مجله علمی سازمان نظام پزشکی جمهوری اسلامی ایران، دوره ۲۵، شماره ۲، تابستان ۱۳۸٦: ۱٤۱-۱۳۲

● مقاله تحقیقی

بررسی ارتباط بین چند شکلی‌های ژن apoA-I و سطح پروفایل لیپیدی و دیابت نوع ۲ در جمعیت ایرانی

افسانه بشارتی[۱]
دکتر سیدمحمد اکرمی[۲]*
دکتر رامین حشمت[۳]
دکتر پریچهر یغمایی[۴]
بهروز علیرضاپور[۵]

۱. کارشناس ارشد سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۲. استادیار ژنتیک، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۳. اپیدمیولوژیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران
٤. استادیار فیزیولوژی جانوری، دانشگاه آزاد اسلامی
۵. دانشجوی دکتری بیوشیمی بالینی، دانشگاه تربیت مدرس

* نشانی نویسنده مسئول: تهران، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه ژنتیک پزشکی، کد پستی ۱۳۱۵۱-۱٤۱۷٦، تلفکس: ۸۸۹۵۳۰۰۵
پست الکترونیک: akramism@tums.ac.ir

چکیده

زمینه: اختلال لیپیدی و دیابت نوع ۲ بیماری‌های متابولیک شایع و پیچیده با اساس ژنتیکی قوی هستند. ژن‌های کاندید زیادی برای فنوتیپ‌های مرتبط با آنها شناخته شده‌اند. بررسی عوامل ژنتیکی مؤثر بر این بیماری‌ها از ضرورت ویژه برخوردار می‌باشد. apoA-I پروتئین اصلی تشکیل دهنده ذرات HDL است. ارتباط بین دو پلی‌مورفیسم apoA-I (G-75A, C83T) و سطح HDL در مطالعات جمعیت‌ها، نتایج متفاوتی را نشان می‌دهد. مطالعه حاضر برای بررسی این وضعیت در جمعیت ایرانی انجام شد.

روش کار: تعداد ۲۱۵ نفر داوطلب طی یک مطالعه مقطعی در جمعیت منطقه هفده شهرداری تهران به صورت تصادفی انتخاب و از نمونه خون آنها، استخراج DNA صورت گرفت. آلل‌های این پلی‌مورفیسم از طریق PCR (Polymerase Chain Reaction) و سپس RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) مشخص گردید.

یافته‌ها: از نظر آماری در جمعیت ایرانی مورد بررسی، ارتباط واضحی بین پلی‌مورفیسم G-75A و بروز دیابت تیپ ۲ مشاهده نشد. در همین پلی‌مورفیسم در افراد غیردیابتی با اختلال لیپیدی ژنوتیپ GA/AA، اثر محافظتی در برابر دیس لیپیدمی داشت (P = ۰/۰۲۸ ، OR=۰/٤۲۳ ٪۹۵ CI=۰/۱۹۵ -۰/۹۱۸). همچنین بین پلی‌مورفیسم AA با افزایش سطح TG و بین پلی‌مورفیسم GA با افزایش اسیداوریک ارتباط واضح آماری مشاهده شد (P <۰/۰۵). در پلی‌مورفیسم C+83T ژن apoA-I، همراهی ژنوتیپ CT با استعداد بیماری دیابت دیده شد (P =۰/۰۲۸ ،OR=۳/٦۹٤ ٪۹۵ CI=۱/۰۷٦ -۱۲/٦۹۰).

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان می‌دهد که ژن apoA-I را می‌توان به عنوان هدفی برای مطالعات اتیولوژیک بیشتر و درمان اختلال لیپیدی و متابولیکی در نظر گرفت.

واژگان کلیدی: دیابت، اختلال لیپیدی، پلی‌مورفیسم، apoA-I

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۵/۱۲/۵ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۳۸٦/۲/۲۷ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸٦/۷/۱٤

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

در حال حاضر تقریباً ۵۰٪ از مرگ‌ومیرها در جوامع صنعتی غربی و کشورهای در حال توسعه، از عوارض بیماری‌های قلبی- عروقی ناشی می‌شود و سالیانه مبالغ بسیار هنگفتی صرف درمان و نگهداری مبتلایان به این بیماری می‌گردد. اختلال لیپیدی، چاقی و عدم فعالیت فیزیکی از عوامل خطر بیماری‌های قلبی- عروقی بوده و باعث بیماری آترواسکلروز شده است [۱].

بیماری آترواسکلروز بیماریی است که در آن ذرات چربی (پلاک) به تدریج در داخل شریان‌های قلبی رسوب می‌کند. این ذرات باعث می‌شوند تا میزان جریان خون در این عروق کاهش یابد یا قطع شود. هنگامی که این تنگی در شریان‌های کرونری صورت گیرد، میزان اکسیژن لازم برای حفظ ضربان قلب کم شده و منجر به درد قفسه سینه (آنژین) یا یک حمله قلبی می‌گردد. آترواسکلروز اغلب به طور واضح با بالا رفتن سطح LDL کلسترول و کاهش HDL کلسترول همراه است [۲].

تعدادی از بیماران دیابت نوع ۲ میزان بالاتری از فشارخون بالا، گلوکز، انسولین و تری‌گلیسرید را داشته و از میزان پایینی از HDL کلسترول برخوردار هستند [۳]. آپولیپوپروتئین‌هایی که درآزمایشگاه‌های بالینی مورد بررسی قرار گرفته‌اند، آپولیپوپروتئین‌های apoc-II, apo E, apoA-I, apoB, apoA-II, apoA-I می‌باشند. apoA-I پروتئین اصلی تشکیل دهنده HDL-C است و در انتقال معکوس کلسترول نقش دارد [۴].

