۴۱ مرد و ۲۴ زن) به عنوان گروه مورد بودند. گروه مورد بیماران مبتلا به COPD بودند که حداقل یک بار دوره حاد بیماری را طی کرده بودند و به همین دلیل بستری شده بودند. وجود بیماری در گروه مورد از طریق مشاهدات بالینی و نیز تست اسپیرومتری و ارزیابی پارامترهای خاص آن تائید شد.

ابزار جمع آوری اطلاعات

ابزار و وسایل گردآوری اطلاعات شامل پرسشنامه مربوط به اطلاعات گروه شاهد و مورد، وسایل خون گیری و فرآوری آن، ترازوی آزمایشگاهی، دستگاه اسپیرومتر، مواد و وسایل لازم برای استخراج DNA و انجام Real Time - PCR ، وسایل و مواد الکتروفورز افقی، وسایل مورد نیاز برای مطالعات مولکولی مثل دستگاه Real Time - PCR و نرم افزار مربوطه میباشد.

تهیه و فرآوری خون

برای تهیه خون از خون وریدی دست به مقدار ۵ میلی لیتر EDTA دار در لوله های Venoject استفاده شد. به منظور انجام مراحل بعدی DNA تخلیص شده و ۱/۵ میلی لیتر از خون نیز برای نیاز به تکرار احتمالی در ۷۰ °C- نگهداری شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]

استخراج DNA از سلول های خون

در مطالعه حاضر با توجه به تعداد زیاد نمونه از کیت استخراج DNA کمپانی TaKaRa ژاپن (Dr. GenTLE™) استفاده شد. این کیت قادر به جداسازی ۷-۲ میکروگرم DNA از ۵۰ میکرولیتر خون تام با خلوص ۲-۱.۸=$A_{۲۶۰/۲۸۰}$ می باشد که در عمل نیز چنین نتیجه ای گرفته شد.

طراحی پرایمرها

در پروژه حاضر روش Real Time – PCR با ARMS-PCR تلفیق شده و از آن در غربالگری و شناسایی پلی مورفیسم های زیر واحد یک آنزیم COX استفاده شد. بدین ترتیب یک روش سریع، ارزان و کاربردی برای شناسایی جهش و پلی مورفیسم شکل می گیرد که علاوه بر موضوع تحقیق حاضر می تواند در سایر بیماری ها نیز مورد استفاده قرار گیرد. لازم به ذکر است که اختلاف طول قطعات تکثیر شده در Real Time - PCR با melting curve analysis قابل آشکار سازی می باشد. دقت این روش در حد یک باز می باشد و قابلیت تکثیر در - Real Time PCR در حد یک نسخه الگو است. با توجه به تلفیق دو روش Real Time - PCR و ARMS-PCR در این تحقیق، برای هر پلی مرفیسم مورد مطالعه یک جفت پرایمر Forward طراحی شد که یکی از پرایمرها با میل ترکیبی بیشتر به لوکوس حاوی نوکلئوتید پلی مورفیسم و دیگری جهت اتصال به همان لوکوس اما با میل ترکیبی بیشتر به نوکلئوتید وحشی طراحی شد. محصول این پرایمرها در واکنش PCR متفاوت خواهد بود که این اختلاف با آنالیز دمای Melt محصولات توسط دستگاه Realtime PCR آشکار خواهد شد و با بررسی نتایج Realtime PCR وجود یا عدم وجود پلی مرفیسم همچنین مقدار پلی مرفیسم ها مشخص می شود. برای طراحی پرایمرهای Reverse از آنجایی که ۴ جایگاه پلی مرف در ژن COXI بررسی شد برای ۳ جایگاه اول (۶۱۷۹،۶۱۴۰،۶۰۶۰) یک پرایمر Reverse و برای جایگاه چهارم (۶۲۹۹) هم یک پرایمر Reverse دیگر در نظر گرفته شد که با در نظر گرفتن شرایط فوق الذکر به شکل زیر طراحی شدند. پرایمرهای طراحی شده برای اولین نوکلئوتید پلی مرف (۶۰۶۰) در زیر واحد ۱ آنزیم سیتوکروم اکسیداز (COXI):

