ارتباط پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- ژن کلسترول استر ترانسفر پروتیین با الگوی لیپیدی در هیپرلیپیدمی اولیه

تقی حسن‌زاده[۲و۱*]
عسگر برخورداری[۲]

۱- مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.
۲- گروه بیوشیمی و تغذیه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران.

*نویسنده مسئول: همدان، خیابان شهید فهمیده، روبه‌روی پارک مردم، دانشگاه علوم پزشکی همدان، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی و تغذیه
تلفن: ۰۸۱۱-۸۳۸۰۴۶۲
E-mail: hassanzadeh@umsha.ac.ir

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۰۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۵/۱۱

زمینه و هدف: در میان عوامل خطرساز بیماری کرونری قلب، هیپرلیپیدمی از عوامل خطرساز اصلی می‌باشد. با توجه به نقش هیپرلیپیدمی در بیماری‌های قلبی- عروقی به‌عنوان اولین عامل مرگ و میر انسان و انجام مطالعات بسیار کم روی پلی‌مورفیسم‌های ژن کلسترول استر ترانسفر پروتیین در ایران، ما در این مطالعه پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- این ژن را در بیماران هیپرلیپیدمی اولیه بررسی نمودیم.

روش بررسی: در این مطالعه مورد- شاهدی، تعداد ۲۰۰ بیمار دارای هیپرلیپیدمی اولیه و ۲۰۰ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. قطعات ژنی واجد تغییرات ژنتیکی با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- با تکنیک Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) تعیین گردید. فعالیت ژن کلسترول استر ترانسفر پروتیین به‌وسیله کیت فلوریمتر و با استفاده از دستگاه Fluorescence spectrometer اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها بین دو گروه شاهد و بیمار اختلاف معنی‌داری نداشت (در گروه کنترل: AA ۲۴ درصد، GA ۴۷/۵ درصد و GG ۲۸/۵ درصد و در گروه بیمار: AA ۱۸ درصد، GA ۵۱ درصد و GG ۳۱ درصد) (P>۰/۰۵). در گروه بیمار افراد هموزیگوت واجد آلل A (ژنوتیپ AA) دارای کلسترول و HDL-C بالاتری نسبت به سایر افراد (ژنوتیپ‌های GG و GA) بودند. در هر دو گروه بیمار و کنترل، افراد واجد ژنوتیپ AA، CETP کم‌تری داشتند.

نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در پروموتور ژن CETP می‌تواند الگوی لیپیدی و فعالیت CETP را در جمعیت مورد مطالعه تحت تاثیر قرار دهد.

کلمات کلیدی: کلسترول استر ترانسفر پروتیین، پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱-، هیپرلیپیدمی اولیه.

مقدمه

بیماری‌های قلبی- عروقی (Cardiovascular diseases) اولین عامل مرگ و میر انسان در سرتاسر جهان محسوب می‌شوند.[۱و۲] در ایران شیوع بیماری‌های قلبی- عروقی و عوامل خطرساز آن‌ها بالاست.[۳و۴] هم‌چنین بیماری‌های قلبی- عروقی به‌عنوان اولین عامل مرگ و میر در کشور محسوب می‌شوند و نرخ مرگ و میر ناشی از این بیماری‌ها به‌صورت یک روند رو به افزایش در کشور ارزیابی شده است.[۵و۶]

هیپرلیپیدمی علت اصلی آترواسکلروز و شرایط مرتبط با آترواسکلروز مانند بیماری کرونری قلب (Coronary Heart Disease, CHD)، بیماری عروق مغزی ایسکمیک، و بیماری عروق محیطی است.[۱و۲] در میان عوامل خطرساز متعددی که برای CHD وجود دارد، هیپرکلسترولمی یکی از عوامل خطرساز اصلی است و افزایش غلظت

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

LDL-C سرم ارتباط مثبتی با آن دارد.[۷و۸] ارتباط معکوسی بین غلظت کلسترول HDL و خطر CHD وجود دارد.[۹]

یکی از مکانیسم‌هایی که HDL در برابر CHD محافظت‌کننده است، از طریق انتقال معکوس کلسترول و با همکاری کلسترل استر ترانسفر پروتیین (Cholesteryl Ester Transfer Protein, CETP) است که به‌وسیله آن خروج کلسترول از سلول‌ها افزایش می‌یابد و پس از انتقال به کبد به اسیدهای صفراوی تبدیل شده یا دفع می‌شود.[۱۰] عامل خطرساز دیگر برای CHD، هیپرتری‌گلیسریدمی است. در هیپرتری‌گلیسریدمی تعداد ذرات VLDL بزرگ افزایش می‌یابد و انتقال کلسترل استر توسط CETP از HDL به لیپوپروتیین‌های غنی از تری‌گلیسرید (TRL) و TG از TRL به LDL و HDL افزایش می‌یابد.[۱۱و۱۲]

ژن CETP به‌صورت یک کپی منفرد وجود داشته و شامل ۲۵ کیلو باز DNA ژنومی می‌باشد. این ژن روی بازوی بلند کروموزوم ۱۶، نزدیک به ژن لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز (Lecithin-Cholesterol Acyltransferase, LCAT) قرار گرفته و دارای ۱۶ اگزون و ۱۵ اینترون است.[۱۳و۱۴] اندازه اگزون‌ها از ۳۲ زوج باز (اگزون ۱۳) تا ۵۰ زوج باز (اگزون ۱۶) و اندازه اینترون‌ها از ۸۷ زوج باز (اینترون ۳) تا ۶۰۰۰ زوج باز (اینترون ۲) متغیر است.[۱۳و۱۵] پروتیین CETP انسان یک گلیکوپروتیین پلاسمایی هیدروفوب با وزن مولکولی ۷۴ کیلو دالتون و ۴۷۶ جزو اسید آمینه بوده که به‌وسیله کبد، بافت چربی، طحال و روده کوچک سنتز می‌شود.[۱۶] معمولاً مقدار آن در پلاسما ۱-۳mg/ml است و به‌طور عمده همراه با ذرات HDL است.[۱۷و۱۸]

