مشاهده ارتباط واریانت usf1s2 در ژن Upstream stimulatory factor 1 و خطر ابتلا به بیماری گرفتگی عروق قلبی زودرس در جمعیت جنوب ایران

نجمه جویان[۱و۴*]، بابک صفاری[۲و۴]
الهام داوودی دهاقانی[۳]، نگار سلیانی[۲]
سارا سنمار[۴]، مرضیه بهاری[۴]
ندا جویان[۵]، محمد علی استوان[۶]

۱- مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- گروه علوم سلولی مولکولی، دانشکده زیست شناسی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
۳- گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۴- گروه ژنتیک، معاونت پژوهشی، جهاد دانشگاهی شیراز، ایران.
۵- گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.
۶- گروه کاردیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان انقلاب، دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک
تلفن: ۶۱۱۱۳۳۲۲-۰۲۱
E-mail: n.jooyan@ut.ac.ir

چکیده

دریافت: ۱۳۹۳/۰۴/۰۱ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۱/۱۳ آنلاین: ۱۳۹۳/۱۲/۰۵

زمینه و هدف: ژن عامل رونویسی بالا دست نوع ۱ (Upstream Stimulatory Factor1, USF1)، یک عامل رونویسی است که ارتباط پلی‌مورفیسم‌های آن با بیماری‌های هایپرلیپیدمیای خانوادگی (Familial combined hyperlipidemia, FCHL)، دیابت نوع دو و بیماری‌های قلب و عروق مشاهده شده است. در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم USF1s2 با بیماری عروق کرونر زودرس (Premature coronary artery disease, PCAD) در جمعیت جنوب ایران برای اولین بار مورد بررسی قرار گرفت. USF1s2 دارای بهترین پتانسیل به‌عنوان یک متغیر عملکردی در ژن USF1 می‌باشد.

روش بررسی: در یک پژوهش مورد- شاهدی بر روی ۳۲۱ بیمار، ۱۸۶ زن زیر ۵۵ سال و ۱۳۵ مرد کمتر از ۵۰ سال که از ابتدای مهر تا پایان اسفند ۱۳۸۹ در بیمارستان‌های سعدی، نمازی و مرکز قلب کوثر شیراز تحت آنژیوگرافی قرار گرفته و واجد گرفتگی عروق کرونری قلبی بودند، پلی‌مورفیسم USF1s2 با روش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism) و با استفاده از آنزیم محدودکننده BsiHKA I تعیین ژنوتیپ شد. پروفایل قند و چربی خون نیز با اندازه‌گیری سطح قند خون ناشتا، کلسترول تام، تری‌گلیسرید، Low-density lipoprotein (LDL) و High-density lipoprotein (HDL) به‌دست آمد.

یافته‌ها: فراوانی آلل‌های ماژور (G) و مینور USF1s2 (A)، در کل جمعیت به ترتیب ۰/۷۴ و ۰/۲۶ بود. همچنین، میزان شیوع آلل مینور به‌طور قابل توجهی در بیماران واجد PCAD در مقایسه با گروه شاهد بیشتر بود، این تفاوت حتی پس از تنظیم پارامترهای مداخله‌گر، معنادار باقی ماند. در واقع، افراد با ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته (AA) حدود پنج برابر بیشتر نسبت به افراد با ژنوتیپ هموزیگوت نوع وحشی (GG) مبتلا به بیماری گرفتگی عروق کرونر زودرس بودند.

نتیجه‌گیری: به نظر می‌رسد، در جامعه ما پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی USF1s2 یک عامل پیش‌بینی کننده PCAD است که می‌تواند مستقل از فاکتورهای قندی و لیپیدی خون باشد.

کلمات کلیدی: مطالعه مورد- شاهد، USF1، PCAD، پلی‌مورفیسم، ژنوتایپ، بیماری عروق کرونری، ایران.

مقدمه

عامل رونویسی بالا دست ۱ (Upstream stimulatory factor 1)، یک فاکتور رونویسی از خانواده مارپیچ- حلقه- مارپیچ زیپ لوسین است که در همه بافت‌ها بیان می‌شود.[۱] بیان بیش از چهل ژن درگیر در متابولیسم گلوکز و لیپید، التهاب و پیشرفت آترواسکلروزیس مانند آنزیم اسید چرب سنتتاز، آپولیپوپروتیین A2، آپولیپوپروتیین C3، لیپاز کبدی، گلوکوکیناز، استیل کوآنزیم آکربوکسیلاز، لیپاز حساس به هورمون، گیرنده انسولین و گلوکاگون توسط این عامل رونویسی کنترل می‌شود.[۲] همچنین دخالت USF1 در پاسخ‌های استرسی و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

ایمنی، پیری سلول و سرطان‌زایی مشاهده شده است.[۳و۴] USF1 به‌صورت همودایمر و یا هترودیمر با پروتیین USF2 به توالی پالیندروم CACGTGAC در پروموتور ژن‌های هدف متصل می‌شود و بیان آنها را تنظیم می‌کند.[۵و۶] ژن USF1، اولین ژنی بود که ارتباط قوی آن با بیماری هیپرلیپیدمی توأم ارثی (Familial combined hyperlipidemia, FCHL) مشخص گردید.[۷]

FCHL معمول‌ترین نقص لیپیدی ژنتیکی است که با افزایش سطح کلسترول و یا تری‌گلسیرید سرم همراه است و احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی زودرس را افزایش می‌دهد.[۸و۹] بیش از ۲۰٪ از بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونری زودرس (Premature CAD) از این بیماری رنج می‌برند.[۱۰]