مطالعات اپیدمیولوژیک و تجربی بسیاری که در دو دهه اخیر انجام شده است کمتر شکی در خصوص نقش مستعدکننده LDL-C و نقش محافظت‌کننده HDL-C را باقی می‌گذارد؛ لیکن هنوز فاکتورهای خطر عمده تصلب عروق تغذیه کننده قلب، یعنی مصرف سیگار، فشارخون بالا، افزایش چربی خون و دیابت، توجیه کننده ابتلا تمام بیماران قلبی عروقی نمی‌باشد. به طوری که تعداد قابل توجهی از بیماران علی‌رغم دارا بودن LDL-C بالا به مدت طولانی، هیچ‌گونه گرفتگی در عروق تغذیه کننده قلب ندارند. بنابراین ارتباط میان HDL-C و LDL-C با آترواسکلروز از آنچه که قبلاً مطالعات نشان می‌دادند، پیچیده‌تر به نظر می‌رسد. این اختلال مانند بسیاری از بیماری‌ها دارای دو جنبه وراثتی و محیطی است. وجود جنبه وراثتی این بیماران باعث شده است تا پژوهشگران درصدد تشخیص زودرس و پیش از علائم بیماری در کودکی برآیند. به این طریق سعی می‌شود با تغییر شرایط زندگی تا حد ممکن از بروز این گونه بیماری‌ها جلوگیری و یا عوارض آن را به حداقل رسانند [۵].

مطالعات بسیاری ارتباط معکوس سطح apoA-I و HDL را با بیماری‌های قلبی عروقی نشان داده‌اند. لیکن ارتباط چندشکلی‌های این ژن با پروفایل لیپیدی کمتر بررسی شده است. چندین واریانت ژنتیکی apoA-I شناسائی شده‌اند که اجازه شناسائی روابط ساختمانی و عملکردی در پروتئین را می‌دهند [۶].

یک واریانت شایع با تغییر G به A در موقعیت ۷۵- پروموتر ژن apoA-I با فراوانی ۰/۱۸ در جمعیت قفقازی گزارش شده که ارتباط بین آلل A با HDL – کلسترول بالا دیده شد. مطالعات in vivo و in vitro پیشنهاد می‌کند که آلل A-۷۵ بیان ژن apoA-I را افزایش می‌دهد و از این رو منجر به افزایش غلظت apoA-I پلاسما و HDL-کلسترول می‌شود. اما همه یافته‌ها در مطالعات مختلف با هم سازگار نبوده‌اند [۷].

یک محل پلی‌مورفیک دیگر در اولین اینترون ژن apoA-I شناسائی شده است که در آن دو جابجائی متوالی[1] در موقعیت bp ۸۳+ (C به T) وbp ۸۴+ (G به A) با هم یا به طور مستقل روی می‌دهد [۸]. مطالعات نشان داده‌اند که این جابجائی‌ها با افزایش HDL_کلسترول در قفقازی‌ها مرتبط شده است. فراوانی جابجائیbp ۸۳+ در جمعیت قفقازی سالم از موقعیت bp ۷۵- کمتر می‌باشد [۹]. هر دو این پلی‌مورفیسم‌ها،

1 - Consecutive

Archive of SID

www.SID.ir

با آنزیم محدود کننده MspI قابل شناسایی هستند. برخی مطالعات اثر هر دو پلی‌مورفیسم MspI را روی لیپید پلاسما در بیماران دیابت نوع دو، گزارش کرده‌اند [۳].

در مطالعه جمعیت فنلاندی، رابطه بین پلی‌مورفیسم‌های MspI و سطح HDL منحصر به افراد سالم بوده و اثر اختصاصی جنس را نشان داد. آنها اولین گزارش از ارتباط پلی‌مورفیسم T+۸۳C و اندیکس چاقی را ارائه نمودند و از رابطه نزدیک بین هیپرلیپیدمی و چاقی که قبلاً توصیف شده بود، حمایت کردند. نتایج این مطالعه نشان داد ژنوتیپ AA –۷۵ با سطح بالاتر HDL در افراد سالم، و نه دیابتی، مرتبط می‌باشد [۱۰].

برای روشن ساختن نقش پلی‌مورفیسم‌های ژن apoA-I و ارتباط آن با HDLو پروفایل لیپیدی در جمعیت ایران، این مطالعه ضروری به نظر رسید. بر اساس اطلاعات ما، مطالعات مشابه در جمعیت ایرانی انجام نشده است.

روش کار

برای انجام این مطالعه، از جمعیت مورد مطالعه در طرح MONICA ایران در سال ۱۳۸۳ و ۱۳۸۴ استفاده شده است. مطالعه MONICA طبق الگوی پروژه مونیکای سازمان بهداشت جهانی در منطقه ۱۷ شهرداری تهران جهت بررسی شیوع عوامل خطرساز بیماری‌های قلبی عروقی در افراد ۲۵ تا ۶۴ ساله داوطلب، انجام شد. مطالعه مذکور از نوع مورد / شاهدی بود که بر روی ۱۵۷۳ فرد (۶۱۵ نفر مرد و ۹۵۸ نفر زن) در ۱۱۵ خوشه تصادفی انتخاب شده، انجام گردید. منطقه ۱۷ از نظر ویژگی‌های ترکیب جمعیتی و وضعیت دموگرافیک، به عنوان منطقه هدف مطالعات جمعیتی دانشگاه علوم پزشکی تهران انتخاب شده است [۱۱]. انتخاب خوشه‌ها طبق سرشماری نفوس و مسکن سال ۱۳۵۷ و با مشاوره مرکز آمار ایران انجام گردیده است. عملیات میدانی جمع‌آوری داده‌ها با همکاری ۱۰ نفر کارشناس علوم اجتماعی گرایش مردم‌شناسی و ۱۰ نفر از پرستاران آموزش دیده، تحت نظارت کارشناس مرکز آمار ایران به مدت ۶ ماه در منطقه ۱۷ شهر تهران انجام شده است.