عمل CETP، انتقال کلسترول استر از HDL به لیپوپروتیین‌های غنی از تری‌گلیسرید (TRLs) و LDL، و در مقابل انتقال تری‌گلیسرید از TRLs به HDL و LDL است. بنابراین انتقال کلسترول استر با میانجیگری CETP از HDL به VLDL و LDL، مسیر غیر مستقیمی ایجاد می‌کند که به‌وسیله آن کلسترول استر از HDL می‌تواند به کبد تحویل داده شود.[۱۹]

پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در ناحیه پروموتور ژن CETP دیده می‌شود و باعث تغییر گوانین به آدنین می‌شود. در برخی از مطالعات ارتباط این پلی‌مورفیسم با HDL-C پلاسما و غلظت CETP به اثبات رسیده است. در افراد واجد ژنوتیپ GG کاهش HDL-C و افزایش CETP گزارش شده است.[۲۰] مطالعات بر روی سلول‌های HepG2 نشان داد که پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- نمی‌تواند به‌طور مستقیم فعالیت رونویسی ژن CETP را تحت تاثیر قرار دهد.[۲۰] شاید این پلی‌مورفیسم در تعامل با سایر پلی‌مورفیسم‌های ناحیه پروموتور ژن CETP (نظیر C/A ۶۲۹- و C/T ۱۳۳۷-)، عمل نموده و فعالیت ژن CETP را تحت تاثیر قرار می‌دهد.[۲۱]

با توجه به تاثیر هیپرلیپیدمی در ایجاد بیماری‌های قلبی- عروقی به‌عنوان اولین عامل مرگ و میر انسان،[۱] شیوع بالای هیپرلیپیدمی در ایران[۲۲و۲۳] و نتایج متفاوت قبلی، انجام مطالعات مختلف و بررسی این مسئله از زوایای مختلف ضروری به‌نظر می‌رسد. تاکنون مطالعات بسیار کمی بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژن CETP، به‌ویژه این پلی‌مورفیسم، در ایران انجام شده است؛[۲۴و۲۵] ما در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- ژن CETP با بیماری هیپرلیپیدمی اولیه را بررسی نمودیم.

روش بررسی

کلیه ملاحظات اخلاقی در این مطالعه رعایت شده و به تایید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان رسیده است. هزینه انجام این طرح تحقیقاتی توسط معاونت تحقیقات و فن‌آوری دانشگاه علوم پزشکی همدان فراهم گردید. کیت استخراج DNA، MgCl2، PCR Buffer10X، dNTP Mix، پرایمرها، Taq پلیمراز، لودینگ بافر 6X، اتیدیوم بروماید و آنزیم محدودساز از شرکت (CinnaGen Co., Iran) خریداری شدند. آگاروز و DNA Ladder از شرکت (Fermentas Co., Germany) و کیت اندازه‌گیری CETP از شرکت (Roar Biomedical Inc., USA) تهیه گردید. در این مطالعه مورد- شاهدی، ۲۰۰ بیمار هیپرلیپیدمی اولیه و ۲۰۰ نفر شاهد، مراجعه‌کننده به آزمایشگاه دی شهر همدان، طی سال ۱۳۸۹، بررسی گردیدند.

نمونه‌هایی که کلسترول توتال آن‌ها بیش از ۲۵۰mg/dl و یا میزان تری‌گلیسرید آن‌ها بیش از ۲۰۰mg/dl بود به‌عنوان گروه هیپرلیپیدمی اولیه انتخاب شدند. در گروه کنترل ۲۰۰ فرد سالم بدون خویشاوندی نسبی و بدون هیچ نوع سابقه بیماری و علایم بالینی این بیماری که از نظر سن و جنس با گروه بیمار مشابه بودند و در آزمایشات پاراکلینیک تری‌گلیسرید و کلسترول طبیعی داشته باشند به‌عنوان گروه

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

کنترل انتخاب شدند. افراد مبتلا به دیابت، فشار خون بالا، بیماری‌های کبدی، کلیوی، تیروییدی و هم‌چنین خانم‌های باردار از کل جمعیت مورد مطالعه حذف گردیدند. علاوه بر این افراد مصرف‌کننده داروهای موثر بر سطح پلاسمای لیپیدها از این مطالعه خارج شدند. از هر فرد پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتا بودن در طول شب، ۱۰ میلی‌لیتر خون سیاهرگی ناشتا جمع‌آوری گردید. دو میلی‌لیتر از هر نمونه در لوله‌های حاوی Ethylenediaminetetraacetic Acid (EDTA) جهت استخراج DNA ریخته شد و مابقی برای تهیه سرم جهت اندازه‌گیری لیپیدها، فعالیت CETP و پارامترهای دیگر به‌کار رفت.