وقوع بیماری عروق کرونری (Coronary heart disease, CAD) در سنین کمتر از ۵۵ سال، بیماری عروق کرونری زودرس در نظر گرفته می‌شود. CAD نتیجه نهایی تجمع پلاک‌های آترومایی در داخل دیواره‌های عروق کرونر است که اکسیژن و مواد غذایی را برای میوکاردیوم فراهم می‌کنند. این بیماری در گذشته به‌عنوان بیماری اختلال در ذخیره کلسترول در نظر گرفته می‌شد، اما اخیرا یک بیماری التهابی قلمداد می‌شود که برهمکنش پیچیده‌ای از عوامل خطرساز از جمله سلول‌های دیواره عروق، خون و پیام‌های مولکولی متغیر است.[۱۱و۱۲]

دو پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) از USF1 تحت عنوان USF1s1 (ناحیه '۳ ترجمه نشده، rs3737787) و USF1s2 (اینترون ۷، rs2073658) به‌صورت جداگانه و یا به‌عنوان یک هاپلوتایپ، با عوارض مختلف FCHL، از جمله افزایش سطح آپولیپوپروتیین B، لیپوپروتیین با چگالی کم- کلسترول (LDL)، تری‌گلیسیریدها (TGs) و کلسترول کل (TC) پلاسما ارتباط نشان داده‌اند[۷] و چون این عوامل، احتمال ابتلا به بیماری‌های قلبی را افزایش می‌دهند، مطالعه ارتباط بین جنبه‌های مختلف پلی‌مورفیسم‌های این ژن و بیماری‌های قلبی- عروقی، بسیار مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است.

یکی از مهم‌ترین علل مرگ و میر و ناتوانی در میان مردم و همچنین ایران، بیماری عروق کرونری می‌باشد که بیماری پیچیده‌ای است و عوامل محیطی، عناصر ژنتیکی، سبک زندگی و تعامل میان آنها در بیماری‌زایی آن موثر هستند.[۱۳و۱۴] با توجه نقش USF1 در تنظیم مسیرهای مرتبط با بیماری‌های قلبی- عروقی[۱۵و۱۶] و ارتباط پلی‌مورفیسم‌های این ژن با چندین اختلال متداول در متابولیسم چربی و گلوکز،[۱۷-۱۹] این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین تنوع آللی در ژن USF1 (USF1s2، rs2073658، C.561 G>A) و بیماری عروق کرونری زودرس و عوامل خطرساز آن، برای اولین بار در ایران انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت مورد- شاهد و بر پایه طرح مصوب جهاد دانشگاهی واحد فارس با کد ۱۹-۱۶۱۱ در ۳۲۱ فرد که در سه بیمارستان اصلی شیراز شامل بیمارستان سعدی، نمازی و مرکز قلب کوثر از ابتدای مهر تا آخر اسفند ۱۳۸۹ تحت عمل آنژیوگرافی قرار گرفته بودند، انجام شد.

مردان زیر ۵۰ سال و زنان زیر ۵۵ سال که پس از انجام آنژیوگرافی دارای گرفتگی بیش از ۵۰٪ در حداقل یکی از عروق اصلی کرونر قلب بودند، به‌عنوان فرد واجد بیماری گرفتگی عروق کرونری زودرس انتخاب شدند و افراد بدون گرفتگی و یا گرفتگی کمتر از ۳۰٪ در حداقل یکی از عروق اصلی به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. افراد با اختلالات کلیوی، واجد نارسایی کبد، هیپرتیرویییدیسم و افراد استفاده کننده از داروهای ضد استرویید و مکمل‌های ویتامینی به دلیل امکان ایجاد اختلال در متابولیسم لیپیدها، از مطالعه حذف گردیدند، معیار حذف، خود اظهاری این افراد در پرسشنامه‌های دریافت شده بود.

رضایت‌نامه کتبی از تمام افراد گرفته شد و روش پژوهش توسط کمیته اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد تایید قرار گرفت. پیش از خونگیری، اطلاعات هر فرد شامل وزن، قد، مصرف سیگار، سابقه خانوادگی ابتلا به بیماری‌های قلبی، استفاده از داروهایی مانند ویتامین‌ها و غیره در پرسشنامه‌های مخصوص ثبت شد. افراد با سطح قند خون ناشتا (FBS) بالاتر از ۱۲۶ mg/dl یا مصرف‌کننده داروهای کاهنده قندخون و یا انسولین به عنوان افراد دیابتی و افرادی که فشارخون سیستولی/دیاستولی آنها بالاتر از ۹۰/۱۴۰ mmHg بود یا مصرف‌کننده داروهای ضدفشارخون بودند به‌عنوان افراد با فشارخون بالا در نظر گرفته شدند.

وقوع بیماری‌های قلبی- عروقی، پیوند عروق کرونر (CABG) و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

یا انفارکتوس میوکارد (MI)، در حداقل یکی از اقوام درجه یک یا دو افراد تحت مطالعه، به‌عنوان سابقه بیماری قلبی قلمداد شد. داده‌های مرتبط با قد و وزن نیز از پرونده بیماران که توسط کارکنان بیمارستان فراهم شده بود، به‌دست آمد و شاخص توده بدنی (BMI) نیز محاسبه گردید. اطلاعات مربوط به وضعیت سیگار کشیدن، دیابت ملیتوس، فشار خون و سابقه خانوادگی بیماری‌های قلبی به‌عنوان متغیرهای دو جمله‌ای ثبت شدند.

