بررسی افزایش چربی خون فامیلی در خانواده‌های مورد مطالعه لیپید و گلوکز تهران: یک مطالعه‌ی مقطعی

فاطمه نقی زاده موغاری[1]، کامران گیتی[2]، بهاره صداقتی خیاط[2]، بهزاد لامع راد[1]، احمد ابراهیمی[2]، فریدون عزیزی[2]، مریم سادات دانشپور[2]*

۱. دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران
۲. مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

نشریه پایش
سال پانزدهم شماره ششم، آذر ـ دی ۱۳۹۵ صص ۶۶۱-۶۵۳
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۲/۲۱
[نشر الکترونیک پیش از انتشار- ۱۶ شهریور ۹۵]

چکیده

افزایش چربی خون فامیلی یکی از شایع‌ترین اختلالات ارثی متابولیسم چربی‌ها است که با غلظت بالای LDL و کلسترول، بروز تاندون گزانتوما و خطر بالای بیماری زودرس عروق کرونر قلب تشخیص داده می‌شود. مطالعه حاضر، به بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs۲۲۲۸۶۷۱ در ژن LDLR با افزایش چربی خون فامیلی در خانواده‌های مورد مطالعه جمعیت قند و لیپید تهران (TLGS) پرداخته است.

مطالعه‌ی مقطعی حاضر به منظور بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم شایع از ژن LDL-R با این بیماری، در گروهی از افراد شرکت کننده از میان ۱۵۰۰۵ فرد تحت مطالعه TLGS انجام شد. در مطالعه حاضر ۲۰۶ نفر (در غالب ۲۲ خانواده) انتخاب شد. نمونه ژنومی افراد استخراج و با استفاده از روش Tetra Primer ARMS-PCR، پلی‌مورفیسم ژن مورد نظر تعیین ژنوتیپ شد. سپس تجزیه و تحلیل آماری به وسیله‌ی نرم‌افزارهای SPSS, PROGENY, PLINK, FBAT, POWER MARKER در جمعیت مورد مطالعه انجام شد.

مطالعه حاضر نشان داد که ارتباط معنادار بین حضور rs۲۲۲۸۶۷۱ و بیماری افزایش چربی خون فامیلی وجود ندارد (P= ۰/۷۰۵۵). فراوانی آلل مینور T (MAF) برابر با ۰/۱۰۱۶ محاسبه گردید. در جمعیت مورد بررسی افراد حامل ژنوتیپ TT یافت نشد. فراوانی آلل T نسبت به آلل دیگر در جمعیت مورد مطالعه کمتر بود و همچنین عدم وجود ژنوتیپ TT در جمعیت مورد مطالعه می‌تواند بیانگر نقش محافظتی آلل T در مقابل بیماری افزایش چربی خون فامیلی و بیماریهای قلبی عروقی باشد. برای حصول اطمینان و رسیدن به نتایج قابل تعمیم به همه جمعیت ایرانی پیشنهاد می‌گردد بررسی‌های بعدی با تعداد افراد بیشتر توام با آزمایشات مولکولی و معاینات فیزیکی برای این پلی‌مورفیسم انجام گیرد.

کلیدواژه: افزایش چربی خون فامیلی، پلی مورفیسم rs ۲۲۲۸۶۷۱، LDLR، TLGS

کد اخلاق: 12ECRIES 94.02.15

* نویسنده پاسخگو: تهران، بزرگراه شهید چمران، ولنجک، خیابان یمن، ابتدای خیابان پروانه، پلاک ۲۴، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
تلفن: ۲۲۴۳۲۵۶۹
E-mail: daneshpour@sbmu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

افزایش چربی خون فامیلی (Familial Hypercholesterolemia) یک بیماری با اختلال در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها است که غالبا مطابق با قوانین مندلی به ارث می‌رسد [۱].