اندازه‌گیری‌های بیوشیمیایی: برای جدا کردن سرم جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی شامل تری‌گلیسرید، کلسترول تام، LDL-C و HDL-C، نمونه‌های خون به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. میزان تری‌گلیسرید، کلسترول تام، LDL-C و HDL-C به روش‌های آنزیماتیک و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون ایران اندازه‌گیری شد. فعالیت CETP به‌وسیله کیت کمپانی (Roar Biomedical Inc., USA) و با استفاده از دستگاه Fluorescence Spectrometer (PerkinElmer Inc., Massachusetts) اندازه‌گیری گردید. نمونه‌ها به‌وسیله این دستگاه در طول موج‌های ۴۶۵ نانومتر (Excitation) و ۵۳۵ نانومتر (Emission) خوانده شد. در نهایت منحنی استاندارد رسم و فعالیت CETP (pmoL/μL.h) محاسبه شد.

آزمایشات مولکولی: استخراج DNA ژنومی از خون تام با استفاده از کیت ساخت شرکت سیناژن و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. قطعات ژنی واجد تغییرات ژنتیکی با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) تکثیر شدند و با تکنیک Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) تعیین ژنوتیپ شدند. پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در ناحیه پروموتور ژن CETP قرار گرفته است. یک قطعه ۳۳۵ جفت بازی با استفاده از پرایمرهای مربوطه با روش PCR تکثیر گردید.

واکنش PCR جهت تکثیر قطعه موجود در پروموتور در حجم ۲۰ میکرولیتر انجام شد و شرایط PCR به‌صورت زیر بود: پرایمر F و R هر کدام ۰/۲ میکرومول، MgCl2 با غلظت ۱/۵ میلی‌مول، dNTP Mix با غلظت ۰/۲ میلی‌مول، دو میکرولیتر از PCR Buffer 10X، Taq Polymerase با غلظت ۰/۰۲۵ واحد در میکرولیتر، ۲۰۰-۱۰۰ نانوگرم DNA. برنامه دمایی به‌کار گرفته شده برای تکثیر قطعه واجد پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- به‌صورت زیر بود: ابتدا مخلوط واکنش در ۹۴ °C به‌مدت سه دقیقه گرم شد. سپس ۳۰ سیکل از برنامه زیر تکرار گردید: ۹۴ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه، دمای اتصال ۵۶ °C به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ °C به‌مدت ۶۰ ثانیه. پس از اتمام ۳۰ سیکل، مخلوط واکنش به‌مدت پنج دقیقه در ۷۲ °C گرم می‌شود. توالی پرایمرهای Reverse (R) و Forward (F) لازم جهت تکثیر قطعه DNA دارای پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- عبارت بود از:[۲۰]

Upstream primer: 5'- tgg gaa aca gtg agg gtc ag -3'

Downstream primer: 5'- tct gtg gca ttt caa ttc tg -3'

برای آزمایشات RFLP به ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR، ۱۰ واحد آنزیم AvaI، پنج میکرولیتر از بافر مربوطه و ۱۰ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز اضافه شد و به‌مدت یک شب در دمای ۳۷ °C قرار داده شدند. برای الکتروفورز محصولات PCR و قطعات RFLP از ژل آگاروز و رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد. قطعات مربوط به پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در آگاروز ۲/۵ درصد الکتروفورز شدند و با UV Transilluminator (Intas, Germany) بررسی گردیدند.

تحلیل آماری یافته‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SPSS ویراست ۱۶ انجام گرفت. اطلاعات کمی به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار ارایه گردیده است. تفاوت‌های آماری بین پارامترهای پلاسمای خون با استفاده از آزمون Independent sample t-test محاسبه شد. مقایسه فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها بین بیماران با گروه شاهد با استفاده از آزمون χ^2 انجام شد. برای مقایسه میانگین غلظت لیپیدها و فعالیت CETP در میان ژنوتیپ‌های مختلف از آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده گردید. P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار منظور گردید.

یافته‌ها

مقایسه خصوصیات بالینی و بیوشیمیایی دو گروه کنترل و بیماران هیپرلیپیدمی اولیه نشان داد دو گروه از نظر شاخص توده بدنی (BMI)، سن و جنس اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند. کلسترول، تری‌گلیسرید و LDL-C در گروه هیپرلیپیدمی اولیه به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (در مقایسه بین گروه‌ها P<۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد) (جدول- ۱).

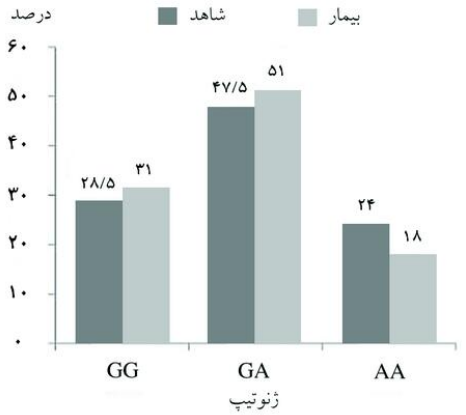
[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