جهت اندازه‌گیری سطح کلسترول کل، تری‌گلسیرید، HDL، LDL و قندخون از بیمارانی که حداقل از دوازده ساعت قبل ناشتا بودند، حدود ۵ ml خون گرفته شد و به لوله‌های شیشه‌ای به منظور جدا کردن سرم انتقال داده شد. از روش‌های استاندارد آنزیمی برای تعیین غلظت کلسترول (Cod: 0105001)، تری‌گلسیرید (Cod: 0330161)، HDL (Cod: 0111501)، LDL (Cod:0230501) و قند (Pars Azmoon Inc., Tehran, Iran) (Cod:0175001) در سرم خون استفاده شد. شرایط TC>۲۰۰ mg/dl، TG>۲۰۰ mg/dl، LDL>۱۳۰mg/dl و HDL<۳۵ mg/dl به‌عنوان چربی خون بالا در نظر گرفته شد.

DNA ژنومی از نمونه‌های کامل خون که در ۲۰- °C نگهداری شده بودند با استفاده از روش Salting out استخراج شد. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction)، برای تکثیر مارکر میکروستلایت D1s1677، انجام گرفت.[۲۰]

به‌طور خلاصه توالی پرایمرهایی که برای تشخیص USF1s2 مورد استفاده قرار گرفتند، شامل پرایمر بالادست 5'-CTTTAGTAGAGACAGGGTTTCAC-3' و پرایمر پایین دست 5'-GATTTAGCAGGTATTAGGAGCA-3' بودند. گوانین ناجوری که در پرایمر پایین دست USF1s2 مشخص شده است، یک جایگاه برش برای BsiHKA I ایجاد می‌کند.

واکنش PCR در حجم ۲۰ µl و در دمای ۵۳/۷ °C برای جفت شدن پرایمرها انجام گرفت.

مخلوط واکنش PCR شامل نمونه‌های DNA ژنومی (۱۰۰ ng)، MgCl2 ۱/۵mM، بافر 1X PCR، ۲/۵ mM از هر dNTP، ۱۰ pmol از هر پرایمر و ۱ واحد DNA پلی‌مراز Taq بود. محصولات PCR با ۱ واحد BsiHKA I (Fermentas Molecular Biology Solutions, Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, Massachusetts, USA) در ۶۵ °C به مدت یک شب انکوبه شدند. این محصولات توسط الکتروفورز با استفاده از آگارز (w/v) ۴٪ و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید از نظر اندازه از هم جدا شدند. قطعه ۱۵۴ جفت بازی نشان‌دهنده ژنوتیپ هموزیگوت نوع طبیعی (GG)، قطعات ۱۵۴، ۱۳۶ و ۱۸ جفت بازی نشان‌دهنده ژنوتیپ هتروزیگوت (GA) و قطعات ۱۳۶ و ۱۸ جفت بازی نشان‌دهنده ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته (AA) بودند.

آنالیزهای آماری با استفاده از SPSS software version 17 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) انجام گرفت و P≤۰/۰۵ به منظور تایید معنادار بودن داده‌ها از نظر آماری در نظر گرفته شد. برای مقایسه متغیرهای کیفی و همچنین ارزیابی تعادل هاردی واینبرگ (Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE)، از Chi-square test استفاده شد.

Student's t-test برای آنالیز داده‌های کمی بین دو گروه و یا One-way ANOVA برای بیش از دو گروه مورد استفاده قرار گرفت. در آنالیزهای تعدیل‌سازی برای لیپیدها داده‌های دو جمله‌ای طبقه‌بندی شده به‌کار برده شد. توزیع نرمال متغیرهای پیوسته از طریق Kolmogorov-Smirnov test مورد ارزیابی قرار گرفت و برای داده‌های چوله از تبدیل لگاریتمی استفاده شد.

یافته‌ها

تعداد کل افراد وارد شده در مطالعه ۹۸۵ نفر بود که پس از اعمال معیارهای خروج (ذکر شده در بخش روش‌ها) ۶۶۴ فرد خارج شده و ۳۲۱ فرد مورد بررسی قرار گرفتند. خصوصیات پایه افراد شاهد (N=۱۵۹) و بیماران (N=۱۶۲)، در جدول ۱ نشان داده شده است. هر دو گروه از لحاظ آماری، کمابیش در تمام پارامترها به جز تعداد مردان که در گروه شاهد بیشتر بود، مشابه بودند.

توزیع ژنوتیپ USF1s2 در هر دو گروه شاهد و بیمار در جدول ۲ نشان داده شده است. فراوانی اللی جهش A (الل مینور) در گروه CAD زودرس به‌طور قابل توجهی بیشتر از گروه شاهد بود (۰/۳۰ در مقابل ۰/۲۱، P=۰/۰۰۵). فراوانی ژنوتیپ‌ها در افراد شاهد، ۶۰/۴٪ برای GG، ۳۶/۵٪ برای GA و ۳/۱٪ برای AA و در بیماران، ۵۳/۱٪ برای GG، ۳۴٪ برای GA و ۱۳٪ برای AA به‌دست آمد. در گروه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

شاهد فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف USF1s2 در تعادل هاردی واینبرگ قرار داشتند (P=۰/۲۸۴) اما در گروه بیماران از تعادل هاردی واینبرگ تبعیت نمی‌کردند (P=۰/۰۱۵).

همانطور که در جدول ۲ نشان داده شده است، افراد با ژنوتیپ GA و AA نسبت به افراد با ژنوتیپ هموزیگوت نوع وحشی، به‌ترتیب ۱/۰۶ (۱/۶۹-۰/۶۶) و ۴/۶۹ (۱۲/۹۷-۱/۶۹) برابر بیشتر در معرض ابتلا به PCAD بودند و فقط هوموزیگوت‌های جهش یافته (AA) از نظر آماری نسبت شانس (OR) معنادار داشتند. همین روند نیز پس از تعدیل برخی از عوامل خطرساز معمول دخیل در بیماری عروق کرونر از جمله سیگار کشیدن، سن، جنس، دیابت، فشار و چربی خون بالا مشاهده گردید.