بعلت افزایش LDL-C، آترواسکلروزیس و افزایش بیماریهای قلبی عروقی (CAD) در سنین پایین و در بعضی افراد، رسوب کلسترول در تاندونها و در اطراف چشم دیده می‌شود [۲]. مطالعات نشان داده اند به طور کلی همه‌ی افراد با تشخیص افزایش چربی خون فامیلی باید برای بیماریهای قلبی عروقی (CAD) به عنوان فرد "در معرض خطر" در نظر گرفته شوند [۳،۴]. درک نقش مهم عوامل خطر مرتبط با افزایش چربی خون فامیلی یکی از مهم‌ترین پیشرفت‌ها در فهم این بیماری است. سیگار کشیدن، مصرف بیش از حد کلسترول، سبک زندگی بیحرکت، چاقی، فشار خون بالا و دیابت از جمله عوامل خطر این بیماری محسوب می‌شوند [۵]. کنترل عوامل خطر اعم از عوامل محیطی و ژنتیکی این بیماری، همچنین تشخیص به موقع و درمان بستگان درجه اول و دوم در معرض خطر افزایش چربی خون فامیلی می‌تواند باعث کاهش عوارض و مرگ و میر ناشی از این بیماری شود [۳،۶]. جهت تشخیص این بیماری معیارهای مختلفی وجود دارد [۷]. آزمایش‌های مبتنی بر بررسی ژنی امکان تشخیص قطعی افزایش چربی خون فامیلی را در افراد فراهم کرده و به این ترتیب به عنوان روش استاندارد برای تشخیص این بیماری مطرح است [۶]. یافته‌های پژوهش‌های ژنتیکی بیانگر این است که در ۸۰-۶۰ درصد موارد علت بیماری تغییرات در ژن LDL-R است. امروزه به طور فزاینده‌ای، پلی‌مورفیسم‌های متعدد همراه با فنوتیپ بالینی افزایش چربی خون فامیلی گزارش شده است [۸]. در حال حاضر مطالعات گسترده ژنومی (GWAS) ، بیست و هشت SNP را که در افزایش چربی خون فامیلی نقش مهم ایفا می‌کنند معرفی کرده است [۹]. پژوهشی روی جمعیت اروپایی آلل T در rs۲۲۲۸۶۷۱ را به عنوان عامل محافظتی در مقابل بیماری عروق کرونر قلب و پایین آورنده سطح LDL مطرح کرده است [۱۰]. همچنین تحقیقی روی جمعیت اروپایی بیانگر تاثیر پلی‌مورفیسم مذکور بر روی بیماری قلبی عروقی را تایید کرده است [۱۱] اگر چه در جمعیت چینی این ارتباط دیده نشده است [۱۲]. همچنین مطالعه مارتین لی و همکارانش روی جمعیت ایتالیایی نشان دهنده عدم ارتباط پلی‌مورفیسم مزبور با بیماری کرونر قلب بوده است [۱۳]. توالی ژنی مرتبط با گیرنده LDL، بر روی کروموزم ۱۹ قرار دارد که از ناحیه ۱۳/۱ تا ۱۳/۳ شامل ۴۵ هزار جفت بازاست. پس از پردازش، پروتئین گیرنده LDL از ۸۳۹ اسید آمینه تشکیل شده است. این پروتئین دارای شش حوزه عملکردی شامل تک زنجیره پپتیدی، دومن اتصالی به لیگاند، پیش ساز شبه عامل رشد اپیدرمی (EGFP)، جایگاه اتصالی کربوهیدراتی (O-لینک)، ناحیه داخل غشایی و دومن سیتوپلاسمی است [۱۴]. جهش می‌تواند در سراسر ژن اتفاق بیفتد اما بیشترین تغییرات در دومن اتصالی لیگاند و پیش ساز شبه عامل رشد اپیدرمی گزارش شده است [۱۵].

گیرنده‌های LDL در سطح سلول، در نواحی فرورفته (حفره‌های پوشش‌دار) مفروش از پروتئین کلاترین جای دارند. با آندوسیتوز حفره‌های پوشش‌دار، LDL متصل به گیرنده به داخل سلول آورده می‌شود و داخل لیزوزوم‌ها جهت رهاسازی کلسترول هیدرولیز می‌گردد. افزایش کلسترول آزاد داخل سلولی، با سرکوب آنزیم ۳- هیدروکسی۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز، تشکیل کلسترول درونزاد را کاهش می‌دهد [۱۶].

با توجه به عدم بررسی ارتباط تغییرات ژنتیکی ژن LDL-R با افزایش چربی خون فامیلی در خانواده‌های ایرانی، هدف پژوهش حاضر بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs۲۲۲۸۶۷۱ در ژن LDLR با افزایش چربی خون فامیلی در خانواده‌های مورد مطالعه جمعیت قند و لیپید تهران (Tehran Lipid and Glucose Study) است.

مواد و روش کار

این تحقیق بر روی جمعیت تحت پوشش مطالعه قند و لیپید تهران انجام گرفته است. مطالعه قند و لیپید تهران مطالعه‌ای طولانی مدت با رویکرد جامعه‌نگر با هدف جلوگیری از بیماریهای غیرواگیر بر روی جمعیت منطقه ۱۳ تهران طراحی شده است. فاز اول مطالعه از سال ۱۳۷۸ شروع و اطلاعات هر سه سال یکبار جمع آوری می‌شود[۱۷،۱۸]. از افراد مراجعه کننده به مراکز بهداشتی توسط معاینات بالینی و پر کردن پرسشنامه استاندارد اطلاعات مبسوطی درباره تاریخچه پزشکی و همچنین داده‌های مربوط به تن‌سنجی، نوار قلب، آزمایشات بیوشیمی خون، فشارخون، نبض، معاینه تیروئید، وضعیت تغذیه‌ای، فعالیت بدنی و مصرف سیگار کسب گردیده است[۱۷]. از تمامی افراد شرکت کننده در این مطالعه رضایت نامه کتبی دریافت شده است و مطالعه از سوی کمیته اخلاق علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید

www.SID.ir
Archive of SID

بهشتی تهران مورد تایید قرار گرفت (کد اخلاق: طرح مصوب ۱۴۷ سال ۲۰۰۴). در مرحله‌ی دوم مطالعه‌ی قند و لیپید تهران، از همه‌ی افراد مراجعه کننده به واحد تحقیقات قند و لیپید واقع در شرق تهران، دو نمونه خون محیطی لخته و حاوی ضد انعقاد EDTA گرفته شد. اطلاعات مربوط به قد، وزن و فشارخون اندازه‌گیری و نمایه‌ی توده‌ی بدن (حاصل تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجذور قد به متر) محاسبه شد [۱۹]. جهت مطالعه‌ی پلی‌مورفیسم LDLR نمونه‌های مورد بررسی از میان افراد تعیین شده در پنج فاز مطالعه قند و لیپید تهران انتخاب شده‌اند. در مرحله آزمایشگاهی از افراد منتخب، میزان ۵ میلی لیتر خون گرفته شد. سرم با ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) جدا سازی و میزان HDL-C (منظور کل کلسترول موجود در HDL است) به روش مستقیم و به روش رسوبی اندازه‌گیری شد (کیت‌های شرکت پارس آزمون) و دستگاه اتوآنالایزر سلکترای۲ مورد استفاده قرار گرفت [۲۰]. تری گلیسیرید (TGS) و کلسترول تام (TC) نیز به روش کالیمتری (کیت‌های شرکت پارس آزمون) مورد اندازه‌گیری قرار گرفت [۲۱]. با استفاده از فرمول فرید والد LDL-C محاسبه گردیدکه این فرمول برای افرادی که TG بیشتر از ۴۰۰ mg/dL دارند مناسب نبود؛ لذا از فرمول‌های دیگر برای محاسبه LDL-C استفاده شد [۲۲]. در این مطالعه افرادی که هر روز یا گاهی سیگار می کشیدند به عنوان افراد سیگاری و افراد با فشارخون سیستولیک بالای ۱۴۰ و دیاستولیک بالای ۹۰ به عنوان افراد با فشار خون بالا در نظر گرفته شدند. همچنین افراد ۱۸ سال و کمتر از آن، با کلسترول تام بالای ۲۵۰ mg/dL و LDL-C بالای ۱۶۰ mg/dL و افراد بزرگتر از ۱۸ سال با کلسترول تام بالای ۳۰۰ mg/dL و LDL-C بالای ۱۹۰ mg/dL به عنوان افرادی که در محدوده "احتمال ابتلاء به افزایش چربی خون فامیلی" هستند تعیین شدند [۲۵-۲۳،۶،۴،۳]. خانواده‌هایی که در آن بیش از دو نفر دارای افزایش چربی خون با شرایط فوق بودند مشخص شدند. سپس با بررسی این خانواده‌ها در نرم‌افزار Progeny وجود یا عدم وجود رابطه فامیلی مورد بررسی قرارگرفت و در آن، خانواده‌هایی که بیش از دو نفر دارای افزایش چربی خون و رابطه فامیلی یا سابقه بیماری قلبی عروقی بودند، به عنوان افرادی با احتمال افزایش چربی خون فامیلی انتخاب شدند. در مرحله آماده سازی نمونه جهت استخراج DNA ژنومی، ابتدا نمونه‌ها توسط Lysis Buffer و بافر PBS شسته، RBCها از محیط حذف شدند. سپس DNA توسط روش استخراج با نمک اشباع شده/پروتئیناز k، خارج و در دمای۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد [۲۶]. پس از بررسی کمی و کیفی DNA استخراجی با اسپکتروفتومتر، بررسی پلی‌مورفیسم با Tetra Primer ARMS-PCR انجام شد. برای انجام واکنش مورد نظر مخلوط واکنش به حجم نهایی ۱۲/۵ میکرولیتر شامل مستر میکس (۶/۲۵µL)، منیزیم مازاد (۰/۰۶µL)، آب، ۰/۳µL جفت پرایمرهای خارجی با توالی‌های

F1: TTAGTTGGCAGGAAATAGACACAGGAAAC
R1: ATTCTCTCCCCACCTCCTAATTCATGAT

۰/۴µL جفت پرایمرهای داخلی با توالی

F2: TCTCTCTCAGTGGGCGACAGTTGT
R2: TTGGCACTGGAACTCGTTTCTATCG

و ۱µL از DNA استخراج شده داخل میکروتیوب‌ها اضافه شد و سپس به دستگاه ترموسایکلر منتقل شدند. شرایط دمای ترموسایکلر پس از بهینه سازی شامل این موارد بود: ۱) مرحله‌ی دناتوراسیون (واسرشت) ابتدایی ۵ دقیقه در دمای۹۵ درجه سانتی‌گراد؛ ۲) مرحله‌ی دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد؛ ۳) مرحله‌ی انیلینگ (اتصال پرایمرها به DNA هدف) ۳۰ ثانیه در دمای ۶۶/۵ درجه سانتی‌گراد؛ ۴) مرحله‌ی Extension (ساخت رشته‌ی مکمل هدف) ۳۰ ثانیه در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد (مراحل دو تا چهار ۳۵ سیکل تکرار شدند)؛ ۵) مرحله‌ی دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد؛ ۶) مرحله‌ی انیلینگ ۳۰ ثانیه در دمای ۶۴/۵ درجه سانتی‌گراد؛ ۷) مرحله‌ی Extension به مدت ۳۰ ثانیه در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد؛ ۸) مرحله‌ی Extension نهایی ۵ دقیقه در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد. یافته‌های PCR به روش الکتروفورز و با مشاهده‌ی باندها روی ژل آگاروز ۲٪ تفسیر شدند. الگوی باندهای حاصل برای ژنوتیپ CC (۱۲۴ bp، ۴۵۹bp)و برای CT (۱۲۴ bp، ۳۸۴ bp، ۴۵۹bp) بود. باندهای حاصل از Tetra Primer ARMS-PCR پلی‌مورفیسم مورد نظر ژن LDLR در شکل ۱ قابل مشاهده است. جهت تجزیه و تحلیل آماری کلیه اطلاعات از نرم افزار SPSS نسخه‌ی۱۶ استفاده شده است. متغیرهای کمی به صورت میانگین (انحراف معیار) و متغیرهای کیفی به صورت درصد بیان شدند. سطح معنی‌داری برابر $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. فراوانی آللی و ژنوتیپی با نرم افزار Power marker نسخه ۳/۲۵ انجام شد. برای بررسی ارتباط بین