معیارهای خروج از مطالعه، ابتلا به بیماری‌های سیستمیک مزمن نظیر بیماری‌های قلب و عروق، نارسایی کلیه و کبد، بیماری‌های غدد درون‌ریز و تیروئید، بیماری‌های پرولیفراتیو، بعضی از حالت‌های فیزیولوژیک نظیر حاملگی و مصرف بعضی از داروها مانند مکمل‌های غذایی، داروهای ضدصرع و ضدسرطان در نظر گرفته شده بود. کلیه افراد از روز قبل از اندازه‌گیری فشارخون و خون‌گیری، نسبت به محتوای تحقیق و رعایت موارد توصیه شده از جمله مدت زمان ناشتا بودن، توجیه شده بودند.

از تمامی شرکت‌کنندگان رضایت‌نامه کتبی گرفته شد و نمونه‌خون ناشتای آنها اخذ و فشار خون سیستولیک و دیاستولیک و اندازه دور کمر و باسن اندازه‌گیری و W/H Ratio[1] محاسبه شد. آزمایش‌های بیوشیمی مربوط به کلسترول، TG، HDL، FBS در آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. نمونه خون کامل در لوله‌های حاوی EDTA جهت بررسی‌های بعدی جمع‌آوری شد.

در این مطالعه افراد مورد بررسی به ۴ گروه غیردیابتی بدون اختلال لیپیدی، غیردیابتی با اختلال لیپیدی، دیابتی بدون اختلال لیپیدی و دیابتی با اختلال لیپیدی تقسیم شدند. دیابت بر اساس FBS≥۱۲۶mg/dl و یا نمونه خون تصادفی بیشتر از ۲۰۰ mg/dl تعریف شد. اختلال لیپیدی بدین ترتیب تعریف شد: کلسترول بیشتراز ۲۰۰mg/dl، TG بیشتر از ۱۵۰mg/dl، HDL در زنان کمتر از ۵۰mg/dl و در مردان کمتر از ۴۰mg/dl.

مطالعه مولکولی وابستگی[2] حاضر طی دوره آبان ۱۳۸۴ تا شهریور ۱۳۸۵ در آزمایشگاه ژنتیک مرکز تحقیقات غدد دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد.

1- Waist-Hip
2- Association study

Archive of SID
www.SID.ir

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ به وسیله PCR-RFLP

استخراج DNA از خون کامل به روش نمک اشباع NaCl ۵ مولار انجام گردید. ابتدا نمونه‌های DNA با واکنش PCR افزایش یافته و سپس روی محصولات آن RFLP انجام شد. توالی پرایمرهای Forward و Reverse به ترتیب شامل: 5´-AGG GAC AGA GCT GAT CCT TGA ACT CTT AAG-3´ و 5´- TTA GGG GAC ACC TAG CCC TCA GGA AGA GCA-3´ بودند [۳].

ترکیب مواد برای واکنش PCR حاوی DNA ژنومی (۱۰۰–۲۰۰ ng)، بافر ۱۰ x PCR (۲ µl)، جفت پرایمر (۰/۴ µM)، dNTP (۰/۲ mmol/L)، کلرید منیزیم (۱/۵ mmol/L)، Taq پلی‌مراز (۱/۲۵ IU) (Fermentase) و ۱۲ µl آب بود.

ابتدا DNA ژنومیک به مدت ۴ دقیقه در حرارت 94^{oC} دناتوره و سپس ۳۵ سیکل PCR انجام شد که هر سیکل شامل ۱ دقیقه حرارت 94^{oC} برای دناتوراسیون، ۱ دقیقه حرارت 58^{oC} برای ملحق شدن و ۲ دقیقه حرارت 72^{oC} برای تکثیر DNA بود. در نهایت به مدت ۵ دقیقه برای تکثیر نهایی در حرارت 72^{oC} قرار داده شد. محصول PCR روی ژل آگاروز ۲٪ با وجود باند ۴۳۳bp مشاهده شد. سپس ۵ میکرولیتر از محصول PCR با ۳ میکرولیتر آب، ۱ µl آنزیم MspI (Fermentase) ۱۰ u/µl و ۱ µl بافر مخلوط و برای یک شب در انکوباتور در حرارت 37^{oC} قرار گرفت. اجزای هضم شده روی ژل آگاروز ۴٪ الکتروفورز شد. محصولات PCR هضم شده طول‌های ۲۵۴، ۲۰۹، ۱۷۹، ۱۱۳، ۶۶ و ۴۵ bp دارند. اگر نمونه‌ها در ژل آگاروز حاوی قطعات ۲۰۹، ۱۷۹، ۴۵ bp بودند نشانه وجود ژنوتیپ AA/CC، اگر حاوی قطعات ۲۰۹، ۱۱۳، ۶۶، ۴۵ bp بودند نشانه وجود ژنوتیپ GG/CC و قطعات ۲۰۹، ۱۷۹، ۱۱۳، ۶۶، ۴۵ نشانه ژنوتیپ GA/CC، قطعات ۲۵۴، ۲۰۹، ۱۷۹، ۱۱۳، ۶۶، ۴۵ bp نشانه ژنوتیپ GA/CT و قطعات ۲۵۴، ۲۰۹، ۱۱۳، ۶۶، ۴۵ bp نشانه ژنوتیپ GG/CT بود. نتایج ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌های G-75A و C+83T apoA-I با متد PCR-RFLP در شکل نشان داده شده است.