همانطور که در جدول ۳ دیده می‌شود، در گروه بیمار تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌های مختلف برای هیچکدام از متغیرهای مورد بررسی وجود نداشت. افراد گروه شاهد نیز تفاوت معناداری بین ژنوتیپ‌های مختلف برای پارامترهای مورد آنالیز نشان ندادند (جدول ۴).

جدول ۱: ویژگی‌های دموگرافیک و بالینی پایه گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	افراد شاهد (۱۵۹)	افراد بیمار (۱۶۲)	P*
جنسیت (مرد/زن)	۸۵/۷۴	۵۰/۱۱۲	۰/۰۰۰۰۵
سن (سال)	۴۵/۲۷±۷/۹۰	۴۷/۷۵±۵/۴۰	۰/۳۷۱
BMI (kgm^{-2})	۲۵/۵۳±۳/۴۵	۲۵/۴۴±۳/۴۸	۰/۹۶۳
استعمال دخانیات، تعداد (٪)	۳۳(۲۰/۷)	۳۱(۱۹/۱)	۰/۷۱۷
فشار خون بالا، تعداد (٪)	۲۱(۱۳/۲)	۱۹(۱۱/۷)	۰/۶۸۹
دیابت، تعداد (٪)	۳۰(۱۸/۹)	۲۶(۱۶/۰)	۰/۴۴۳
سابقه فامیلی، تعداد (٪)	۳۳(۲۰/۷)	۴۱(۲۵/۳)	۰/۳۳۳
کلسترول تام ($mg\ dL^{-1}$)	۱۵۸/۱۳±۴۲/۶۰	۱۶۲/۲۵±۴۷/۶۱	۰/۲۰۸
کلسترل LDL ($mg\ dL^{-1}$)	۹۳/۲۶±۳۱/۲۰	۹۴/۸۹±۳۴/۸۶	۰/۰۶۴
کلسترل HDL ($mg\ dL^{-1}$)	۳۵/۵۸±۹/۷۱	۳۷/۷۸±۱۰/۳۵	۰/۴۹۸
تری‌گلیسرید GM ($mg\ dL^{-1}$)	۲/۱۲±۰/۲۸	۲/۱۱±۰/۳۰	۰/۸۱۳

* آزمون آماری: برای متغیرهای کیفی Chi-square test و برای متغیرهای کمی توسط آنالیز واریانس ANOVA انجام شد. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد..

BMI= Body Mass Index, LDL= Low Density Lipoprotein, HDL= High Density Lipoprotein, GM= Geometric Means, mg/dl= Milligram per Deciliter

جدول ۲: توزیع ژنوتیپ USF1s2 در افراد بیمار/شاهد و ارتباط احتمال نسبی CAD زودرس با ژنوتیپ USF1s2

	GG(۱۸۲)	GA(۱۱۳)	AA(۲۶)	فراوانی G/A
افراد شاهد، n(٪)	۹۶(۶۰/۴)	۵۸(۳۶/۵)	۵(۳/۱)	۰/۷۹ /۰/۲۱
CAD زودرس، n(٪)	۸۶(۵۳/۱)	۵۵(۳۴/۰)	۲۱(۱۳/۰)	۰/۷۰ /۰/۳۰
OR خام (CI/۹۵)	۱	۱/۰۶(۰/۶۶-۱/۶۹)	۴/۹۶(۱/۶۹-۱۲/۹۷)	
OR تعدیل شده (CI/۹۵)	۱	۱/۱۱(۰/۵۹-۲/۱۰)	۵/۹۰(۱/۰۶-۲۴/۵۷)	

* تعدیل شده برای سن، جنس، فشار خون بالا، سیگار کشیدن، دیابت و چربی خون

CAD= Coronary Artery Disease, OR= Odds Ratio, CI= Confidence Interval

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در گروه بیمار برای برخی از عوامل خطرساز بیماری عروق کرونر

متغیرها	GG(۸۶)	GA(۵۵)	AA(۲۱)	P*
جنسیت (مرد/زن)	۲۴/۶۲	۱۵/۴۰	۱۱,۱۰	۰/۰۷۳
سن (سال)	۴۶/۷۱±۷/۴۲	۴۸/۱۱±۶/۷۶	۴۸/۰۹±۷/۶۵	۰/۶۲۵
BMI (kgm^2)	۲۵/۸۳±۳/۵۵	۲۵/۰۲±۳/۳۹	۲۴/۱۷±۳/۱۹	۰/۳۰۱
استعمال دخانیات، تعداد (٪)	۲۰ (۲۳/۳)	۷(۱۲/۷)	۴(۱۹/۰)	۰/۳۰۱
فشار خون بالا، تعداد (٪)	۱۴(۱۶/۳)	۵(۹/۱)	۰(۰/۰)	۰/۰۸۷
دیابت، تعداد (٪)	۱۹(۲۲/۱)	۵(۹/۱)	۲(۹/۵)	۰/۰۸۳
سابقه فامیلی، تعداد (٪)	۲۶(۳۰/۲)	۱۱(۲۰/۰)	۴(۱۹/۰)	۰/۳۰۷
کلسترول تام ($mg\ dL^{-1}$)	۱۶۴/۲۳±۵۳/۶۱	۱۶۳/۶۷±۴۰/۲۶	۱۴۷/۲۳±۳۱/۲۵	۰/۴۸۸
کلسترل LDL ($mg\ dL^{-1}$)	۹۷/۶۶±۳۷/۱۶	۹۴/۳۷±۳۳/۱۸	۸۱/۶۲±۲۴/۵۲	۰/۳۱۴
کلسترل HDL ($mg\ dL^{-1}$)	۳۶/۷۸±۱۰/۶۹	۳۹/۰۰±۱۰/۷۷	۳۹/۳۸±۶/۳۸	۰/۴۷۳
تری‌گلیسرید GM ($mg\ dL^{-1}$)	۲/۱۲±۰/۳۰	۲/۱۲±۰/۳۱	۲/۰۷±۰/۳۱	۰/۲۲۶

* آزمون آماری: برای متغیرهای کیفی Chi-square test و برای متغیرهای کمی توسط آنالیز واریانس ANOVA انجام شد. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد..