www.SID.ir
Archive of SID

پلی‌مورفیسم و بیماری افزایش چربی خون فامیلی از نرم‌افزارهای PROGENY (Progeny.Suite.v7.1.03), FBAT, PLINK استفاده گردید. در برنامه FBAT حداقل یک خانواده و Mode تحلیل دو آللی (bi allelic) در نظرگرفته شد. در PLINK تجزیه و تحلیل ارتباط مبتنی بر خانواده بر روی بیماری افزایش چربی خون فامیلی با آزمون TDT (Transmission Disequilibrium Test) محاسبه شد.

یافته‌ها

درمطالعه‌ی حاضر از میان جمعیت ۱۵۰۰۵ نفری مراجعه کننده به مرکز تحقیقات قند و لیپید واقع درشرق تهران در پنج فاز بر مبنای افزایش چربی خون در خانواده، رابطه فامیلی و سابقه بیماری قلبی و عروقی جمعیت مورد مطالعه انتخاب شدند. دراین مطالعه ۲۲ خانواده (شامل ۲۰۶ نفر که ۴۷ نفر از آنان دچار افزایش چربی خون فامیلی بودند) انتخاب شدند (۱۰۳ مرد و ۱۰۳زن). در جدول ۱ اطلاعات دموگرافی، سابقه پزشکی، معاینات پزشکی و پارامترهای بیوشیمی در کل جمعیت مورد بررسی قرار گرفته است. در جمعیت مورد مطالعه ۸/۷۳ درصد مبتلا به افزایش فشار خون و ۱۲/۰ درصد سیگار مصرف می کردند. بررسی فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها برای پلی‌مورفیسم مورد نظر نشان داد که فراوانی آلل T نسبت به آلل دیگر در جمعیت مورد مطالعه کمتر است. فراوانی آلل مینور T (Minor Allele Frequency) برابر با ۰/۱۰۱۶ محاسبه شد (جدول ۲). همچنین آزمون کای دو (χ^2) به منظور بررسی تفاوت میان گروه مرد و زن استفاده گردید که فراوانی ژنوتیپی برای پلی‌مورفیسم مورد مطالعه، در دو گروه تفاوت معنی‌دار نشان نداد (p=۰/۱۹۴). توزیع آللی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs ۲۲۲۸۶۷۱ در تعادل هاردی-واینبرگ دیده نشد و همچنین فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در جمعیت زنان و مردان تفاوت زیادی نداشت. به منظور بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs ۲۲۲۸۶۷۱ با افزایش چربی خون فامیلی، اطلاعات مربوط به خانواده‌ها به همراه مارکر rs ۲۲۲۸۶۷۱ در برنامه پروژنی بررسی شد. ۴۷ نفر (۱۶ نفر مرد و ۳۱ نفر زن) مبتلا به افزایش چربی خون فامیلی احتمالی تعیین شدند که ۶۳/۲ درصد آنها به بیماری عروق کرونر قلبی، ۳۱/۶ درصد به آنژین ناپایدار صدری و ۵/۳ درصد به بیماری عروق کرونر کشنده قلبی مبتلا بودند (شکل ۲). پس از بررسی الگوی پراکندگی مارکر rs ۲۲۲۸۶۷۱ در هر خانواده و اختصاص دادن یک شماره شناسایی مشخص به هر یک از اعضای خانواده، نتایج توسط نرم‌افزار pedchek جهت بررسی تبعیت نتایج از الگوی مندلی، تحلیل گردید. سپس موارد مشکوک مجددا بررسی گردیدند. پس از حصول اطمینان از درستی نتایج، داده‌ها جهت شناسایی فراوانی آللی بررسی شدند. افراد مورد مطالعه بر مبنای حضور یا عدم حضور افزایش چربی خون فامیلی تعیین گردیده‌اند. افراد بر مبنای میزان حضور افزایش چربی خون فامیلی به دو گروه "مبتلا" و "غیر مبتلا" تقسیم شدند. با بررسی در نرم افزار FBAT (Family Base Association Test) ، مشاهده شد که بین آلل C,T مارکر rs۲۲۲۸۶۷۱ و بیماری افزایش چربی خون فامیلی ارتباط معنی‌دار وجود ندارد (p=۰/۶۵). همچنین بررسی فراوانی آلل‌های C و T در کل جمعیت مورد مطالعه، بیانگر فراوانی آلل C برابر ۹۱/۴ درصد و فراوانی آلل T به میزان ۸/۶ درصد است. علاوه براین ارتباط پلی‌مورفیسم مورد نظر با افزایش چربی خون فامیلی در خانواده‌ها توسط برنامه Plink و بوسیله آزمون TDT مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از plink-tdt نشان داد که ارتباط آلل T پلی‌مورفیسم rs۲۲۲۸۶۷۱ با بیماری افزایش چربی خون فامیلی دارای نسبت شانسی (OR) برابر ۰/۶۶۶۷ با درجه اطمینان (CI) ۹۵٪ است و ارتباط معنی‌دار بین rs۲۲۲۸۶۷۱ و بیماری افزایش چربی خون فامیلی وجود ندارد (P=۰/۷۰۵۵).