جدول- ۱: مقایسه ویژگی‌های بالینی بین گروه کنترل و بیمار

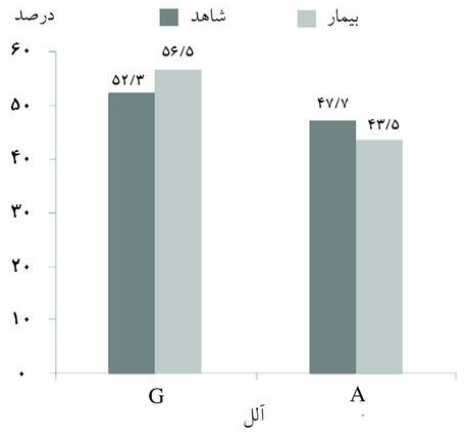
ویژگی	گروه کنترل N=۲۰۰	گروه بیمار N=۲۰۰	P*
سن (سال)	۴۹/۴±۱۲/۹	۵۰/۶±۱۱/۹	NS
جنس (مرد/زن)	۹۵/۱۰۵	۹۸/۱۰۲	NS
BMI (kg/m^2)	۲۵/۵±۵/۹	۲۵/۸±۶/۶	NS
سابقه‌ی خانوادگی (درصد)	۹/۲	۳۷/۴	۰/۰۰۱
کلسترول (mg/dl)	۱۸۴/۸±۳۱/۵	۲۴۸/۹±۴۵/۳	۰/۰۰۱
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۱۳۱/۱±۵۱/۱	۲۸۲/۹±۱۲۱/۳	۰/۰۰۱
HDL-C (mg/dl)	۵۳/۶±۱۰/۹	۴۸/۴±۱۴/۱	۰/۰۰۱
LDL-C (mg/dl)	۱۰۴/۶±۲۵/۹	۱۴۴/۶±۴۰/۴	۰/۰۰۱
CETP (pmoL/μL.h)	۱۰۷/۳±۱۸	۱۴۹/۱±۳۴/۸	۰/۰۰۱

* آزمون آماری: χ^2، P<۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد. NS: Not Significant

BMI: Body Mass Index, HDL-C: High Density Lipoprotein-Cholesterol, LDL-C: Low Density Lipoprotein-Cholesterol, CETP: Cholesteryl Ester Transfer Protein



نمودار- ۱: فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- پروموتور ژن CETP در گروه کنترل و بیمار (P>۰/۰۵).



نمودار- ۲: فراوانی آلل‌های پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- پروموتور ژن CETP در گروه کنترل و بیمار (P>۰/۰۵).

پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- از جایگزینی G/A در ناحیه پروموتور ژن CETP ایجاد می‌گردد. الکتروفورز محصول هضم‌شده با آنزیم محدودساز AvaI روی آگارز ۲/۵٪ انجام شد. آلل G (۹۷۱G-) دارای جایگاه شکست برای آنزیم محدودساز AvaI می‌باشد، در صورتی‌که آلل A (۹۷۱A-) فاقد این جایگاه است.[۲۰] برای ژنوتیپ GG سه قطعه ۱۹۱، ۷۱ و ۷۲، ژنوتیپ GA چهار قطعه ۱۹۱، ۱۴۲، ۷۱ و ۷۲ و در نهایت برای ژنوتیپ AA دو قطعه ۱۹۱ و ۱۴۲ جفت‌بازی مشاهده می‌شود.

فراوانی آللی و توزیع ژنوتیپ‌ها در نمودارهای- ۱ و ۲ نشان داده شده است. فراوانی ژنوتیپ‌های AA، AG و GG در گروه کنترل به‌ترتیب ۲۴٪، ۴۷/۵٪ و ۲۸/۵٪ و در گروه بیمار به‌ترتیب ۱۸٪، ۵۱٪ و ۳۱٪ بود. فراوانی آلل A در گروه کنترل ۴۷/۷٪ و در گروه بیمار ۴۳/۵٪ به‌دست آمد.

مقایسه ویژگی‌های بالینی جمعیت مورد مطالعه در سه ژنوتیپ AA، AG و GG پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- پروموتور ژن CETP گروه بیماران در جدول- ۲ نشان داده شده است. در گروه هیپرلیپیدمی اولیه میزان HDL-C و کلسترول در ژنوتیپ AA در مقایسه با ژنوتیپ GG اختلاف معنی‌داری دارد. سایر ویژگی‌ها در گروه کنترل و هیپرلیپیدمی اولیه هیچ اختلاف معنی‌داری ندارند. نتایج حاصل از مطالعه میانگین فعالیت CETP پلاسما در سه ژنوتیپ AA، AG و GG پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در گروه هیپرلیپیدمی اولیه در جدول- ۲ ارایه شده است. میانگین فعالیت CETP پلاسما در سه ژنوتیپ مورد نظر اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۱).

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

جدول- ۲: مقایسه ویژگی‌های بالینی ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در گروه بیماران هیپرلیپیدمی اولیه

ژنوتیپ‌ها / ویژگی‌ها	GG N=۶۳	GA N=۹۹	AA N=۳۸	P
سن (سال)	۵۱/۲±۱۲/۶	۵۱/۵±۱۲	۵۲/۳±۱۱/۷	NS
کلسترول (mg/dl)	۲۳۷/۸±۵۱/۸	۲۳۱/۹±۴۴/۳	۲۵۸±۳۷/۷	۰/۰۴۹
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۲۸۲/۲±۱۱۶/۳	۲۹۵/۷±۱۳۹/۶	۲۵۱/۲±۹۷/۳	NS
HDL-C (mg/dl)	۵۴/۳±۱۲/۱	۵۴/۷±۱۳/۹	۶۶/۹±۱۲/۶	۰/۰۰۱
LDL-C (mg/dl)	۱۳۳/۶±۴۳/۱	۱۲۵/۹±۴۰/۴	۱۴۴/۴±۳۶/۵	NS
VLDL (mg/dl)	۴۹/۶±۱۹/۱	۵۰/۹±۱۸/۸	۴۵/۸±۱۴/۴	NS
LDL-C/HDL-C	۲/۴۴±۰/۵۵	۲/۳±۰/۵۹	۲/۱۶±۰/۵۴	NS
CETP (pmoL/µL.h)	۱۵۵/۴±۳۴/۸	۱۵۶/۹±۳۴/۲	۱۲۳/۷±۲۳/۵	۰/۰۰۱

* آزمون آماری: χ^2، P<۰/۰۵ معنی‌دار می‌باشد.