BMI= Body Mass Index, LDL= Low Density Lipoprotein, HDL= High Density Lipoprotein, GM= Geometric Means, mg/dl= Milligram per Deciliter

جدول ٤: فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف در گروه شاهد برای برخی از عوامل خطرساز بیماری عروق کرونر

متغیرها	GG(۸٦)	GA(۵۵)	AA(۲۱)	P*
جنسیت (مرد/زن)	۴۷/۴۹	۳۴/۲۴	۴/۱	۰/۲۲۴
سن (سال)	۴۳/۵۱±۸/۴۴	۴۸/۳۱±۶/۸۹	۴۶/۰۲±۷/۴۹	۰/۲۵۸
BMI (kgm^2)	۲۵/۳۱±۳/۲۷	۲۶/۰۲±۳/۶۷	۲۴/۳۰±۴/۵۶	۰/۴۰۶
استعمال دخانیات، تعداد (٪)	۲۴(۲۵/۰)	۸(۱۳/۸)	۱(۲۰/۰)	۰/۱۷۵
فشار خون بالا، تعداد (٪)	۱۴(۱۴/۶)	۶(۱۰/۳)	۱(۲۰/۰)	۰/۵۳۳
دیابت، تعداد (٪)	۲۳(۲۴/۰)	۶(۱۰/۳)	۱(۲۰/۰)	۰/۰۹۷
سابقه فامیلی، تعداد (٪)	۲۳(۲۴/۰)	۹(۱۵/۵)	۱(۲۰/۰)	۰/۴۳۱
کلسترول تام ($mg\ dL^{-1}$)	۱۵۹/۰۹±۳۹/۲۳	۱۵۶/۱۴±۴۸/۵۲	۱۶۰/۷۵±۵۰/۶۱	۰/۹۲۱
کلسترل LDL ($mg\ dL^{-1}$)	۹۵/۶۰±۲۸/۲۵	۹۰/۲۲±۳۵/۷۸	۷۷/۲۵±۳۶/۳۱	۰/۳۶۵
کلسترل HDL ($mg\ dL^{-1}$)	۳۵/۶۴±۱۰/۱۹	۳۵/۳۷±۹/۰۱	۳۶/۷۵±۸/۹۶	۰/۹۵۹
تری‌گلیسرید GM ($mg\ dL^{-1}$)	۲/۱۲±۰/۳۳	۲/۱۱±۰/۳۰	۲/۱۴±۰/۳۲	۰/۳۱۵

* آزمون آماری: برای متغیرهای کیفی Chi-square test و برای متغیرهای کمی توسط آنالیز واریانس ANOVA انجام شد. P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد..

BMI= Body Mass Index, LDL= Low Density Lipoprotein, HDL= High Density Lipoprotein, GM= Geometric Means, mg/dl= Milligram per Deciliter

بحث

مطالعات اخیر نشان داده‌اند که پلی‌مورفیسم rs2073658، بهترین پتانسیل را به‌عنوان یک متغیر در ژن USF1 دارا می‌باشد.[۲۱] با توجه به ارتباط این پلی‌مورفیسم با بیماری FCHL، اختلالات متابولیک و بیماری عروق کرونر قلبی،[۷و۱۸و۲۲] ارتباط بین SNP (G/A)

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

و بیماری عروق کرونر زودرس را در یک مطالعه بیمار- شاهد آینده‌نگر مورد بررسی قرار گرفت.

مطالعاتی که رابطه ژن USF1 و CVD و یا عوامل خطرساز متداول این بیماری را مورد بررسی قرار دادند، به نتایج بحث‌برانگیزی دست یافتند. برای مثال، مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آلل ماژور rs2073658 و یا آلل ماژور SNP دیگر، rs3737787 که در عدم تعادل پیوستگی کامل با rs2073658 قرار دارد،[۷و۱۹و۲۵-۲۳] با CVD و یا حداقل با برخی از عوامل رایج که در ابتلا به CVD نقش دارند، در ارتباط هستند.[۱و۷و۱۸و۲۹-۲۵]

اما در مطالعه حاضر، نشان داده شد که احتمال ابتلا به CAD زودرس به‌طور قابل توجهی با آلل مینور rs2073658 مرتبط می‌باشد. به دلیل اینکه هوموزیگوت‌های جهش یافته در گروه بیماران در مقایسه با گروه شاهد با افزایش تعداد همراه بودند، ممکن است که ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته عاملی برای ایجاد علایم بیماری‌های قلبی- عروقی و دلیلی بر انحراف فراوانی آنها از تعادل هاردی واینبرگ در مقایسه با افراد سالم باشد. چون فقط هوموزیگوت‌های جهش یافته (AA) از نظر آماری نسبت شانس (OR) معنادار داشتند، حتی پس از تعدیل برخی از عوامل خطرساز معمول دخیل در بیماری عروق کرونر، به‌نظر می‌رسد که آلل A دارای اثر مغلوب در احتمال ابتلا به PCAD باشد.