جدول۱: دموگرافیک، یافته‌های کلینیکی و بیوشیمیایی در جمعیت مورد مطالعه

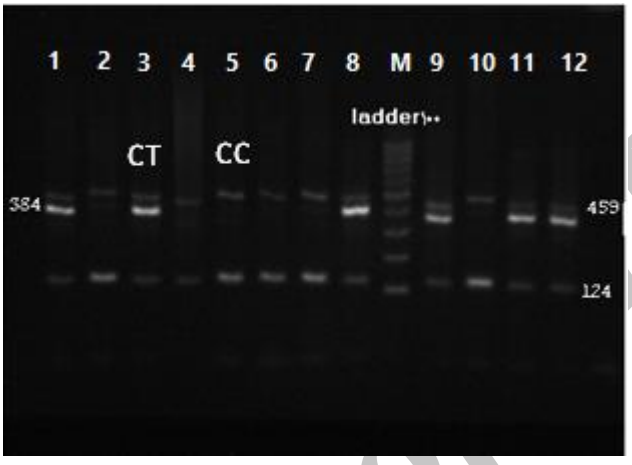
	میانگین (انحراف معیار)
سن (سال)	۴۲/۷۰ (۲۰/۵)
معاینات پزشکی	
فشارخون سیستولیک (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۱۶/۲۴ (۲۰/۳۸)
فشارخون دیاستولیک (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۷۵/۱۷ (۱۱/۹۶)
BMI (کیلوگرم برمترمربع)	۲۶/۷۴ (۴/۹۴)
پارامترهای بیوشیمی	
TC (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۲۶/۹۰ (۵۶/۴۴)
TG (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۸۱/۶۰ (۵۳/۰۳)
LDL-C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۴۵/۶۱±۵۳/۰۳
HDL-C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۶/۷۹ (۱۱/۲۶)

Archive of SID

www.SID.ir

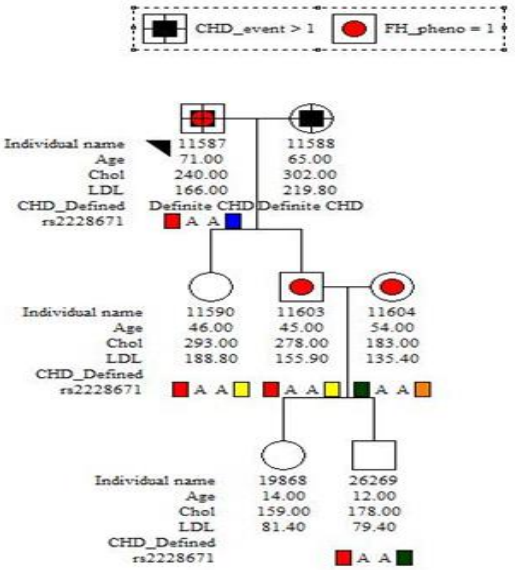
جدول۲: فراوانی آللی و ژنوتیپ در کل جمعیت و به تفکیک جنسیت

rs۲۲۲۸۶۷۱		کل جمعیت درصد (تعداد)	مردان درصد (تعداد)	زنان درصد (تعداد)
آلل	C	۹۴/۹۲ (۲۴۳)	۹۵/۶۸ (۱۱۱)	۹۴/۲۸ (۱۳۲)
	T	۵/۰۷۸ (۱۳)	۴/۳۱ (۵)	۵/۷۸ (۸)
ژنوتیپ	CC	۸۹/۸۴ (۱۱۵)	۹۱/۳۷ (۵۳)	۸۸/۵۷ (۶۲)
	CT	۱۰/۱۵ (۱۳)	۸/۶۲ (۵)	۱۱/۴۲ (۸)



شکل ۱: الکتروفورز آگاروز جهت تعیین ژنوتیپ C/T در افراد مختلف؛ ردیف: ۱، ۳، ۸، ۹، ۱۱، ۱۲ ژنوتیپ CT، ردیف: ۲، ۴، ۵، ۶، ۷، ۱۰ ژنوتیپ CC و ردیف M مارکر DNA (DNA Marker 100bp)

32572



شکل ۲: شجره نامه خانواده مبتلا به افزایش چربی خون فامیلی ،رنگ قرمز نشان دهنده افراد مبتلا به افزایش چربی خون فامیلی و رنگ سیاه افراد مبتلا به CHD می باشد. میزان سن، LDL و کلسترول افراد در فاز ۵ مشخص شده است. ژنوتیپ افراد مارکر شده است