پرایمر forward برای نوکلئوتید وحشی ۵

ACGACCACATCTACAACG ۳

پرایمر forward برای نوکلئوتید پلی مرف ۵

TTCTAGGTAACGACCACG ۳

پرایمر Reverse ۳ TAGGAGAGAGGGAGGTAA ۵

پرایمرهای طراحی شده برای دومین نوکلئوتید پلی مرف (۶۱۴۰) در زیرواحد ۱ آنزیم سیتوکروم اکسیداز(COXI):

پرایمر forward برای نوکلئوتید وحشی ۵

GGCTTTGGGAACTGACTA ۳

پرایمر forward برای نوکلئوتید پلی مرف ۵

ATAATCGGAGGCTTTGGC ۳

پرایمر Reverse ۳ TAGGAGAGAGGGAGGTAA ۵

پرایمرهای طراحی شده برای سومین نوکلئوتید پلی مرف (۶۱۷۹) در زیرواحد ۱ آنزیم سیتوکروم اکسیداز(COXI):

پرایمر forward برای نوکلئوتید وحشی ۵

CCCCGATATGGCGTTTCC ۳

پرایمر forward برای نوکلئوتید پلی مرف ۵

CCCCGATATAGCGTTTCC ۳

پرایمر Reverse ۳ TAGGAGAGAGGGAGGTAA ۵

پرایمرهای طراحی شده برای چهارمین نوکلئوتید پلی مرف (۶۲۹۹) در زیرواحد ۱ آنزیم سیتوکروم اکسیداز(COXI):

پرایمر forward برای نوکلئوتید وحشی ۵

GTCTACCCTCCCTTAGCA ۳

پرایمر forward برای نوکلئوتید پلی مرف۵

GTCTACCCTCCCTTAGCG ۳

پرایمر Reverse ۳ AGAGGGGCGTTTGGTATTG ۵

لازم به ذکر است نحوه طراحی پرایمرها برای دو لوکوس ۶۰۶۰ و ۶۱۴۰ به صورتی است که طول محصولات PCR متفاوت خواهد بود. اما پرایمرهای طراحی شده برای دو لوکوس ۶۱۷۹ و ۶۲۹۹ محصولاتی با طول یکسان تولید خواهند کرد اما به دلیل تفاوت در نوع نوکلئوتیدها از لحاظ آنالیز دمای Melt متفاوت خواهند بود که این تفاوت به علت اختلاف در تعداد پیوندهای هیدروژنی بین نوکلئوتیدهای CG و AT است.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]