نحوه تجزیه و تحلیل داده‌ها

یافته‌های حاصل از آزمایش‌های مربوط به انجام PCR و تشخیص پلی‌مورفیسم مربوطه با استفاده از نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفته و سایر نتایج حاصل از مطالعه فوق نیز از بانک اطلاعات اصلی به این داده‌ها اضافه گردید. مقایسه میانگین متغیرهای بیوشیمیایی نمونه‌ها براساس ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم ۷۵- و با در نظر گرفتن توزیع آن‌ها با استفاده از آزمون ANOVA صورت گرفت و در موارد مقایسه‌های دوگانه از روش Bonferroni استفاده شد. در مورد ژنوتیپ‌های ۸۳+ به دلیل نبود نمونه کافی در هر زیرگروه نتایج فقط به صورت توصیفی بیان شد. برآوردهای مربوط به نسبت شانس و فاصله اطمینان آن با توجه به آنالیزهای خوشه‌ای طرح اصلی مونیکا و وجود اثر خوشه ناچیز در آن محاسبات، به صورت ساده و بدون لحاظ نمودن اثر خوشه انجام پذیرفت. سطح معنی‌دار ۰/۰۵ ، با ارزش تلقی گردید.

نتایج

به منظور اختصار فقط اطلاعات گروه‌های با نتایج آماری مهم در اینجا ذکر می‌شوند.

چند شکلی G-75A

گروه افراد غیردیابتی با اختلال لیپیدی دارای ۷۳ نمونه می‌باشد که از این تعداد، ۲۸ نفر مرد (۳۸/۴٪)و ۴۵ نفر زن (۶۱/۶٪)با میانگین سنی ۳۹/۱۵ سال بوده‌اند. ۵۹ نفر (۸۰/۸٪) دارای ژنوتیپ GG، ۱۱نفر (۱۵/۱٪) دارای ژنوتیپ GA، ۳ نفر (۴/۱٪) دارای ژنوتیپ AA بودند. این افراد دیابتی نبودند.

همان طور که در جدول ۱ مشخص است بین متغیرهای مختلف در

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- مشخصات بالینی و آزمایشگاهی گروه غیردیابتی با اختلال لیپیدی با توجه به ژنوتیپ G-75A

عامل خطر	ژنوتیپ -75 AA n=۳	-75 GA n=۱۱	-75 GG n=۵۹	P. Value
جنس مذکر	٪۳۳/۳	٪۵۴/۵	٪۳۵/۶	۰/۴۸۶
سن	۴۷/۶±۲۰/۲	۳۴/۶±۵/۶	۳۹/۵±۱۲/۳	۰/۲۱۲
کلسترول (mg/dl)	۱۹۶/۳±۶۰/۳	۲۱۰/۱±۴۵/۳	۲۰۳/۳±۵۰	۰/۸۸۲
HDL (mg/dl)	۵۵/۶±۲۲/۶	۶۳/۲±۲۰/۴	۶۱/۴±۲۰/۱	۰/۸۴۷
تری گلیسرید (mg/dl)	۳۰۴/۶±۲۰۶	۱۷۹±۴۵/۷	۱۶۳/۶±۸۹/۳	*۰/۰۳۵
اسید اوریک(mg/dl)	۵/۱±۲/۱	۷/۲±۷۶	۳/۶±۰/۹	*۰/۰۵۰
قند خون ناشتا(mg/dl)	۶۸/۳±۷/۳	۷۴/۱±۸/۲	۷۸/۸±۱۱/۸	۰/۱۶۲
متوسط فشار خون سیستولیک(mmHg)	۱۵۱/۶±۴۶/۴	۱۲۰/۴±۱۰/۸	۱۲۷/۳±۲۴/۱	۰/۱۳۷
متوسط فشار خون دیاستولیک(mmHg)	۹۱/۶±۱۲/۵	۷۹/۳±۵/۲	۸۳/۲±۱۵/۵	۰/۴۰۷
نمایه توده بدنی (Kg/m2)	۲۷±۲/۸	۲۶/۹±۴	۲۵/۸±۵/۱	۰/۷۵۷
WHR	۰/۸±۰/۰۸	۰/۸±۰/۰۵	۰/۸±۰/۰۸	۰/۵۶۰
دور کمر (cm)	۸۵±۶/۲	۸۹/۱±۱۲/۷	۸۶/۸±۱۳/۷	۰/۸۳۷

* در مورد تری‌گلیسرید و اسیداوریک بین گروه‌ها اختلاف معنی‌دار مشاهده شد.

در مورد تری‌گلیسرید با تصحیح خطای نوع اول (α) در مقایسه دوتایی پلی‌مورفیسم با روش Bonferroni اختلاف مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های AA و GG معنی‌دار بود (P=۰/۰۳).