این یافته، با نتایج حاصل از دو پژوهش دیگر که در آن نقش آلل مینور rs3737787[۳۰] یا rs2073658[۲۲] را در احتمال ابتلا به CAD تایید کرده بودند، سازگار است. به‌طور مشابه چندین نوع آسیب پیشرفته آترواسکلروزیس و مرگ قلبی زودرس تحت تاثیر برخی از پلی‌مورفیسم‌های این ژن گزارش شده است.[۱۵] با این حال، هنوز مطالعاتی وجود دارند که ارتباط معناداری بین SNPهای USF1s2[۱۶و۲۳] یا USF1s1[۳۱] با عوامل رایج خطرساز معمول CAD یا ضخامت جدار انتیما- مدیا شریان کاروتید (IMT) پیدا نکرده‌اند.[۱۶]

IMT یکی از اولین نشانه‌های آترواسکلروزیس است و به‌عنوان یک فاکتور مستقلی است که حوادث قلبی- عروقی بعدی را پیش‌بینی می‌کند.[۳۲] علاوه بر این، در برخی از مطالعات، ارتباط مشاهده شده بین فنوتیپ‌های عوامل خطرساز CAD و SNP های ذکر شده (چه آلل مینور و چه آلل ماژور rs2073658 و یا rs3737787) تنها در زیر گروه‌های مردان[۱۷و۳۳] یا زنان[۲و۲۲و۳۰] مشهود بود. مطالعه Komulainen و همکاران، تنها در زنان ارتباط بین پلی‌مورفیسم USF1 (USF1s2)، بیماری‌های قلبی- عروقی و مرگ و میر گزارش شد، در حالیکه در مطالعه حاضر، ارتباط واریانت USF1s2 و بیماری گرفتگی عروق کرونر زودرس در زنان و مردان با هم مشاهده شد.[۲۲]

این تفاوت می‌تواند با توجه به ماهیت چند عاملی CAD و اثرات پیچیده ژن USF1 در تنظیم طیف گسترده‌ای از ژن‌ها قابل توجیه باشد.[۷] همچنین، نه تنها تفاوت شدید میان مطالعات مختلف و سابقه ژنتیکی جمعیت‌های مورد مطالعه بلکه اثرات ژن- ژن و ژن- محیط نیز باید در نظر گرفته شود.

همانطور که آنالیز چند متغیره نشان می‌دهد، در جامعه ما ارتباط معنادار بین USF1s2 و CAD زودرس، مستقل از سایر عوامل خطرسازی است که موجب بیماری‌های قلبی- عروقی می‌شوند. در واقع، افراد با ژنوتیپ AA نسبت به افراد با ژنوتیپ هموزیگوت نوع وحشی (GG) پس از کنترل عوامل خطرساز دیگر، حدود پنج برابر بیشتر در معرض ابتلا به PCAD هستند.

ابتدا به نظر می‌رسد که تاثیر آتروژنیک این جهش، در گروه مورد مطالعه توسط مسیرهایی به غیر از مواردی باشد که با لیپیدها یا قندها تحریک می‌شوند.[۱۶و۳۴]

Collings و همکاران نشان دادند که عوامل سرمی مانند گلوکز، HDL، LDL و TG به‌طور معناداری پیشگوکننده میزان IMT نیستند، اما ارتباط مستقیمی بین آن و ژنوتیپ وجود دارد.[۱۶] همچنین Reiner و همکاران ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن USF1 و آترو- اسکلروزیس را در افراد جوان ۳۰-۱۸ سال نشان دادند، اما بر اساس یافته‌های آنها این ارتباط مستقل از متابولیسم گلوکز و چربی بود[۱] این گزارش‌ها همسو با مشاهدات صورت گرفته در مطالعه حاضر و تایید کننده آن هستند.

همچنین به‌نظر می‌رسد که در جامعه ما، تاثیر متغیر rs2073658 در آترواسکلرویس مستقل از فشارخون بالا، مصرف سیگار، سن و جنس باشد. با این حال، نیاز است که این یافته‌ها با بررسی برخی دیگر از عوامل خطرساز بیماری‌های قلبی عروقی مانند آپولیپوپروتیین‌ها، انسولین ناشتا، IMT و تغذیه از طریق یک مطالعه آینده‌نگر و با حجم نمونه بیشتر، تایید گردند.

علاوه بر این آنالیز عملکردی ژن USF1 و تاثیر پلی‌مورفیسم‌ها در کارایی آن، می‌تواند رابطه سببی بین این ژن و پروفایل چربی‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

سرم و قندها را آشکار سازد. از سوی دیگر، آنالیزهای همراهی قادر به تعیین اینکه آیا ژن‌ها در انتقال یک بیماری پیچیده مانند PCAD در خانواده‌ها نقش دارند، نمی‌باشند.

بنابراین برای درک بهتر ویژگی‌های ژنتیکی ژن USF1 و بررسی قابلیت این ژن در انتقال PCAD در نسل‌های بعدی، آنالیزهای پیوستگی باید انجام گیرد. عدم بررسی اثر سایر پلی‌مورفیسم‌های ژن USF1 در PCAD و عدم وجود وابستگی نامتعادل (LD) داده‌ها بین این پلی‌مورفیسم‌ها از دیگر محدودیت های مطالعه حاضر بود.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل از طرح پژوهشی تحت عنوان "مطالعه ارتباط دو چند شکلی USF1s1 و USF1s2 در ژن کدکننده Upstream stimulatory factor 1 با بیماری گرفتگی عروق کرونری زودرس در استان فارس" در سال ۱۳۸۹ و با کد (۱۱-۱۶۱۹) می‌باشد که با حمایت جهاد دانشگاهی شیراز اجرا شده است. از خانم زهرا آزموده برای کمک در جمع‌آوری داده‌ها و پرسنل پرستاری بیمارستان‌های نمازی، سعدی و مرکز قلب کوثر برای همکاری‌های ارزشمندشان قدردانی می‌نماییم.