NS: Not Significant

HDL-C: High Density Lipoprotein-Cholesterol, LDL-C: Low Density Lipoprotein-Cholesterol, VLDL: Very Low Density Lipoprotein, CETP: Cholesteryl Ester Transfer Protein

بحث

در حال حاضر نیمی از موارد از بیماری عروق کرونر به اختلالات لیپید خون مربوط می‌شود. مطالعات دهه اخیر در ایران حاکی از افزایش میزان بروز هیپرلیپیدمی، چاقی و بیماری قلبی- عروقی می‌باشد.[۳و۴] از زمان کشف پروتیین CETP و تعیین آن به‌عنوان یک تعدیل‌کننده میزان HDL-C، مطالعات بسیاری درباره نقش این پروتیین در بیماری‌های انسانی انجام شده است.[۲۶و۲۷] در این مطالعه ارتباط پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- پروموتور ژن CETP با بیماری هیپرلیپیدمی اولیه و فراوانی پلی‌مورفیسم فوق در گروه کنترل و در بیمار را بررسی نمودیم. هم‌چنین ارتباط هر یک از این تغییرات ژنتیکی با الگوی لیپیدی سرم در گروه کنترل و بیماران مورد ارزیابی قرار گرفت.

در مطالعه حاضر فراوانی ژنوتیپ‌ها و آلل‌ها بین دو گروه کنترل و بیمار اختلاف معنی‌داری نداشت. در مطالعه Le Goff، که بر روی یک جمعیت از بلفاست و گلاسکو و در دو گروه کنترل و بیمار MI انجام شد، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها بین دو جمعیت ذکر شده و هم‌چنین بین دو گروه بیمار (MI) و کنترل، مشاهده نگردید. در مطالعه Le Goff در گروه کنترل، فراوانی آلل G ۵۱ درصد و فراوانی آلل A ۴۹ درصد و در گروه بیمار، فراوانی آلل G ۵۴ درصد و فراوانی آلل A ۴۶ درصد مشاهده گردید.[۲۰] در مطالعه‌ای که روی مردان ژاپنی صورت گرفت فراوانی آلل G ۷۴ درصد و فراوانی آلل A ۲۶ درصد گزارش گردید، در حالی‌که فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GA و AA به‌ترتیب ۵۴/۳ درصد، ۳۹ درصد و ۶/۷ درصد بود.[۲۸]

در مطالعه‌ی دیگری که در سال‌های ۲۰۰۰-۱۹۹۸ در ایالت واشنگتن غربی انجام شد، بین فراوانی آلل و ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم در دو گروه کنترل و بیمار (Non- fetal MI) هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید.[۲۹]

با مقایسه نتایج حاصل از مطالعات متفاوت در مورد فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های این پلی‌مورفیسم مشخص می‌شود که در هیچ مطالعه‌ای تفاوت معنی‌داری بین گروه شاهد و بیمار دیده نشده است. از طرف دیگر در اکثر جمعیت‌ها ژنوتیپ GA و آلل G به‌عنوان ژنوتیپ و آلل غالب (Major) معرفی شده‌اند.[۲۰و۲۹] نتایج مطالعه ما نیز با این یافته‌ها سازگاری دارد. در مطالعه حاضر فراوانی آلل G در گروه کنترل ۵۲/۳ درصد و در گروه هیپرلیپیدمی اولیه ۵۶/۵ درصد بود، در حالی‌که فراوانی ژنوتیپ GA در دو گروه کنترل و بیمار به‌ترتیب ۴۷/۵ درصد و ۵۱ درصد به‌دست آمد، که بالاترین میزان ژنوتیپ‌ها را در هر دو گروه تشکیل می‌داد. در مطالعه حاضر مشخص گردید که پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در ناحیه پروموتور ژن CETP با HDL-C و

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

فعالیت CETP در ارتباط می‌باشد. در مطالعه حاضر میانگین فعالیت CETP پلاسما در سه ژنوتیپ AA، AG و GG تغییر G/A ۹۷۱- مقایسه شد. میانگین فعالیت CETP پلاسما در سه ژنوتیپ مورد نظر اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۰۱). در بسیاری از مطالعات دیگر نیز ثابت شده که واریانت‌های ژن CETP با غلظت و یا فعالیت CETP و هم‌چنین HDL-C در ارتباط می‌باشد.[۳۰و۳۱]

در مطالعه Le Goff نشان داده شده که پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در ناحیه پروموتور ژن CETP با HDL-C در ارتباط می‌باشد. افراد واجد ژنوتیپ AA بالاترین میزان HDL-C (۵۱/۳±۰/۸mg/dl) و افراد دارای ژنوتیپ GG دارای کم‌ترین مقدار HDL-C (۵۱/۳±۰/۸mg/dl) می‌باشند (P=۰/۰۰۶). در همین مطالعه مشخص شده که این پلی‌مورفیسم با غلظت پلاسمایی CETP در ارتباط می‌باشد. مشاهده شده است که ژنوتیپ GG در مقایسه افراد با ژنوتیپ AA، CETP بالاتری دارند (۲۲۰۴±۷۲µg/l در مقابل ۱۹۷۲±۷۹µg/l) (P=۰/۰۰۹۴).[۲۰]

تصور بر این است که غلظت CETP با فعالیت این پروتیین در ارتباط باشد.[۲۰] از طرف دیگر ثابت شده فعالیت پلاسمایی CETP دارای یک رابطه معکوس با میزان HDL-C پلاسمایی باشد. نتایج ما نیز با این یافته‌ها سازگار می‌باشد، به‌عنوان مثال افراد واجد ژنوتیپ GG دارای بالاترین فعالیت CETP و کم‌ترین میزان HDL-C می‌باشند.