در مورد اسید اوریک با تصحیح خطای نوع اول (α)در مقایسه دوتایی پلی‌مورفیسم با روش Bonferroni اختلاف مشاهده شده بین ژنوتیپ‌های GA و GG معنی‌دار بود (P=۰/۰۴۵).

پلی‌مورفیسم‌های G/A اختلاف معنی‌داری (به جز در مورد تری‌گلیسرید و اسیداوریک) مشاهده نگردید.

توزیع آللها و ژنوتیپ‌ها برای پلی‌مورفیسم ۷۵- در گروه نرمال غیردیابتی، در افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک مقایسه شد. فراوانی ژنوتیپی در گروه نرمال مابین گروه دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک دارای تفاوت معنی‌دار بود (P=۰/۰۲۸ ،OR=۰/۴۲۳ ،CI=۰/۱۹۵-۰/۹۱۸). فراوانی آللی نیز در گروه نرمال مابین گروه دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک دارای تفاوت معنی‌دار بود (CI=۰/۲۶۶-۰/۹۹۸، OR=۰/۶۲۵ ،P=۰/۰۴۵).

توزیع آللها و ژنوتیپ‌ها برای پلی‌مورفیسم۷۵- درافراد دیابتی و غیردیابتی مقایسه شد. فراوانی ژنوتیپی در دو گروه دیابتی و غیردیابتی تفاوت معنی‌داری نداشت (P=۰/۵۰۴،OR=۱/۲۲۹ ،CI=۰/۶۷۱-۲/۲۴۹).

مقایسه فراوانی ژنوتیپ پلی‌مورفیسم ۷۵- این ژن در افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک در گروه دیابتی (DM) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P=۰/۰۶ ،OR=۰/۹۹۷ ،CI=۰/۷۲۸-۲/۳۵۴).

چند شکلی C+83T

توزیع آللها و ژنوتیپ‌ها برای پلی‌مورفیسم۸۳+ ژن apoA-I در گروه نرمال بین افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک مقایسه شد. همانطور که در جدول ۲ مشخص است هیچ تفاوت معنی‌داری برای فراوانی ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم بین افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک در گروه نرمال غیردیابتی مشاهده نگردید (CI=۰/۰۲۹-۲/۷۸۵، P=۰/۲۶۲ ،OR=۰/۲۸۲).

توزیع آللها و ژنوتیپ‌ها برای

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- مشخصات بالینی و آزمایشگاهی گروه غیردیابتی با اختلال لیپیدی با توجه به ژنوتیپ C+83T

عامل خطر	ژنوتیپ +83 CC n=۷۲	+83 CT n=۱
جنس مذکر	٪۳۷/۵	٪۱۰۰
سن	۳۸/۸±۱۱/۸	٦۲
کلسترول (mg/dl)	۲۰۳/۱±٤۸/۷	۲۷۳
HDL (mg/dl)	٦۱±۱۹/۹	۹۰
تری گلیسرید (mg/dl)	۱۷۱/۳±۹۳/۸	۲۰۷
اسید اوریک (mg/dl)	۷/۳±۲۹/۸	٤/٤
قند خون ناشتا (mg/dl)	۷۷/٦±۱۱/٤	۸۵
متوسط فشار خون سیستولیک (mmHg)	۱۲۷/۳±۲٤/۲۱	۱۲۲/۵
متوسط فشار خون دیاستولیک (mmHg)	۸۳±۱٤/٤	۷۷/۵
نمایه توده بدنی (Kg/m2)	۲٦/۱±٤/۹	۲۵/٤
WHR	۰/۸±۰/۰۷	۰/۹
دور کمر (cm)	۸٦/۹±۱۳/۲	۱۰۰

پلی‌مورفیسم ۸۳+ این ژن در افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک در گروه دیابتی نیز مقایسه شد. تفاوت معنی‌داری برای فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم بین افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک در گروه دیابتی یافت نشد (CI=۰/۰۵۹–۱/۱۷۷، OR=۰/۲۶۳، P=۰/۰۶۶).

توزیع آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها برای این پلی‌مورفیسم در افراد دیابتی و غیردیابتی مقایسه شد. فراوانی ژنوتیپی در دو گروه دیابتی و غیردیابتی تفاوت معنی‌دار داشت (CI=۱/۰۷۶–۱۲/۶۹۰، OR=۳/۶۹۴، P=۰/۰۲۸).

فراوانی آللی نیز در دو گروه دیابتی و غیردیابتی تفاوت معنی‌دار داشت (CI=۱/۰۵۲–۱۱/۹۹۲، OR=۳/۵۵۳، P=۰/۰۳۰).

بحث

اختلالات قلبی عروقی و تصلب شرائین، بار سنگینی را بر اقتصاد خانواده و نظام سلامت وارد می‌نمایند. در این راستا به طور ویژه‌ای بر مکانیسم‌های مولکولی ایجادکننده این اختلالات توجه شده است. مطالعات وابستگی در این راه ابزاری مناسب می‌باشند که در جمعیت‌های گوناگون برای بررسی چند شکلی ژن‌های کاندید در این موارد، آنالیز شده‌اند.