References

1. Reiner AP, Carlson CS, Jenny NS, Durda JP, Siscovick DS, Nickerson DA, et al. USF1 gene variants, cardiovascular risk, and mortality in European Americans: analysis of two US cohort studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(12):2736-42.
2. Holzapfel C, Baumert J, Grallert H, Müller AM, Thorand B, Khuseyinova N, et al. Genetic variants in the USF1 gene are associated with low-density lipoprotein cholesterol levels and incident type 2 diabetes mellitus in women: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. *Eur J Endocrinol* 2008;159(4):407-16.
3. Carr JJ, Nelson JC, Wong ND, McNitt-Gray M, Arad Y, Jacobs DR Jr, et al. Calcified coronary artery plaque measurement with cardiac CT in population-based studies: standardized protocol of Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA) and Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study. *Radiology* 2005;234(1):35-43.
4. Cushman M, Cornell ES, Howard PR, Bovill EG, Tracy RP. Laboratory methods and quality assurance in the Cardiovascular Health Study. *Clin Chem* 1995;41(2):264-70.
5. Casado M, Vallet VS, Kahn A, Vaulont S. Essential role in vivo of upstream stimulatory factors for a normal dietary response of the fatty acid synthase gene in the liver. *J Biol Chem* 1999;274(4):2009-13.
6. Ribeiro A, Pastier D, Kardassis D, Chambaz J, Cardot P. Cooperative binding of upstream stimulatory factor and hepatic nuclear factor 4 drives the transcription of the human apolipoprotein A-II gene. *J Biol Chem* 1999;274(3):1216-25.
7. Pajukanta P, Lilja HE, Sinsheimer JS, Cantor RM, Lusis AJ, Gentile M, et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1). *Nat Genet* 2004;36(4):371-6.
8. Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest* 1973;52(7):1544-68.
9. Nikkila EA, Aro A. Family study of serum lipids and lipoproteins in coronary heart-disease. *Lancet* 1973;1(7810):954-9.
10. Lee JC, Lusis AJ, Pajukanta P. Familial combined hyperlipidemia: upstream transcription factor 1 and beyond. *Curr Opin Lipidol* 2006;17(2):101-9.
11. Niemiec P, Nowak T, Iwanicki T, Krauze J, Gorczynska-Kosiorz S, Grzeszczak W, et al. The -930A>G polymorphism of the CYBA gene is associated with premature coronary artery disease. A case-control study and gene-risk factors interactions. *Mol Biol Rep* 2014;41(5):3287-94.
12. Libby P, Theroux P. Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 2005;111(25):3481-8.
13. Hatmi ZN, Tahvildari S, Gafarzadeh Motlag A, Sabouri Kashani A. Prevalence of coronary artery disease risk factors in Iran: a population based survey. *BMC Cardiovasc Disord* 2007;7:32.
14. Senemar S, Saffari B, Sharifkazemi MB, Bahari M, Jooyan N, Davoudi Dehaghani E, et al. 5, 10-methylene tetrahydrofolate reductase C677T gene polymorphism, homocysteine concentration and the extent of premature coronary artery disease in Southern Iran. *EXCLI J* 2013;12:437-48.
15. Kristiansson K, Ilveskoski E, Lehtimaki T, Peltonen L, Perola M, Karhunen PJ. Association analysis of allelic variants of USF1 in coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008;28(5):983-9.
16. Collings A, Hoyssa S, Fan M, Kahonen M, Hutri-Kahonen N, Marniemi J, et al. Allelic variants of upstream transcription factor 1 associate with carotid artery intima-media thickness: the Cardiovascular Risk in Young Finns study. *Circ J* 2008;72(7):1158-64.
17. Coon H, Xin Y, Hopkins PN, Cawthon RM, Hasstedt SJ, Hunt SC. Upstream stimulatory factor 1 associated with familial combined hyperlipidemia, LDL cholesterol, and triglycerides. *Hum Genet* 2005;117(5):444-51.
18. Ng MC, Miyake K, So WY, Poon EW, Lam VK, Li JK, et al. The linkage and association of the gene encoding upstream stimulatory factor 1 with type 2 diabetes and metabolic syndrome in the Chinese population. *Diabetologia* 2005;48(10):2018-24.
19. Putt W, Palmen J, Nicaud V, Tregouet DA, Tahri-Daizadeh N, Flavell DM, et al. Variation in USF1 shows haplotype effects, gene : gene and gene : environment associations with glucose and lipid parameters in the European Atherosclerosis Research Study II. *Hum Mol Genet* 2004;13(15):1587-97.
20. Hughes AE. Optimization of microsatellite analysis for genetic mapping. *Genomics* 1993;15(2):433-4.
21. Naukkarinen J, Gentile M, Soro-Paavonen A, Saarela J, Koistinen HA, Pajukanta P, et al. USF1 and dyslipidemias: converging evidence for a functional intronic variant. *Hum Mol Genet* 2005;14(17):2595-605.
22. Komulainen K, Alanne M, Auro K, Kilpikari R, Pajukanta P, Saarela J, et al. Risk alleles of USF1 gene predict cardiovascular disease of women in two prospective studies. *PLoS Genet* 2006;2(5):e69.
23. Gibson F, Hercberg S, Froguel P. Common polymorphisms in the USF1 gene are not associated with type 2 diabetes in French Caucasians. *Diabetes* 2005;54(10):3040-2.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