بهینه سازی دمای اتصال

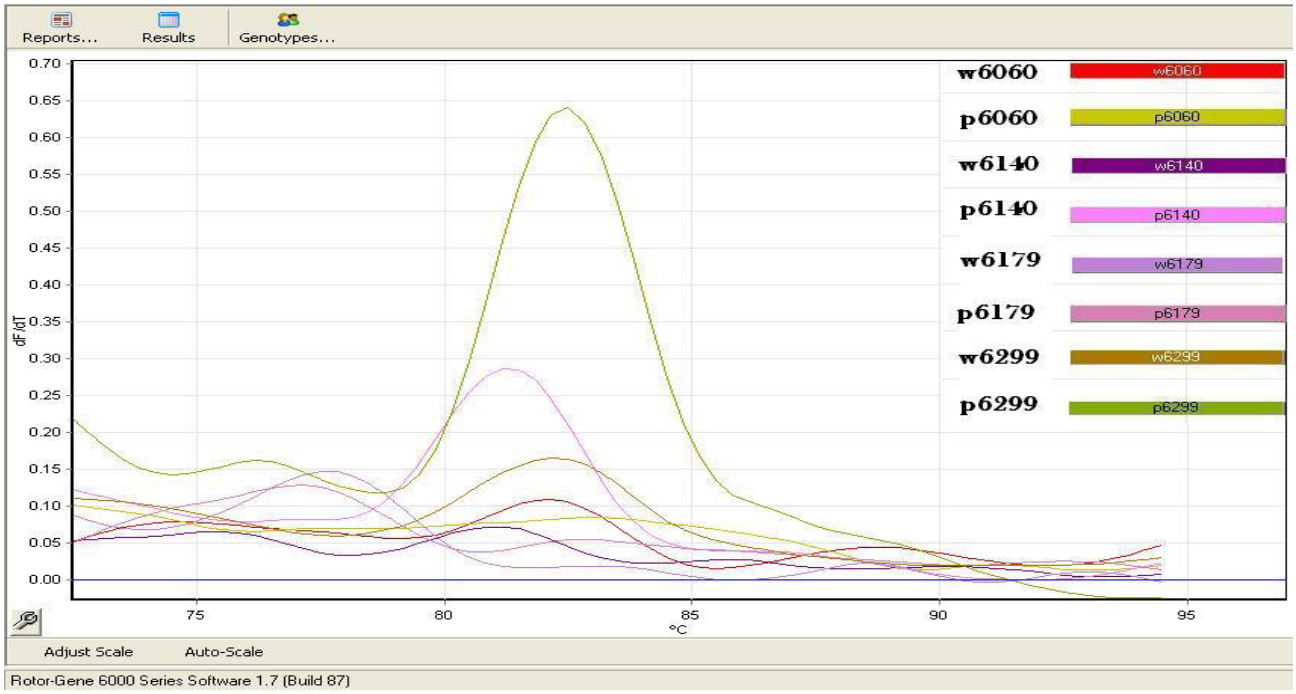
با توجه به وجود ۴ قطعه برای PCR دمای اتصال برای هر قطعه باید بهینه شود. به این منظور ابتدا برای تعیین محدوده تقریبی دمای اتصال از PCR با گرادیان دمای استفاده شد. اما با توجه به دقت کمتر روش گرادیان نسبت به PCR تک دما، دمای اتصال نهایی توسط دستگاه Realtime PCR و با گام یک درجه از ۵۵ °C تا ۵۹ °C تعیین شد. دلایل احتمالی دقت کمتر روش گرادیان به این ترتیب است اول این که دستگاه های موجود قادر به ایجاد گرادیان دمایی واقعی مطابق با گرادیان دمایی ظاهری دستگاه نیستند و دوم اینکه چاهک های هر ستون دستگاه دمای یکسانی نداشته و دچار پراکنش دمایی هستند.

یافته ها

اطلاعات نتایج حاصل از مطالعات بالینی و اسپیرومتری نتایج حاصل از این بخش نشان داد که میانگین سن گروه بیمار ۸ ± ۷۱ و در گروه سالم ۴ ± ۵۴ سال بود. میانگین نمایه توده بدنی(BMI) نیز در گروه بیمار ۳/۷ ± ۲۳/۲ و در گروه سالم ۰/۶۷ ± ۲۷/۷ (کیلوگرم بر مترمربع) بود. نتایج اسپیرومتری نیز نشان داد که تمامی بیماران در مرحله ۴ بیماری بودند.