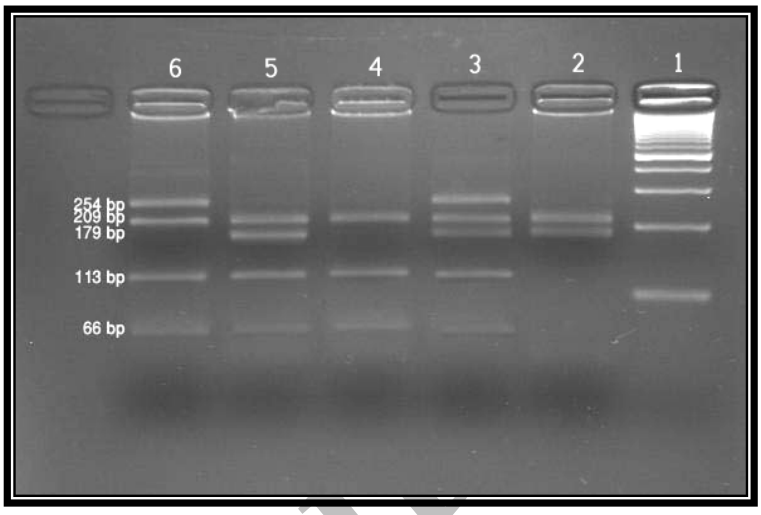
در این خصوص، مطالعات متعددی روی چند شکلی‌های ژن apoA-I انجام شده است به طوری که در آخرین جستجوی PubMed در بهمن ۱۳۸۵، ۳۵۲ مقاله بدست آمد. مطالعات در نژادهای مختلف نتایج متفاوتی را نشان می‌دهد که در مطالعات وابستگی این امر معمول است. دو ناحیه چند شکلی در ابتدای ژنapoA-I بیشتر کانون توجه بوده‌اند: ۷۵- در ناحیه پروموتور و ۸۳+ در اینترون اول.

در مطالعه منگ[1] و همکاران، فقط چند شکلی ۷۵- و تأثیر آن بر سطح پروفایل لیپیدی و نقش تغییرات رژیم غذایی در جمعیت فنلاندی بررسی شده بود. داشتن آلل A در مردان و نه زنان منجر به افزایش سطح HDL و apoA-I و کاهش TG گردید [۱۰]. همچنین در مطالعه ما[2] و

1 - Meng
2 - Ma

Archive of SID

www.SID.ir



شکل – RFLP ژنوتیپ های G-75A و C+83T ژن apoA-I . ستون ۱ DNA Size (Fermentase) marker (100bp)، ۲– AA/CC، ۳– GA/CT، ٤– GG/CC، ٥– GA/CC، ٦– GG/CT و ستون آخر: کنترل منفی PCR.

همکاران، داشتن ژنوتیپ AA۷۵–، باعث افزایش سطح HDL در گروه کنترل و نه در گروه دیابتی گردید [۱۴]. در یک نگاه، به نظر می‌رسد که افزایش HDL در افراد نرمال با ژنوتیپ AA در مطالعه ما نیز وجود داشته باشد؛ لیکن این افزایش از نظر آماری بارز نبود (p=۰/۳۴۷) که به دلیل توان اندک مطالعه نمی‌توان به طور کامل در مورد آن قضاوت نمود.

مطالعه عملکردی[1] چند شکلی‌های این ژن نشان داد که آلل A می‌تواند نسخه برداری این ژن را افزایش دهد. این فرضیه توسط برخی مطالعات هم در بدن موجود زنده و هم در لوله آزمایش، تأیید شد. ویلسون و همکاران در سال۱۹۹۴در مطالعات in vivo و in vitro این مورد را اشاره کردند [۷]. در مطالعه حاضر، آلل A با تمایلی در افزایش HDL کلسترول سرم همراه است؛ هر چند که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نگردید. به عبارت دیگر، جانشینی A با افزایش نسخه‌برداری این ژن در ارتباط است و لذا با افزایش سطح apoA-I پلاسما و غلظت کلسترول HDL در ارتباط می‌باشد [۱۵]. مطالعات ما با این گزارشات البته در افراد نرمال و نه دیابتی مطابقت دارد. در مطالعه پولکینن[2] و همکاران در نژاد قفقازی فنلاند، مشخص گردید که چند شکلی ۸۳+ با افزایش سطح HDL در گروه نرمال و نه در گروه دیابتی همراه می‌باشد [۳].

در مطالعه ما پلی‌مورفیسم ۸۳+ بین دو گروه دیابتی و غیردیابتی اختلاف معنی‌داری نشان داد. بدین ترتیب که در جمعیت مورد بررسی ما مشابه سایر مطالعات، ژنوتیپ TT وجود نداشت و لذا ژنوتیپ CT مستعد کننده افراد به دیابت نوع دو است (OR=۳/۶۹۴). در این ارتباط آلل T مستعد کننده افراد به سمت دیابت می‌باشد (P=۰/۰۳). اما در این خصوص در ناحیه ۷۵– اختلاف معنی‌داری بین افراد دیابتی و غیردیابتی مشاهده نشد (p=۰/ ۰۵).

در پلی‌مورفیسم ۷۵– در گروه غیردیابتی مقایسه‌ای بین افراد دیس‌لیپیدمیک و غیردیس‌لیپیدمیک انجام شد و مشخص گردید که ژنوتیپ AA/GA اثر محافظت‌کنندگی در برابر دیس لیپیدمی دارد (P=۰/۰۲۸)، همین اثر در آلل A نیز مشاهده گردید (P=۰/۰۴۵).

در مطالعه ما در افراد غیردیابتی با اختلال لیپیدی، بین سطح سرمی اسیداوریک و TG با ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت که در این مقایسه ژنوتیپ AA بیشترین مقدار بود که نشان می‌دهد AA دارای اثر محافظت‌کنندگی در برابر افزایش TG است (P=۰/۰۳). ژنوتیپ GA نیز دارای اثر محافظت‌کنندگی در برابر اسیداوریک است (P=۰/۰۴۵).