مکانیسم اثر این پلی‌مورفیسم روی فعالیت CETP و میزان HDL-C به‌طور دقیق مشخص نشده است. در حال حاضر دو فرضیه وجود دارد: ۱- اثر مستقیم این پلی‌مورفیسم روی پارامترهای مذکور و ۲- تعامل بین این پلی‌مورفیسم با سایر پلی‌مورفیسم‌های موجود در پروموتر ژن CETP. ارزیابی و بررسی تعامل بین این پلی‌مورفیسم (G/A ۹۷۱-) با سایر پلی‌مورفیسم‌های عملکردی شناخته شده در این ناحیه از CETP (یعنی C/A ۶۲۹- و Taq1B)، نشان داده که اثر این پلی‌مورفیسم روی HDL-C تا حدود زیادی مربوط به تعامل این پلی‌مورفیسم با دو پلی‌مورفیسم دیگر می‌باشد، در حالی‌که در مورد اثر این پلی‌مورفیسم روی CETP چنین چیزی صادق نمی‌باشد.[۲۰] این مطالعات In vitro نشان داده که این پلی‌مورفیسم بر روی فعالیت رونویسی پروموتور این ژن هیچ‌گونه تاثیری ندارد. تمام این نتایج وجود یک پلی‌مورفیسم عملکردی ناشناخته در ژن CETP را پیشنهاد می‌نماید.[۲۰] اما در سال ۲۰۰۵ همین گروه نتایج متضادی را به‌دست آوردند و نشان دادند که این پلی‌مورفیسم در مطالعات In vitro نیز بر روی فعالیت رونویسی اثر می‌نماید و بنابراین آن را یک پلی‌مورفیسم عملکردی معرفی نمودند.[۲۱]

بسیاری از مطالعات ارتباط بین هاپلوتیپ‌های CETP و تغییر در غلظت یا فعالیت CETP و هم‌چنین تغییر در غلظت‌های HDL-C را بررسی و به اثبات رسانده‌اند. اگر چه در برخی موارد نتایج حاصل از این‌گونه مطالعات (مطالعه ارتباط بین هاپلوتیپ‌ها) با نتایج حاصله از آنالیز و بررسی‌های پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی به‌صورت منفرد و مجزا، مشابه می‌باشد، ولی سایر مطالعات یک ارتباط قوی‌تری را بین هاپلوتیپ‌های CETP و تغییر در سطوح HDL-C در مقایسه با آنالیز پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی گزارش نموده‌اند که این موضوع سودمندی آنالیز و بررسی هاپلوتیپ‌ها برای بررسی SNPs را به اثبات می‌رساند.[۲۸و۲۹]

در دیس لیپیدمی‌های مختلف انسان مانند هیپرکلسترولمی که با تسریع آترواسکلروز در ارتباط هستند، غلظت CETP و سرعت انتقال CE از HDL به لیپوپروتیین‌های حاوی آپو B افزایش می‌یابد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که در افراد هیپرکلسترولمی، CETP به‌واسطه افزایش تجمع کلسترول در لیپوپروتیین‌های محتوی آپو B، پروآتروژنیک باشد.[۳۲] نتایج مطالعات نشان می‌دهد که در افراد مبتلا به هیپرتری‌گلیسریدمی افزایش غلظت و تعداد ذرات VLDL معمولاً با افزایش سرعت انتقال کلسترول استر از HDL به VLDL همراه می‌باشد. در این دیس لیپیدمی آتروژنیک، CETP پلاسما فاکتور محدودکننده واکنش انتقال کلستریل استر می‌باشد.[۳۳و۳۴] به‌علت افزایش انتقال کلستریل استر از HDL به VLDL و به‌ویژه به ذرات VLDL1 بزرگ، به‌نظر می‌رسد که CETP در این بیماران به‌عنوان یک فاکتور پروآتروژنیک عمل نماید. در حقیقت در اثر فعالیت CETP در این بیماران، VLDL1 به‌سرعت غنی از کلسترول استر می‌گردد، در نتیجه پیش‌سازهای ذرات LDL کوچک و متراکم را فراهم می‌نماید.[۳۵]

در مطالعه دیگری که ما روی پلی‌مورفیسم C>A ۶۲۹- این ژن انجام دادیم احتمال تعامل این دو پلی‌مورفیسم (C>A ۶۲۹- و G/A ۹۷۱-) مطرح شده است که برای اثبات آن به مطالعات بیش‌تری نیاز می‌باشد.[۳۶] در مطالعه حاضر ارتباط عمده‌ای بین فعالیت CETP و سایر لیپیدها و لیپوپروتیین‌ها مشاهده نگردید. علت این تفاوت‌ها کاملاً مشخص نیست ولی می‌تواند به دلایل گوناگون مانند تفاوت در حجم