تعیین بهترین دمای اتصال برای پرایمرها

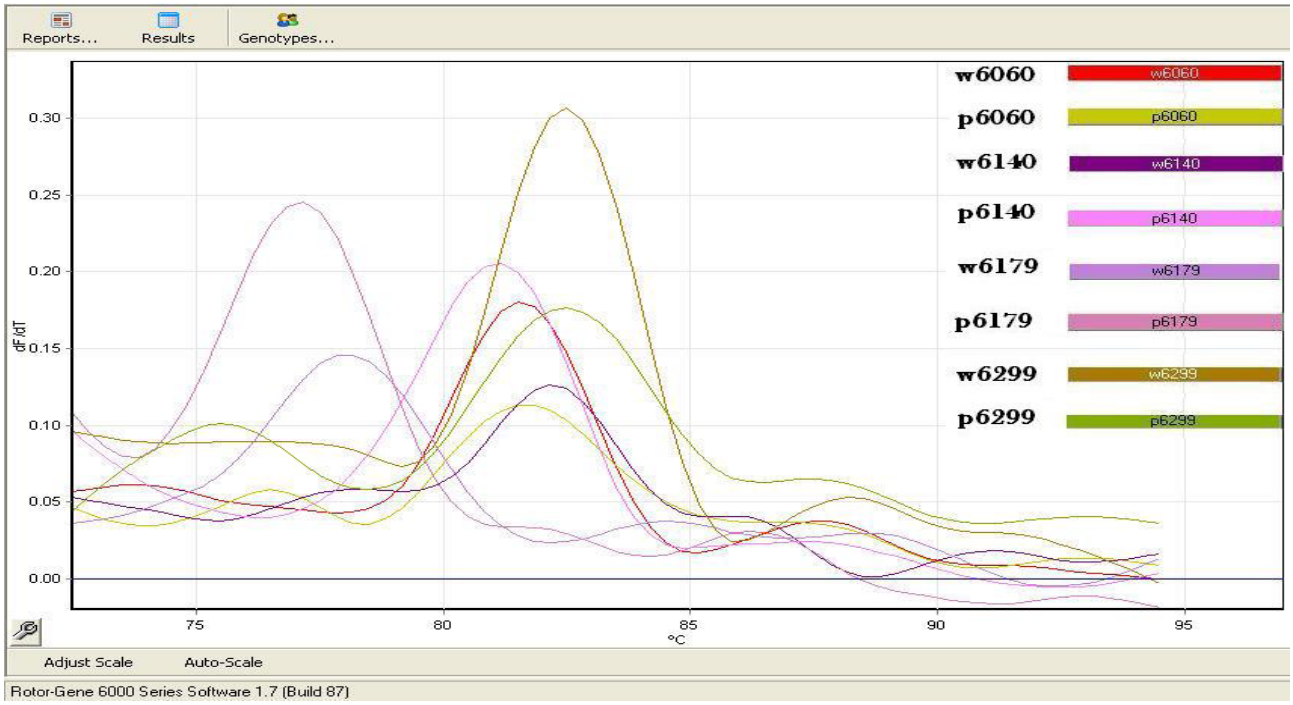
پس از تعیین محدوده دمایی دمای اتصال توسط PCR با گرادیان دمایی، جهت تعیین بهترین دمای اتصال ، قطعات مورد نظر به صورت تک دما وتوسط دستگاه Real time PCR تکثیر شدند. به این ترتیب که قطعات به صورت جداگانه و در سه دمای ۵۵ ، ۵۶ و ۵۷ °C تکثیر شدند. نتایج تعیین دمای اتصال توسط دستگاه Real time PCR در دمای ۵۵ °C در این مرحله هر ۸ قطعه مورد نظر توسط دستگاه Real time PCR و در دمای ۵۵ °C تکثیر شدند که نتایج آن در شکل ۱ مشاهده می شود. نتایج تعیین دمای اتصال توسط دستگاه Real time PCR در دمای ۵۶ °C در این مرحله هر ۸ قطعه مورد نظر توسط دستگاه Real time PCR و در دمای ۵۶ °C تکثیر شدند که نتایج آن در شکل ۲ مشاهده می شود.