www.SID.ir

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی نقش عوامل ژنتیکی در ابتلا به بیماری افزایش چربی خون فامیلی می‌تواند ما را در درک بهتر پاتولوژی و ساز و کار ایجاد بیماری کمک کند. همین‌طور در زمینه یافتن راههای درمانی موثرتر و روش‌های تشخیصی دقیق‌تر مورد استفاده قرار گیرد. همچنین پلی‌مورفیسم‌های مرتبط با بیماری با تکرار بررسی در جمعیت‌های متفاوت، به عنوان شاخصی برای پیش‌بینی یا شناسایی بیماری تایید می‌گردند. در همین راستا، نتایج این بررسی که از تحقیق ارتباط بین ژن LDLR با افزایش چربی خون فامیلی برای اولین بار در خانواده های تهرانی به دست آمد، حاکی از آن است که ارتباط معنی دار بین آلل C و T پلی مورفیسم rs۲۲۲۸۶۷۱ با بیماری افزایش چربی خون فامیلی وجود ندارد. همچنین بررسی فراوانی آللی و ژنوتیپی نشان داد که در کل جمعیت ۸۹/۸۴ درصد دارای ژنوتیپ CC و ۱۰/۱۵ درصد حامل ژنوتیپ CT بودند. در جمعیت مورد بررسی، ژنوتیپ TT یافت نشد. در کل جمعیت، فراوانی آلل CC برابر ۹۴/۹۲ درصد و فراوانی آلل T حدود ۵/۰۷ درصد بود. تفاوت قابل توجهی بین فراوانی آللی و ژنوتیپی دو گروه مردان و زنان دیده نشد. مقایسه فراوانی آلل T در جمعیت‌های مختلف نشان می‌دهد که فراوانی آلل مزبور در جمعیت آفریقاییهای آمریکایی ۴/۰، ۳/۸؛ در جمعیت اروپایی ۲/۰، ۱/۵؛ در جمعیت‌های چینی ۰/۰، کره‌ای ۰/۵ و ژاپنی ۰/۰، ۰/۶ [۲۷]؛ و در مطالعه حاضر ۵/۰۷۸ بوده اند. در پژوهش حاضر، مشاهده شد که فراوانی آلل T نسبت به آلل دیگر در جمعیت مورد مطالعه کمتر است؛ همچنین نبود افرادی با ژنوتیپ TT در جمعیت مطالعه می تواند بیانگر نقش محافظتی آلل T در مقابل بیماری افزایش چربی خون فامیلی و بیماریهای قلبی و عروقی باشد. طی بررسیهایی که در سایر کشورها انجام شده است آلل T پلی مورفیسم rs۲۲۲۸۶۷۱ باعث کاهش سطوح کلسترول تام و LDL-C می شود که از این طریق می تواند باعث کاهش خطر بیماری عروق کرونر قلب شود.

در سال ۲۰۰۸ تحقیقی در همین زمینه توسط Linsel-Nitschke بر روی ۱۶۴۴ نفر از جمعیت اروپایی انجام گرفت. مشخص شد که آلل T پلی مورفیسم مزبور ژن LDLR به میزان ۰/۱۹ میلی مول/لیتر باعث کاهش LDL-C می شود و حضور آلل T در پلی مورفیسم با کاهش خطر بیماری عروق کرونر رابطه معنی دار را نشان می دهد ($P= ۲/۱\times۱۰^{-۷}$) [۱۰]. همچنین در سال ۲۰۱۰ در کشور ایتالیا مارتین لی و همکاران در مطالعه ای که بر روی ۶۹۲ فرد با بیماری عروق کرونر قلب و ۲۹۱ فرد سالم انجام دادند ژنوتیپ افراد سالم ۷۸٪ :CC, ۲۰/۹٪:CT, ۱/۱٪ :TT و (Carrier vs cc) T گزارش شد اما ژنوتیپ افراد بیمار ۷۹/۴٪ :CC, ۱۹/۳٪ :CT, ۱۹/۳٪ TT حاصل گردید. نتایج مطالعه نشان داد که بین پلی مورفیسم مزبور و بیماری عروق کرونر قلب (CAD) ارتباط معنی دار وجود ندارد (P= ۰/۷۹۷) [۱۳]. در مطالعه ای در سال ۲۰۱۴ بر روی جمعیت اوپایی و چینی مشخص شد که در جمعیت اروپایی حضور پلی مورفیسم مزبور باعث کاهش خطر بیماری عروق قلبی (CHD) می شود (P=۰/۰۰۰۵)؛ ولیکن در جمعیت چینی این ارتباط معنی دار مشاهده نشد (P= ۰/۴۹) [۱۱]. همینطور مطالعه دیگری در سال ۲۰۱۳ توسط جمال الدینی بر روی ۱۷۰ فرد با بیماری عروق کرونر و ۱۰۴ فرد سالم در جمعیت ایرانی انجام گرفت فراوانی ژنوتیپ در افراد سالم ۷۸/۲۲٪ :CC, ۲۱/۷۸٪ :CT و در افراد بیمار ۸۶/۴۷٪ :CC, ۱۳/۵۳٪:CT گزارش شد. در این تحقیق نیز این گونه نتیجه گیری شد که بین بیماری عروق کرونر قلب و پلی مورفیسم rs۲۲۲۸۶۷۱ هیچ رابطه معنی دار وجود ندارد (P=۰/۰۸) [۲۸]. برای حصول اطمینان و رسیدن به نتایج قابل تعمیم به همه جمعیت ایرانی پیشنهاد می‌گردد بررسی‌های بعدی با تعداد افراد بیشتری برای این پلی مورفیسم انجام شود. این مطالعه براساس یافته‌های آزمایشگاهی و تاریخچه فامیلی افراد انجام گرفت بنابراین پیشنهاد می‌شود مطالعه دیگر توام با یافته‌های معاینه بالینی انجام شود. همچنین پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری در زمینه روشن نمودن مکانیسم این نواحی ژنتیکی در بیماری‌زایی و دخالت در ایجاد بیماری‌های قلبی و عروقی انجام شود.