مطالعه حال حاضر، اطلاعاتی در ارتباط

1 - Functional Study

2 - Pulkkinen

Archive of SID
www.SID.ir

با مکانیسم‌های موجود ایجاد کننده این یافته‌ها را ارائه نمی‌دهد و بایستی با مطالعات عملکردی و تکرار بررسی در جمعیت‌های بزرگتر با حجم نمونه کافی در هر زیر گروه و با تعداد مناسب از هر ژنوتیپ همراه گردد. این مکانیسم‌ها به تغییرات کوچک مربوط به چند شکلی‌ها، ارتباط پیدا می‌کنند و این تغییرات تأثیراتی متفاوتی در سلامت و بیماری انسان دارند. این تغییرات کوچک در مکان‌های SNP رخ می‌دهند، تغییر اصلی در ۷۵bp- با نسخه‌برداری apoA-I در ارتباط است و امکان دارد که تغییر اصلی در ۸۳bp+، نسخه‌برداری را تغییر دهد. حدس ارتباط بین آنها و نسخه‌برداری این ژن نیازمند مدل تجربی مناسبی می‌باشد که قادر به تشخیص این مورد باشد که آیا این چند شکلی‌ها مسئول تغییرات اساسی می‌باشند یا خیر؟ [۱۴].

یافته مهم دیگر در تحقیقات به تفاوت‌های جنسی مربوط می‌شود که یک اثر هورمونی را پیشنهاد می‌کند. هورمون‌های تیروئید، گلوکوکورتیکوئیدها و استرادیول، فعالیت ژن apoA-I را افزایش می‌دهند، در حالی که اسیدرتینوئیک و آندروژن فعالیت آن را کاهش می‌دهند. به ویژه تنظیم این ژن توسط استروژن ممکن است براساس هدف فرق کند که نه تنها به حضور گیرنده α- استروژن و β-۱۷ استرادیول بستگی دارد بلکه به تعادل خارج سلولی گیرنده α- استروژن و فعال کننده‌های مورد استفاده قرار گرفته توسط گیرنده α- استروژن و افزایش دهنده apoA-I نیز بستگی دارد [۱۷]. اما در مطالعه ما رابطه معنی‌داری بین جنس و پلی‌مورفیسم‌های این ژن مشاهده نگردید که البته از توان لازم به دلیل حجم نمونه کم در هر گروه جنسی برای رد این فرضیه برخوردار نبود.

مطالعه حاضر علی‌رغم این که با استفاده از بانک اطلاعاتی پروژه مونیکا انجام شد؛ لیکن به دلیل فراوانی بسیار کم برخی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها نظیر AA ۷۵- وCT۸۳+ و همچنین فقدان هرگونه موردی از TT۸۳+ ، در خصوص برخی قضاوت‌ها و استنباط‌های آماری امکان بحث بیشتری نیافت. البته این مشکل در تمامی مطالعات مربوط به پلی‌مورفیسم‌های apoA-I نیز دیده می‌شود و عملاً منشا بسیاری از عدم همخوانی نتایج و هتروژنیتی بین یافته‌های مطالعات مختلف است به طوری که در بسیاری از مطالعات دیگر نیز ژنوتیپTT۸۳+ مشاهده نشده و فراوانی ژنوتیپ‌های دیگر هم مشابهت بسیار زیادی با مطالعه حاضر دارد. لیکن در خصوص بررسی ارتباط این پلی‌مورفیسم‌ها با وجود دیابت و نیز دیس لیپیدمی به نظر می‌رسد که شواهد کافی به دست آمده باشد.

برای تحقیقات بیشتر بهتر است که حجم نمونه افزایش یافته و اطلاعات جامعی از نمونه‌ها جمع‌آوری گردد به طوری که مطالعاتی با تعداد کافی و مناسب نمونه در هر زیر گروه و هر یک از ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها انجام پذیرند. می‌توان فعالیت و میزان بیان apoA-I را در بافت‌های مختلف از جمله بافت چربی حیوانات آزمایشگاهی بررسی کرده و اثرات داروها، میزان فعالیت بدنی و... را در میزان بیان و فعالیت این ژن بررسی نمود. احتمال وجود وابستگی در بین پلی‌مورفیسم‌های موجود بر روی این ژن وجود دارد. برای روشن شدن علت تفاوت در افراد مختلف، بررسی سایر پلی‌مورفیسم‌های این ژن و تعیین وابستگی آنها با هم لازم است.

مطالعات وابستگی مولکولی دیگری نیز در بین اختلالات غددی توسط این گروه روی این جمعیت انجام شده [۲۰-۱۹] که نتایج جالب توجهی بدست داده است. به طور خلاصه، بیماری‌های شایع غددی نظیر اختلالات چربی، معجونی از کشفیات ژنتیک را دربردارند که نژادهای گوناگون را مستعد بیماری و عوارض آن به اشکال متفاوت می‌نمایند. مطالعات وابستگی به عنوان ابزاری قوی برای شناخت تأثیرات تجمعی متغیرهای کوچک، در اختیار محققین قرار دارد [۲۱]. در این راستا، همکاری مشترک و نزدیک بین گروه‌های تخصصی بالینی و علوم پایه در طراحی و جداسازی دقیق گروه‌های مورد و شاهد، ضرورتی اجتناب‌ناپذیر می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