شکل ۱- نمودار آنالیز دمای melt در ۵۵ °C.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]

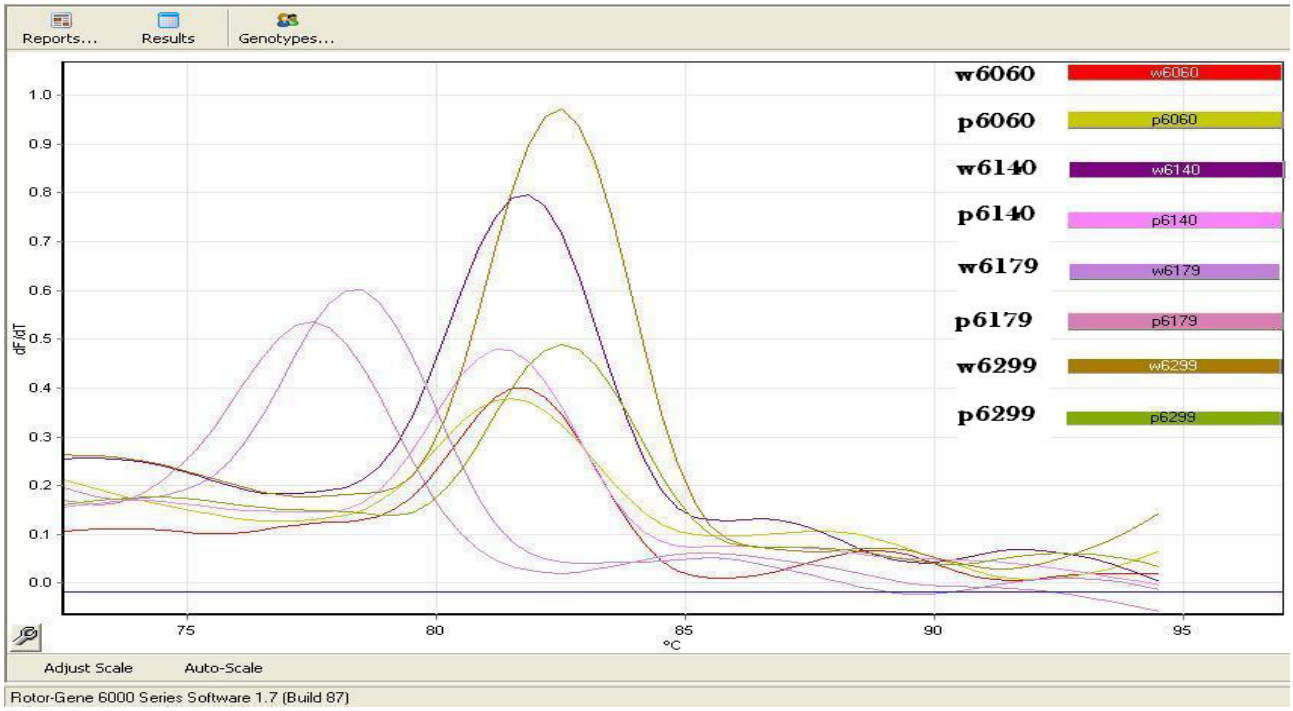
[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]



شکل ۲ - نمودار آنالیز دمای melt در ۵۶ °C.

نتایج تعیین دمای اتصال توسط دستگاه Real time PCR در دمای ۵۷ °C

در این مرحله هر ۸ قطعه مورد نظر توسط دستگاه Real time PCR و در دمای ۵۷ °C تکثیر شدند که نتایج آن در شکل ۳ مشاهده می شود.



شکل ۳ - نمودار آنالیز دمای melt در ۵۷ °C.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]