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

نمونه مطالعات مختلف، معیارهای انتخاب نمونه‌های کنترل و بیمار، عوامل محیطی، فاکتورهای منطقه‌ای، نژادی و قومیتی و سبک زندگی باشد. نتایج ما نشان داد که پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- در پروموتور ژن CETP می‌تواند الگوی لیپیدی و فعالیت CETP را در جمعیت مورد مطالعه تحت تاثیر قرار دهد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی تحت عنوان "مقایسه فراوانی پلی‌مورفیسم G/A ۹۷۱- پروموتور ژن کلسترول استر ترانسفر پروتیین (CETP) در افراد هیپرلیپیدمی اولیه با افراد سالم و ارتباط آن با الگوی لیپیدی" مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان در سال ۱۳۸۷ به کد ۸۷۰۲۱۰۱۷۴۷۲ می‌باشد که با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان انجام گردیده است. نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از این نهاد اعلام می‌دارند.

References

1. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349(9064):1498-504.
2. Rosamond WD, Chambless LE, Folsom AR, Cooper LS, Conwill DE, Clegg L, et al. Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease, 1987 to 1994. *N Engl J Med* 1998;339(13):861-7.
3. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 2000;894:i-xii, 1-253.
4. Sarraf-Zadegan N, Sayed-Tabatabaei FA, Bashardoost N, Maleki A, Totonchi M, Habibi HR, et al. The prevalence of coronary artery disease in an urban population in Isfahan, Iran. *Acta Cardiol* 1999;54(5):257-63.
5. Ghassemi H, Harrison G, Mohammad K. An accelerated nutrition transition in Iran. *Public Health Nutr* 2002;5(1A):149-55.
6. Hadaegh F, Harati H, Ghanbarian A, Azizi F. Prevalence of coronary heart disease among Tehran adults: Tehran Lipid and Glucose Study. *East Mediterr Health J* 2009;15(1):157-66.
7. Kromhout D. Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. *Public Health Nutr* 2001;4(2B):441-57.
8. Stamler J, Dyer AR, Shekelle RB, Neaton J, Stamler R. Relationship of baseline major risk factors to coronary and all-cause mortality, and to longevity: findings from long-term follow-up of Chicago cohorts. *Cardiology* 1993;82(2-3):191-222.
9. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *Am J Cardiol* 1996;77(14):1179-84.
10. Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res* 2004;95(8):764-72.
11. Barter PJ, Brewer HB Jr, Chapman MJ, Hennekens CH, Rader DJ, Tall AR. Cholesteryl ester transfer protein: a novel target for raising HDL and inhibiting atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23(2):160-7.
12. Barter PJ, Chang LB, Newnham HH, Rye KA, Rajaram OV. The interaction of cholesteryl ester transfer protein and unesterified fatty acids promotes a reduction in the particle size of high-density lipoproteins. *Biochim Biophys Acta* 1990;1045(1):81-9.
13. Agellon LB, Quinet EM, Gillette TG, Drayna DT, Brown ML, Tall AR. Organization of the human cholesteryl ester transfer protein gene. *Biochemistry* 1990;29(6):1372-6.
14. Callen DF, Hildebrand CE, Reeders S. Report of the Second International Workshop on Human Chromosome 16 Mapping. Cytogenet *Cell Genet* 1992;60(3-4):158-67.
15. Wang S, Deng L, Milne RW, Tall AR. Identification of a sequence within the C-terminal 26 amino acids of cholesteryl ester transfer protein responsible for binding a neutralizing monoclonal antibody and necessary for neutral lipid transfer activity. *J Biol Chem* 1992;267(25):17487-90.
16. Lagrost L. Regulation of cholesteryl ester transfer protein (CETP) activity: review of in vitro and in vivo studies. *Biochim Biophys Acta* 1994;1215(3):209-36.
17. Bruce C, Davidson WS, Kussie P, Lund-Katz S, Phillips MC, Ghosh R, et al. Molecular determinants of plasma cholesteryl ester transfer protein binding to high density lipoproteins. *J Biol Chem* 1995;270(19):11532-42.
18. Fukasawa M, Arai H, Inoue K. Establishment of anti-human cholesteryl ester transfer protein monoclonal antibodies and radioimmunoassaying of the level of cholesteryl ester transfer protein in human plasma. *J Biochem* 1992;111(6):696-8.
19. Goldberg DI, Beltz WF, Pittman RC. Evaluation of pathways for the cellular uptake of high density lipoprotein cholesterol esters in rabbits. *J Clin Invest* 1991;87(1):331-46.
20. Le Goff W, Guerin M, Nicaud V, Dachet C, Luc G, Arveiler D, et al. A novel cholesteryl ester transfer protein promoter polymorphism (-971G/A) associated with plasma high-density lipoprotein cholesterol levels. Interaction with the TaqIB and -629C/A polymorphisms. *Atherosclerosis* 2002;161(2):269-79.
21. Frisdal E, Klerkx AH, Le Goff W, Tanck MW, Lagarde JP, Jukema JW, et al. Functional interaction between -629C/A, -971G/A and -1337C/T polymorphisms in the CETP gene is a major determinant of promoter activity and plasma CETP concentration in the REGRESS Study. *Hum Mol Genet* 2005;14(18):2607-18.
22. Azizi F, Salehi P, Etemadi A, Zahedi-Asl S. Prevalence of metabolic syndrome in an urban population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2003;61(1):29-37.
23. Azizi F, Raiszadeh F, Salehi P, Rahmani M, Emami H, Ghanbarian A, et al. Determinants of serum HDL-C level in a Tehran urban population: the Tehran Lipid and Glucose Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2002;12(2):80-9.
24. Ghasabeh TH, Firoozrai M, Zonouz AE, Radmehr H, Zavarehee A, Paoli M. One common polymorphism of cholesteryl ester transfer protein gene in Iranian subjects with and without primary hypertriglyceridemia. *Pak J Biol Sci* 2007;10(23):4224-9.
25. Hassanzadeh T, Firoozrai M, Zonouz AE, Zavarehee A, Paoli M. Taq1B polymorphism of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in primary combined hyperlipidaemia. *Indian J Med Res* 2009;129(3):293-8.
26. Kuivenhoven JA, de Knijff P, Boer JM, Smalheer HA, Botma GJ, Seidell JC, et al. Heterogeneity at the CETP gene locus. Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(3):560-8.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