سپاسگزاری

از تلاش‌های گروه محققین در طرح MONICA که به جمع‌آوری نمونه‌ها پرداختند و نیز همکاران آزمایشگاه هورمون که در انجام آزمایشات بیوشیمی ما را یاری نمودند و همچنین همکاران آزمایشگاه ژنتیک مرکز تحقیقات غدد، تقدیر و تشکر می‌گردد. این مقاله مربوط به پایان نامه دانشجویی کارشناسی ارشد سلولی مولکولی خانم افسانه بشارتی است که با حمایت مالی مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

مراجع

1. *Forte TM, McCall MR. The role of apolipoprotein A-I–containing lipoproteins in atherosclerosis. Curr Opin Lipidol 1994; 5: 354–364.*
2. *Brunzell J, Deeb S. Familial lipoprotein lipase deficiency, apo cII deficiency, and hepatic lipase deficiency. In: Scriver CR, Beauted AL, Sly WS, et al, eds. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th ed. New York: McGraw-Hill Book Co; 2001: 2789.*
3. *Pulkkinen A, Viitanen L, Kareinen A, Lehto S, Laakso M. MspI polymorphism at +83 bp in intron 1 of the human apolipoprotein A1 gene is associated with elevated levels of HDL cholesterol and apolipoprotein A1 in nondiabetic subjects but not in type 2 diabetic patients with coronary heart disease. Diabetes Care 2000; 23: 791-795.*
4. *Ashavaid TF, Kondkar AA, Todur SP, Dherai AJ, Morey J, Raghavan R. Lipid, lipoprotein, apolipoprotein and lipoprotein(a) levels: reference intervals in a healthy Indian population. J Atheroscler Thromb 2005; 12(5):251-9.*
5. *Navab M, Berliner GA, Watson AD, et al. The yin and yang of oxidation in Development of the fatty streak. Aterioscler Thromb Vase boils 1996; 16: 831-842.*
6. *Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: Antagonists in atherothrombosis. The FASEB J 2001; 15: 2073-2084.*
7. *Wilson PW, Anderson KM, Harris T, Kannel WB, Castelli WP. Determinants of change in total cholesterol and HDL-C with age: the Framingham Study. J Gerontol 1994; 49(6):M252-7.*
8. *Wang XL, Badenhop R, Humphrey KE, Wilcken DE. C to T and/or G to A transitions are responsible for loss of a MspI restriction site at the 5'-end of the human apolipoprotein AI gene. Hum Genet 1995; 95(4):473-4.*
9. *Wang XL, Badenhop R, Humphrey KE, Wilcken DE. New MspI polymorphism at +83 bp of the human apolipoprotein AI gene: association with increased circulating high density lipoprotein cholesterol levels. Genetic Epidemiology 1996; 13: 1-10.*
10. *Meng QH, Pajukanta P, Valsta L, Aro A, Pietinen P, Tikkanen MJ. Influence of apolipoprotein A-1 promotor on lipid levels and responses to dietary change in Finnish. J Intern Med 1997; 241: 373-8.*
11. حشمت رامین، فخرزاده حسین، پورابراهیم رسول، نوری معصومه، علائ‌الدینی فرشید. مطالعه عوامل خطر بیماری‌های قلب و عروق در جمعیت تحت پوشش پایگاه تحقیقات جمعیت تهران: طراحی آماری و روش نمونه‌گیری. مجله دیابت و لیپید ایران. ۱۳۸۲؛ ویژه نامه ۱، دوره ۳: ۲۵-۲۱.
12. *Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, Heshmat R, Nouri M, Shafaee A, Larijani B. Plasma homocysteine concentration and blood pressure in healthy Iranian adults: the Tehran Homocysteine Survey (2003-2004). J Hum Hypertension 2005; 28: 869-876.*
13. *Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, et al. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin B12 status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey (2003-2004)/ a cross - sectional population based study. BMC Public Health 2006; 13:29.*
14. *Marks D, Thorogood M, Neil HA, et al. A review on the diagnosis, natural history, and treatment of familial hypercholestrolaemia. Atherosclerosis 2003; 168:1.*
15. *Saliki PK, Gelfand DH, Stoffell SJ, Higuchi R, Horn GT, et al. Primer-directed enzymeatic amplification of DNA with a thermostable DNa polymerase. Science 1988; 239: 487-91.*
16. *Badimon JJ, Fuster V, Badimon L. Role of high density lipoproteins in the regression of atherosclerosis. Circulation 1992; 86 (suppl III): 86-94*
17. *Gordon T, Castelli WP, Hjortland MC, kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease: The Framingham study. Is J Med 1997; 62: 707-14.*
18. حیدری جواد، اکرمی سید محمد، حشمت رامین، امیری پروین، فخرزاده حسین، پژوهی محمد. وضعیت چند شکلی پروموتور ژن UCP2 در جمعیت سالم ایرانی. مجله دیابت و لیپید ایران. ۱۳۸۵؛ دوره۵ شماره ۳: ۲۰۹-۲۱۵.
19. اکرمی سید محمد، حیدری جواد. مطالعات وابستگی در بیماری‌های شایع غدد. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۱۳۸۵؛ زمستان، در حال چاپ.
20. *Akrami SM, Heidari J, Heshmat R, Amiri P, Fakhrzadeh H, Pajouhi M.The Common -866G/A Polymorphism of the UCP2 Gene in Healthy Iranians Compared with World Populations. Human Biology. In press 2007.*
21. اکرمی سید محمد، امیری پروین. ژنتیک بیماری ها. تهران: انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۱۳۸۳: ۲۴۳-۲۹۹.

Archive of SID

www.SID.ir