با توجه به نتایج مشاهده شده در هر سه دما وتک پیک بودن نمودارها در دمای ۵۷ °C، این دما به عنوان بهترین دمای اتصال پرایمرها انتخاب شد. نتایج بررسی میزان شیوع پلی مرفیسم در ۴ لوکوس ۶۰۶۰ ، ۶۱۴۰ ، ۶۱۷۹ و۶۲۹۹ در افراد مبتلا به COPD و نمونه های سالم در این بخش نتایج حاصل از شیوع پلی مرفیسم در ۴ لوکوس مورد نظر مشاهده می شود. این نتایج نشان دهنده ارتفاع پیک جذب بعد از انجام Real time PCR در تمام نمونه های مبتلا به COPD است . به این ترتیب که ارتفاع پیک در محصولات PCR که با پرایمرهای طراحی شده برای نوکلوتید وحشی تکثیر شده اند با ارتفاع پیک در محصولات PCR که با پرایمر طراحی شده برای نوکلوتید پلی مرف تکثیر شده اند مقایسه می گردد و بر اساس این نتایج درصد پلی مرفیسم در نمونه ها محاسبه می شود. نتایج میزان شیوع پلی مرفیسم در ۴ لوکوس ۶۰۶۰ ، ۶۱۴۰ ، ۶۱۷۹ و ۶۲۹۹ در نمونه های نرمال در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۲ - میزان شیوع پلی مرفیسم در ۴ لوکوس ۶۰۶۰ ، ۶۱۴۰ ، ۶۱۷۹ و ۶۲۹۹ در نمونه های نرمال

locus	P Mean (dF/dT) (میانگین ارتفاع پیک با پرایمر پلی مرفیسم)	W Mean (dF/dT) (میانگین ارتفاع پیک با پرایمر نرمال)	%p میانگین پلی مرفیسم ها به صورت درصد
۶۰۶۰	۰.۴۳	۲.۸۷	۱۳
۶۱۴۰	۰.۵۱	۲.۲۹	۱۸
۶۱۷۹	۱.۱	۳.۱	۲۶
۶۲۹۹	0.9	۴.۴	۱۷

نتیجه نهایی مقایسه میزان شیوع پلی مرفیسم ها بین دو گروه مبتلا به COPD وگروه نرمال در جدول ۳ ارائه شده است.

جدول ۳ - مقایسه میزان شیوع پلی مرفیسم ها بین دو گروه نرمال و مبتلا به COPD

Locus	%p in normal samples	%p in COPD samples	Difference between normal & COPD samples (%)
6060	13	53	40
6140	18	56	38
6179	26	48	22
6299	17	50	33

بحث

تقریباً تمامی بیماران COPD در ایران حداقل یک دوره تشدید بیماری را تجربه کرده و در مرحله چهارم بیماری می باشند. در این مرحله بیماری بسیار سخت و ناتوان کننده می باشد که منجر به مراجعه شخص به بیمارستان و بستری شدن وی می شود. مدارک فزاینده‌ای دال بر دخالت چندین ژن در بروز COPD مطرح و پلی‌مرفیسم‌های مختلف این ژن‌ها و چگونگی ارتباط آن ها با این بیماری نیز مشخص شده است (۵). از سوی دیگر تمامی ژن های مورد بررسی مرتبط با این بیماری مربوط به ژنوم هسته‌ای می‌باشند و توجه چندانی به اختلالات احتمالی ژنوم میتوکندری و ارتباط آن با افزایش حساسیت ابتلا به COPD مبذول نشده است (۸). در پروژه حاضر روش Real Time - PCR با ARMS-PCR تلفیق شده و از آن در غربالگری و شناسایی پلی مورفیسم های جدول۱ که در GENE bank و MITOMAP ثبت شده است، استفاده شد. چون این روش بر اساس تفاوت در میل ترکیبی پرایمرها با DNA الگو است پس دمای اتصال پرایمرها باید با دقت بالایی تعیین شود که در این قسمت به تفسیر آن می پردازیم. با توجه به نتایج مشاهده شده در شکل ۱ می توان مشاهده کرد که در دمای ۵۵ °C فقط قطعه مربوط به نوکلوتید ۶۲۹۹ تک پیک است همچنین با توجه به نتیجه Real time PCR در دمای ۵۶ درجه (شکل ۲) قطعات تکثیر شده دارای جذب پایین (حداکثر ۰,۳) بودند. اما نتایج Real time PCR در ۵۷ °C(شکل ۳) نشان داد که تمام قطعات در این دما تک پیک بوده و جذب مناسب داشتند و بر اساس این نتایج دمای ۵۷ °C جهت انجام مراحل بعدی تعیین شد. یکی از مهمترین نتایج مشاهده شده در این تحقیق درصد بالای پلی مرفیسم های مورد نظر در بیماران مبتلا به COPD است که بعد از مقایسه میزان این پلی مرفیسم ها با افراد نرمال اختلاف معنی داری بین آن ها مشاهده شد. افزایش مقدار این پلی مرفیسم ها در افراد مبتلا به COPD نسبت به افراد نرمال می تواند این پلی مرفیسم ها را به عنوان یکی از عوامل دخیل در ابتلا به COPD معرفی کند. بخصوص پلی مرفیسم مورد نظر در لوکوس ۶۰۶۰ که بیشترین میزان اختلاف با افراد نرمال را نشان می دهد(p value=۰.۰۰۴) همچنین تنها پلی مرفیسمی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]