27. Wu JH, Lee YT, Hsu HC, Hsieh LL. Influence of CETP gene variation on plasma lipid levels and coronary heart disease: a survey in Taiwan. *Atherosclerosis* 2001;159(2):451-8.
28. Lu H, Inazu A, Moriyama Y, Higashikata T, Kawashiri MA, Yu W, et al. Haplotype analyses of cholesteryl ester transfer protein gene promoter: a clue to an unsolved mystery of TaqIB polymorphism. *J Mol Med (Berl)* 2003;81(4):246-55.
29. Meiner V, Friedlander Y, Milo H, Sharon N, Ben-Avi L, Shpitzen S, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) genetic variation and early onset of non-fatal myocardial infarction. *Ann Hum Genet* 2008;72(Pt 6):732-41.
30. Ghasabeh TH, Firoozrai M, Zonouz AE, Radmehr H, Zavarehee A, Paoli M. Association between cholesteryl ester transfer protein Taq1B polymorphism with lipid levels in primary hyperlipidemic patients. *Eur J Lipid Sci Technol* 2008;110:225-31.
31. Barkhordari A, Hassanzadeh T, Saidijam M, Esmaeili R, Paoli M. Association between cholestryl ester transfer protein D442G polymorphism on serum lipid levels and CETP activity in hypercholesterolemic patients. *Tehran Univ Med J (TUMJ)* 2012;69(12):737-43.
32. McPherson R, Mann CJ, Tall AR, Hogue M, Martin L, Milne RW, et al. Plasma concentrations of cholesteryl ester transfer protein in hyperlipoproteinemia. Relation to cholesteryl ester transfer protein activity and other lipoprotein variables. *Arterioscler Thromb* 1991;11(4):797-804.
33. Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1991;88(6):2059-66.
34. Guérin M, Bruckert E, Dolphin PJ, Chapman MJ. Absence of cholesteryl ester transfer protein-mediated cholesteryl ester mass transfer from high-density lipoprotein to low-density lipoprotein particles is a major feature of combined hyperlipidaemia. *Eur J Clin Invest* 1996;26(6):485-94.
35. Packard CJ, Shepherd J. Lipoprotein heterogeneity and apolipoprotein B metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(12):3542-56.
36. Akbarzadeh M, Hassanzadeh T, Saidijam M, Esmaeili R, Borzouei S, Hajilooi M, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) -629C/A polymorphism and it(,)s effects on the serum lipid levels in metabolic syndrome patients. *Mol Biol Rep* 2012.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]

TUMJ Tehran University Medical Journal, October 2012; Vol. 70, No. 7: 393-401 Original Article

Association of -971 G/A cholesteryl-ester transfer protein gene polymorphism with lipid profile in primary hyperlipidemia

Taghi Hassanzadeh Ph.D.[1,2*]
Asgar Barkhordari M.Sc.[2]

1- Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.
2- Department of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

[*] Corresponding author: Dept. of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Shahid Fahmideh St., Hamadan, Iran.
Tel: +98-811-8380462
E-mail: hassanzadeh@umsha.ac.ir

Abstract

Received: October 03, 2011 Accepted: August 01, 2012

Background: Coronary heart disease (CHD) is a leading cause of death worldwide and hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia are major risk factors for the disease. Considering the role of hyperlipidemia as the underlying cause of cardiovascular mortalities and morbidities, and the limited and conflicting results of studies on CETP gene polymorphisms in Iran, we aimed to study -971 G/A polymorphism of cholesterol ester transfer protein gene in patients with primary hyperlipidemia.

Methods: In this case-control study performed in Hamadan University of Medical Sciences (from May 2010 to April 2011), we recruited 200 patients with primary hyperlipidemia (total cholesterol >250 mg/dl and/or triglyceride >200 mg/dl) as the cases and 200 healthy individuals with normal cholesterol and triglyceride as the control group. Gene segments were replicated by polymerase chain reaction (PCR) and -971 G/A polymorphism genotypes were identified by RFLP technique. Subsequently, plasma CETP activity was measured enzymeatically by a kit in a fluorescence spectrometer.

Results: The allele and genotype frequencies were not significantly different (P>0.05) between the two groups (in the control group: AA 24%, GA 47% and GG 28.5% and in the case group: AA 18%, GA 51% and GG 31%). In the case group, homozygous individuals with A alleles (AA genotype) had greater cholesterol and HDL-c concentrations than those with other alleles (GG and GA). In both cases and controls, individuals with AA genotype had lower CETP concentrations.

Conclusion: We conclude that -971 G/A polymorphism in CETP gene promoter can affect lipid profile and alter CETP activity.

Keywords: cholesteryl ester transfer protein, hyperlipidemia, polymorphism.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-06-18]