سهم نویسندگان

مریم السادات دانشپور: ایده طرح، مشارکت در نگارش طرح نامه، مشارکت در نظارت بر اجرای طرح، مشارکت در نگارش مقاله

فاطمه نقی زاده: مشارکت در نگارش طرح نامه، اجرای طرح، مشارکت در نگارش مقاله

کامران گیتی: مشارکت در اجرای طرح و نگارش مقاله

بهاره صداقتی خیاط: مشارکت در اجرای طرح و نگارش مقاله

بهزاد لامع راد: مشارکت در نگارش مقاله

احمد ابراهیمی: مشارکت در نگارش مقاله (نتایج)

فریدون عزیزی: ایده طرح، مشارکت در نگارش طرح نامه و مقاله

www.SID.ir
Archive of SID

تشکر و قدردانی

مطالعه حاضر نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد (دانشگاه پیام نور، شهر ری) بود، که توسط پژوهشکده‌ی علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی مورد حمایت قرار گرفته است. در بررسی حاضر از داده‌های افراد شرکت‌کننده در طرح قند و لیپید تهران استفاده شده است. تیم تحقیق بر خود لازم می داند از تمام افراد شرکت‌کننده و کسانی که در طراحی و جمع‌آوری داده‌های مذکور مشارکت داشته‌اند، صمیمانه تقدیر و تشکر نماید.

منابع

1. Livy A, Lye S. H. Familial hypercholesterolemia in Asia: a review. Journal of OMICS Research 2011; 1: 22-31

2. Chater R, Aït Chihab K, Rabès JP, Varret M, Chabraoui L, El Jahiri Y, etal. Mutational heterogeneity in low-density lipoprotein receptor gene related to familial hypercholesterolemia in Morocco. Clinica Chimica Acta. International Journal of Clinical Chemistry 2006; 373: 62-69

3. Goldberg A C, Hopkins P. N, Toth P. P, Ballantyne C. M Rader D. J, Robinson J G, Ito, M. K. Familial hypercholesterolemia: screening, diagnosis and management of pediatric and adult patients: clinical guidance from the National lipid association expert panel on familial hypercholesterolemia. Journal of Clinical Lipidology 2011; 5: 133-140

4. Robinson J. G, Goldberg A. C. Treatment of adults with familial hypercholesterolemia and evidence for treatment: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Journal of clinical lipidology 2011; 5: 18-29

5. Nordestgaard B. G, Chapman M. J, Humphries S. E, Ginsberg H. N, Masana L, Descamps O. S Defesche J. C. Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease. European Heart Journal 2013; 34: 3478-90

6. Hopkins P. N, Toth P. P, Ballantyne C. M, Rader D. J. Familial hypercholesterolemias: prevalence, genetics, diagnosis and screening recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Journal of clinical lipidology 2011; 5: 9-17

7.Austin M. A, Hutter C. M, Zimmern R. L, Humphries S. E. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. American Journal of epidemiology 2004; 160: 407-420

8. Bourbon M, Alves A. C, Medeiros A. M, Silva S, Soutar A. K. Familial hypercholesterolaemia in Portugal. Atherosclerosis 2008; 196: 633-642

9. Oosterveer D. l. M, Versmissen J, Defesche J. C, Sivapalaratnam S, Yazdanpanah M, Mulder, M, Hofman A. Low-density lipoprotein receptor mutations generate synthetic genome-wide associations. European Journal of Human Genetics 2013; 21: 563-566

10. Linsel-Nitschke P, Götz A, Erdmann J, Braenne I, Braund P, Hengstenberg C, Schaefer A. Lifelong reduction of LDL-cholesterol related to a common variant in the LDL-receptor gene decreases the risk of coronary artery disease—a Mendelian Randomisation study. PloS one 2008; 3: 2986

11. Ye H, Zhao Q, Huang Y, Wang L, Liu H, Wang C, Duan S. Meta-analysis of low density lipoprotein receptor (LDLR) rs2228671 polymorphism and coronary heart disease. BioMed Research international 2014

12. Yang X. c, Zhang Q, Li S. j, Wan X. h, Zhong G. z, Hu W. l, Wang X. f. Association study between three polymorphisms and myocardial infarction and ischemic stroke in Chinese Han population. Thrombosis Research 2010; 126: 292-294

13. Martinelli N, Girelli D, Lunghi B, Pinotti M, Marchetti G, Malerba G, Bernardi F. Polymorphisms at LDLR locus may be associated with coronary artery disease through modulation of coagulation factor VIII activity and independently from lipid profile. Blood 2010; 116: 5688-5697

14. Civeira D. C. O, Isabel, Pocov F. The genetic basis of familial hypercholesterolemia: inheritance, linkage, and mutations. The application of Clinical Genetics 2010; 3: 53-64