است که باعث تغییر در اسید آمینه می شود. به این ترتیب که

باعث تبدیل ایزولوسین به والین می گردد.

منابع

(۱) هخامنشی م س،۱۳۸۶ ،بررسی میزان بیان و پلی مورفیسم در ژنهای میتوکندریایی آنزیم سیتوکروم اکسیداز در بیماران COPD،رساله دکتری ،دانشگاه تربیت مدرس.

(2) Abbey DE, Burchette RJ, Knutsen SF, McDonnell WF, Lebowitz MD, Enright PL. Long-term particulate and other air pollutants and lung function in nonsmokers. Am J Respir Crit Care Med 1998; 158(1):289-98.
(3) Chanez P, Vignola AM, O'Shaugnessy T, Enander I, Li D, Jeffery PK, et al. Corticosteroid reversibility in COPD is related to features of asthma. Am J Respir Crit Care Med 1997; 155(5):1529-34.
(4) Chapman KR, Mannino DM, Soriano JB, Vermeire PA, Buist AS, Thun MJ, et al. Epidemiology and costs of chronic obstructive pulmonary disease. Eur Respir J 2006; 27(1):188-207.
(5) Chen Y. Genetics and pulmonary medicine. 10: Genetic epidemiology of pulmonary function. Thorax 1999; 54:818-24.
(6) Halbert RJ, Natoli JL, Gano A, Badamgarav E, Buist AS, Mannino DM. Global burden of COPD: systematic review and meta-analysis. Eur Respir J 2006.
(7) Lopez AD, Shibuya K, Rao C, Mathers CD, Hansell AL, Held LS, et al. Chronic obstructive pulmonary disease: current burden and future projections. Eur Respir J 2006; 27(2):397-412.
(8) Sauleda J, Garcia-Palmer F, Wiesner RJ, Tarraga S, Harting I, Tomas P, Gomez C, Saus C, Palou A, Agusti AG . Cytochrom oxidase activity and mitochondrial gene expression in skeletal muscle of patients with chronic obstructive pulmonary disease. Am J Respir Crit Care Med.1998 May; 157(5 Pt 1):1413-7.
(9) Sezer H, Akkurt I, Guler N, Marakoglu K, Berk S. A case-control study on the effect of exposure to different substances on the development of COPD. Ann Epidemiol 2006; 16(1):59-62.
(10) Silverman EK, Speizer FE. Risk factors for the development of chronic obstructive pulmonary disease. Med Clin North Am 1996; 80:501-22.
(11) Tsukihara T , Aoyama H , Yamashita E "The whole structure of the 13-subunit oxidized Cytochrom c oxidase of 2.8A"1996 Science;272:1136-1144
(12) Tully LA , Levin BC "Human Mitochondrial Genetics" Biotechnology and Genetic Engineering Reviews.2000;17:147-177
(13) Van den Boom G, van Schayck CP, van Mollen MP, Tirimanna PR, den Otter JJ, van Grunsven PM, et al. Active detection of chronic obstructive pulmonary disease and asthma in the general population. Results and economic consequences of the DIMCA program. Am J Respir Crit Care Med 1998; 158(6):1730-8.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-07]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1392.3.11.3.5]