24. Hoffstedt J, Ryden M, Wahrenberg H, van Harmelen V, Arner P. Upstream transcription factor-1 gene polymorphism is associated with increased adipocyte lipolysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90(9):5356-60.
25. Meex SJ, van Vliet-Ostaptchouk JV, van der Kallen CJ, van Greevenbroek MM, Schalkwijk CG, Feskens EJ, et al. Upstream transcription factor 1 (USF1) in risk of type 2 diabetes: association study in 2000 Dutch Caucasians. *Mol Genet Metab* 2008;94(3):352-5.
26. Huertas-Vazquez A, Aguilar-Salinas C, Lusis AJ, Cantor RM, Canizales-Quinteros S, Lee JC, et al. Familial combined hyperlipidemia in Mexicans: association with upstream transcription factor 1 and linkage on chromosome 16q24.1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25(9):1985-91.
27. Choquette AC, Bouchard L, Houde A, Bouchard C, Perusse L, Vohl MC. Associations between USF1 gene variants and cardiovascular risk factors in the Quebec Family Study. *Clin Genet* 2007;71(3):245-53.
28. van der Vleuten GM, Isaacs A, Hijmans A, van Duijn CM, Stalenhoef AF, de Graaf J. The involvement of upstream stimulatory factor 1 in Dutch patients with familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2007;48(1):193-200.
29. Song Y, Li N, He L, Xun T, Chen D, Hu Y. A Common polymorphism of upstream transcription factor 1 gene is associated with lipid profile: A study in Chinese type 2 diabetes families. *Int J Biomed Sci* 2009;5(3):305-12.
30. Lee JC, Weissglas-Volkov D, Kyttala M, Sinsheimer JS, Jokiaho A, de Bruin TW, et al. USF1 contributes to high serum lipid levels in Dutch FCHL families and U.S. whites with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27(10):2222-7.
31. Zeggini E, Damcott CM, Hanson RL, Karim MA, Rayner NW, Groves CJ, et al; International Type 2 Diabetes 1q Consortium. Variation within the gene encoding the upstream stimulatory factor 1 does not influence susceptibility to type 2 diabetes in samples from populations with replicated evidence of linkage to chromosome 1q. *Diabetes* 2006;55(9):2541-8.
32. O'Leary DH, Polak JF. Intima-media thickness: a tool for atherosclerosis imaging and event prediction. *Am J Cardiol* 2002;90(10C):18L-21L.
33. Auro K, Kristiansson K, Zethelius B, Berne C, Lannfelt L, Taskinen MR, et al. USF1 gene variants contribute to metabolic traits in men in a longitudinal 32-year follow-up study. *Diabetologia* 2008;51(3):464-72.
34. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2005;352(16):1685-95.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]

TUMJ Tehran University Medical Journal, March 2015; Vol. 72, No. 12: 838-846 Original Article

Association of usf1s2 variant in the upstream stimulatory factor 1 gene with premature coronary artery disease in southern population of Iran

Najmeh Jouyan Ph.D. Student[1,4*]
Babak Saffari Ph.D. Student[2,4]
Elham Davoudi-Dehaghani Ph.D. Student[3]
Negar Saliani Ph.D. Student[2]
Sara Senemar M.Sc.[4]
Marzieh Bahari M.Sc.[4]
Neda Jouyan M.D.[5]
Mohammad Ali Ostovan M.D.[6]

1- Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB), University of Tehran, Tehran, Iran.
2- School of Biology, College of Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran.
3- Department of Medical Genetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
4- Human Genetic Research Group, Iranian Academic Center for Education, Culture & Research (ACECR), Fars Province Branch, Shiraz, Iran.
5- Department Internal Medicine School of Medicine, Booshehr University of Medical Sciences, Booshehr, Iran.
6- Department of Cardiology, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

[*] Corresponding author: Institute of Biochemistry and Biophysics (IBB), University of Tehran, Enghelab St., Tehran, Iran
Tel: +98- 21- 61113322
E-mail: n.jooyan@ut.ac.ir

Received: 22 Jun. 2014 Accepted: 02 Feb. 2015 Available online: 24 Feb. 2015

Abstract

***Background*:** Polymorphisms of the upstream transcription factor 1 (USF1) have been associated with familial combined hyperlipidemia (FCHL), type 2 diabetes and coronary heart diseases (CHD). In the current investigation, the association of USF1s2 variant of human USF1 gene with premature coronary artery disease (PCAD) was evaluated in a population from southern Iran. USF1s2 has the best potential as a functional variant .in the USF1 gene.

***Methods*:** In a case-control study USF1s2 variant of human USF1 gene was determined by polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique using BsiHKA I restriction enzyme for 186 women under 55 years of age and 135 men less than 50 years of age who underwent diagnostic coronary angiography in Saadi, Nemazee and Kowsar Hospitals of Shiraz, between July 2009 and March 2012. Data on the history of familial myocardial infarction or other heart diseases, hypertension, and smoking habit were collected by a simple questionnaire. Blood sugar level and serum lipid profile of all participants were also obtained by measuring the levels of fasting blood sugar (FBS), total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low density lipoprotein (LDL) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL).

***Results*:** Frequencies of the major (G) and minor (A) alleles of usf1s2 gene variant were 0.74 and 0.26 in the whole population, respectively. Meanwhile, the prevalence of the minor allele was significantly higher in PCAD patients compared with control subjects. This difference remained significant even after adjustment for confounding parameters. Indeed, subjects with mutant homozygous genotype (AA) were about 5 times more likely to suffer from early-onset CAD than those with wild-type homozygous genotype (GG). Moreover, the baseline characteristics of the control subjects and patients were statistically similar for almost all parameters except for the number of male individuals; there was no significant difference among various genotypes in the patient group for any of these investigated variables.

Conclusion: It appears that the usf1s2 variant in upstream transcription factor 1 gene is an independent predictor of premature coronary artery disease in our population and applies its effects without affecting blood sugar and lipid levels.

Keywords: case-control studies, coronary artery disease, genotype, PCAD, polymorphism, Iran, USF1.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-16]