15. Al-Khateeb A, Zahri M. K, Mohamed M. S, Sasongko T. H, Ibrahim S, Yusof Z, Zilfalil B. A. Analysis of sequence variations in low-density lipoprotein receptor gene among Malaysian patients with familial hypercholesterolemia. BMC Medical Genetics 2011; 12: 40

16. Fahed A.C, Nemer G.M. Familial hypercholesterolemia: the lipids or the genes. Nutrition & Metabolism 2011; 8: 23-23

17. Azizi F, Ghanbarian A, Momenan A. A, Hadaegh F, Mirmiran P, Hedayati M, Zahedi-Asl S. Prevention of non-communicable disease in a population in nutrition transition: Tehran Lipid and Glucose Study phase II. Trials 2009; 10: 1-15

18. Azizi F, Madjid M, Rahmani M, Emami H, Mirmiran P, Hadjipour R. Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS): rationale and design. Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2000; 2: 77-86

www.SID.ir
Archive of SID

19. Azizi F, Rahmani M, Emami H, Mirmiran P, Hajipour R, Madjid M, Salehi P. Cardiovascular risk factors in an Iranian urban population: Tehran lipid and glucose study (phase 1). Sozial-und Präventivmedizin 2002;47: 408-426
20. Hedayati M , Daneshpour MS, Azimzadeh , Ezadi Arbabi. Comparison of precipitation and direct methods for HDL-C assay. Research in Medicine 2007; 31: 289-297
21. Azizi F, Emami H, Salehi P, Ghanbarian A, Mirmiran P, Mirbolooki M. R. Cardiovascular risk factors in the elderly: Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS). Iranian Journal of Endocrinology and Metabolism 2003; 5: 3-13
22. Chen Y, Zhang X, Pan B, Jin X, Yao H, Chen B, Chen H. Short paper A modified formula for calculating low-density lipoprotein cholesterol values. Lipid in Health and Disease 2010; 9: 1-5
23. Daniels S. R, Gidding S. S, de Ferranti S. D. Pediatric aspects of familial hypercholesterolemias: recommendations from the National lipid association expert panel on familial hypercholesterolemia. Journal of Clinical Lipidology 2011; 5: 30-37
24. Ito M. K, McGowan M. P, Moriarty P. M. Management of familial hypercholesterolemias in adult patients: recommendations from the National Lipid Association Expert Panel on Familial Hypercholesterolemia. Journal of Clinical Lipidology 2011; 5: 38-45
25. OBrien E. C, Roe, M. T, Fraulo E. S, Peterson E. D, Ballantyne C. M, Genest J, Hudgins L. C. Rationale and design of the familial hypercholesterolemia foundation CAscade SCreening for Awareness and Detection of Familial Hypercholesterolemia registry. American Heart Journal 2014; 167: 342-349
26. Miller S. A, Dykes D. D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Research 1988; 16: 1215
27. Kim J. H, et al. Direct sequencing for comprehensive screening of LDLR genetic polymorphisms among five ethnic populations. Genes & Genomics 2015; 37: 247-255
28. Jamaldini SH, Babanejad M, Mozaffari R, Nikzat N, Jalalvand K, Badiei A. Association of polymorphisms at LDLR locus with coronary artery disease independently from lipid profile. Acta Medical Iranica 2014;52:352-9

Archive of SID

www.SID.ir

Payesh

Journal of the Iranian Institute for Health Sciences Research

ABSTRACT

Familial hypercholesterolemia in Tehran lipid and glucose study: A cross- sectional study

Fatemeh Naghizadeh mooghari [1], Kamran Guity [2], Bahareh Sedaghatikhayat [2], Behzad Laamerad [1], Fereidoun Azizi [2], Maryam S Daneshpour [2*]

1. Faculty of Basic Sciences, Payam Noor University, Share Rey, I. R. Iran
2. Cellular and Molecular Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Payesh 2016; 6: 653-661
Accepted for publication: 10 May 2016
[EPub a head of print-6 September 2016]

Objective (s): Familial hypercholesterolemia (FH) is one of the most common hereditary disorders in lipid metabolism that is distinguished by high plasma concentrations of low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and cholesterol, can be considered tendon xanthomas and raised risk of premature coronary heart disease (CHD). This study aimed to assess the association between rs2228671 polymorphisms in the LDLR gene with familial hypercholesterolemia in a sample of Tehran Lipid and Glucose Study.
Methods: This was a cross-sectional study in order to examine the association between rs2228671 common polymorphism of LDL-R gene with FH. The study sample consisted of 15005 participants of Tehran Lipid and Glucose Study. Genomic samples of the cases were extracted and the polymorphism of the considered gene was determined by the Tetra Primer ARMS-PCR method. The findings were analyzed by SPSS, FBAT, PLINK, PROGENY and POWER MARKER.
Results: In all 206 cases (in 22 families) were identified. The results showed that there was no significant association between rs2228671 and FH disease (P=0.70). The minor allele frequency of T allele measured was 0.1016. No individuals carrying TT genotype were found in this population.
Conclusion: The findings indicated that cases with rs2228671 polymorphisms had lesser minor allele frequency compared with other alleles. It seems that the absence of TT genotype can indicate protective role of T allele against familial hypercholesterolemia and cardiovascular diseases.

Key Words: familial hypercholesterolemia, polymorphism rs2228671, LDLR, TLGS

[*] Corresponding author: Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Tel: 22432569
E-mail: daneshpour@sbmu.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir