بررسی پلی‌مورفیسم ژنهای آپولیپوپروتئین‌های AI و CIII در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونر

*دکتر محسن فیروزرای I
دکتر عبدالوهاب احسانی II
بهنوش حسابی III
سیما خردمندکیا IV

چکیده

پلی‌مورفیسم‌های متعددی در مجموع ژنی آپولیپوپروتئین‌های AIV، CIII، AI مشخص شده است. شواهد زیادی در دست است که نشان می‌دهد تغییرات ژنتیکی در ژنهای آپولیپوپروتئین‌های AI و CIII بر ابتلا به هیپرتری‌گلیسیریدمی و بیماری گرفتگی رگهای کرونر (CAD) موثر است. این مطالعه جهت نشان دادن ارتباط میان RFLPها در ژنهای کنار هم آپولیپوپروتئین‌های AI و CIII و بیماری گرفتگی عروق کرونر در بیماران ایرانی انجام شد. مکانهای پلی‌مورفیک MSPI در ناحیه پروموتر ژن آپولیپوپروتئین AI(جابجایی G-۷۸A) و مکان SSTI در ناحیه غیرقابل ترجمه ۳ ژن آپولیپوپروتئین CIII(جابجایی G۳۱۷۵C) قرار دارد. ژنوم کامل DNA از خون تام ٤٦ نفر بیمار هیپرلیپیدمیک و ٣٦ نفر فرد سالم با میزان لیپیدهای طبیعی خون تهیه گردید. تکثیر قطعه ۲۸۵ جفت باز ناحیه غیرقابل ترجمه ۳ ژن آپولیپوپروتئین CIII و قطعه ۳۵۵ جفت باز ناحیه پروموتر ژن آپولیپوپروتئین AI با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) و توسط پرایمرهای ویژه انجام گردید. توزیع ژنوتیپی و فراوانی آلل‌های مربوط به پلی‌مورفیسم MSPI ژن آپولیپوپروتئین AI و پلی‌مورفیسم SSTI ژن آپولیپوپروتئین CIII تعیین و میان افراد بیمار و سالم مقایسه گردید. با وجود تفاوت معنی‌دار غلظت لیپیدهای پلاسمایی میان افراد سالم و بیمار ارتباطی میان هر یک از پلی‌مورفیسم‌ها با بیماری گرفتگی عروق کرونر به دست نیامد. این عدم ارتباط برای فراوانی آلل‌ها و توزیع ژنوتیپها در زنان و مردان دیده شد.

کلیدواژه‌ها: ۱ – پلی‌مورفیسم ۲ – ژن آپولیپوپروتئین AI ۳ – ژن آپولیپوپروتئین CIII ۴ – هیپرتری گلیسریدمی ۵ – بیماری عروق کرونر قلب

مقدمه

عوامل موثر بر بروز بیماریهای عروق کرونر شامل دیابت ملیتوس، پرفشاری خون، کشیدن سیگار، روش زندگی و دیس‌لیپیدمی می‌باشد. مطالعات مختلف تغییرات ژنتیکی در مجموعه ژنهای آپولیپوپروتئینهای AIV.CIII.AI و لیپوپروتئین لیپاز را در افزایش تری‌گلیسرید و کاهش HDL دخیل می‌دانند(۱و ۲). محصولات مجموعه خوشه‌ای ژنهای آپولیپوپروتئینهای AIV.CIII.AI عمده‌ترین بخش پروتئینی ذرات HDL

این مقاله در ششمین کنگره بیوشیمی در تهران سال ۱۳۸۰ ارائه شده است. همچنین این مطالعه تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است(کد:۱۹۳).

I) دانشیار گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، بزرگراه همت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران(*مولف مسئول).
II) استادیار گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
III) کارشناس ارشد ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.
IV) کارشناس ارشد ژنتیک، مربی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ایران، تهران.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

می‌باشند. ژن آپولیپوپروتئین CIII در اگزون ٤ خود محل اثر آنزیم محدودگر SSTI دارد که با جابجایی G۳۱۷۵ با C؛ محل اثر آنزیم شکل می‌گیرد.

در پروموتر ژن آپولیپوپروتئین AI نیز محل اثر برای آنزیم محدودگر MspI وجود دارد.

محل اثر آنزیم MspI با تعویض G-۷۵ با A از بین می‌رود.

نشان داده شده است که این تغییر می‌تواند منجر به هیپرتری گلیسیریدمی و گرفتگی عروق کرونر شود.

مطالعات RFLPs در ژنهای مجموعه آپولیپوپروتئینهای AIV.CIII.AI در نژادها و اقوام مختلف انجام شده است.

در سفیدپوستان اروپایی که مبتلا به هیپرتری گلیسیریدمی هستند؛ فراوانی تعویض G با C در مقایسه با افراد با میزان تری‌گلیسیرید طبیعی افزایش معنی‌داری را نشان داده بود(۳).

این تفاوت در عرب‌ها، ژاپنی‌ها، چینی‌ها و فنلاندی‌ها نیز گزارش شده است(۸-٤).

در این مطالعه با توجه به ارتباط تغییرات ژنتیکی در مجموعه خوشه‌ای ژنهای آپولیپوپروتئینهای AIV.AIII.AI با هیپرتری‌گلیسیریدمی و بروز بیماریهای عروق کرونر قلب، پلی‌مورفیسم ژنهای CIII و AI برای اولین بار در بیماران ایرانی مراجعه کننده به مرکز آموزشی و درمانی قلب شهید رجایی تهران مورد بررسی قرار گرفت. High Density Lipoprotein Cholesterol(HDL-c)، Low Density Lipoprotein cholesterol(LDL-c)، Very Low Density Lipoprotein Cholesterol(VLDL-c).

روش بررسی

در این مطالعه که از نوع مطالعه مقطعی ـ مقایسه‌ای بود، ۸۲ نفر که همگی در محدوده سنی ٦۷-٤۷ سال بودند بررسی شدند.

از این تعداد ٤٦ نفر بیمار (۳۵ مرد و ۱۱ زن) مبتلا به هیپرتری‌گلیسیریدمی و گرفتگی عروق کرونر بودند که به مرکز آموزشی درمانی قلب شهید رجایی تهران مراجعه کرده بودند.

غلظت تری‌گلیسیرید خون تمام بیماران بیش از ۲/۲٦ میلی‌مول در لیتر وگرفتگی عروق کرونر آنها توسط آنژیوگرافی تأیید شده بود.

بیماران مبتلا به دیابت قندی و هیپرلیپیدمی ثانویه درمطالعه وارد نمی‌شدند. ۳٦ نفر فرد سالم (۲۷ مرد و ۹ زن) نیز که غلظت لیپیدها و قند سرم خون آنها طبیعی بوده و سابقه بیماری قلبی عروقی نداشتند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند.

از بیماران به صورت ناشتا و قبل از رفتن به اتاق عمل برای آنژیوگرافی، ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته می‌شد سپس ۵ میلی‌لیتر از این نمونه‌ها در ویالهای شیشه‌ای حاوی ماده ضد انعقاد ریخته می‌شد تا جهت بررسی ژنتیکی DNA استفاده گردد و ۵ میلی‌لیتر نیز در لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد ریخته می‌شد تا جهت اندازه‌گیری قند و لیپیدهای سرم خون مورد استفاده قرار گیرد.

اندازه‌گیری قند، تری‌گلیسیرید و کلسترول پس از گرفتن نمونه خون در آزمایشگاه مرکز قلب شهید رجایی و با استفاده از کیتهای پارس آزمون و دستگاه اتو آنالیزور cobas mira انجام گردید.

اندازه‌گیری قند، تری‌گلیسیرید و کلسترول تام با روشهای آنزیمی و اندازه‌گیری HDL– کلسترول بر اساس رسوب سرم با سولفات دکستران ویون منگنز انجام شد.

مقدار کمی از سرم نیز از هر نمونه برای انجام الکتروفورز لیپوپروتئین‌های خون برداشت می‌شد.

استخراج DNA ژنومی: با استفاده از کیت Rapid prep(Pharmacia Biotech) و با روش کروماتوگرافی تعویض روی ۵ میلی‌لیتر خون تام انجام شد نمونه خون هر فرد با بافر لیز کننده تریس HCL با PH=۵/۷ حاوی سوکروز؛ MgCl۲؛ ترایتون x-۱۰۰ و کاتون؛ روی یخ مخلوط و بهم زده می‌شد پس از ۵ دقیقه مخلوط کردن، به مدت ۱۵ دقیقه با دور g۱۰۰۰ در دمای

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

صفر درجه سانتیفوژ می‌گردید. پس از شستشوی رسوب با همان بافر لیز کننده؛ برای خارج کردن DNA از هسته روی رسوب حاصل، بافر تریس حاوی گوانیدیوم ایزوتیوسیانات غلیظ می‌شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد انکوبه می‌گردید سپس جهت جدا کردن DNA از ناخالصی‌ها مخلوط به دست آمده به ستونهای محتوی رزین تعویض کننده آنیون اضافه می‌شد و با سر و ته نمودن ستونها محتویات بخوبی مخلوط می‌گردید. سپس ستون چند بار با بافر شستشو داده می‌شد تا ناخالصی‌ها خارج گردد.

با افزودن بافر جدا کننده به ستونها و سانتریفوژ نمودن آنها DNA متصل به رزین جدا می‌شد. با افزودن ۳ میلی‌لیتر ایزوپروپانل خالص به DNA جدا شده و انکوبه کردن به مدت ۱۰ دقیقه، مخلوط ۱/۵ ساعت با دور ۱۰۰۰g سانتریفوژ می‌شد تا DNA رسوب نماید.

سپس رسوب DNA با ۲۰۰ میکرولیتر بافر TE(تریس HCL ۱۰mM؛ EDTA۱ml و pH=۷/٤) کاملاً حل می‌شد.

برای اطمینان از خالص بودن DNA استخراج شده؛ جذب آن در طول موج ۳٦۰ نانومتر و ۲۸۰ نانومتر توسط دستگاه Gene Quant اندازه‌گیری و نسبت A۲٦۰/A۲۸۰ محاسبه می‌گردید.

DNA ژنومی تهیه شده روی آگارز ۰/۸٪ الکتروفورز شده و جهت دیدن آن از اتیدیوم بروماید و نور ماورای بنفش استفاده شد.

ـ تکثیر پروموترژن apo AI و اگزون ٤ در انتهای ۳ ژن apo CIII: جهت تکثیر پروموترژن apo AI که سایت برش برای آنزیم محدودگر MspI دارد یا تکثیر اگزون چهار ژن apo CIII؛ ۱ تا ۲ میکروگرم DNA ژنومی استخراج شده به مخلوط اولیه حاوی ۱۰۰lu بافر PCR۱۰x؛ ۲۰ml مخلوط dNTPs (دزکسی نوکلئوتیدهای تری فسفات)؛ ۱ul محلول اسپرمیدین و ۸۷۹ul آب مقطر عاری از یون؛ اضافه شد سپس به مخلوط فوق ۲ واحد آنزیم Tag DNA پلیمراز ۰/۱ میلی‌گرم از هر کدام از پرایمرهای مربوط به سایت اثر MspI نیز افزوده گردید و سپس در دستگاه ترموسایکلر گذاشته شد. در ترموسایکلر ابتدا مخلوط فوق ٦ دقیقه تا دمای ۹٤°c گرم می‌شد تا رشته‌های DNA از هم جدا شوند سپس برای تکثیر؛ PCR برای ۳۲ سیکل برنامه‌ریزی می‌گردید؛ برای اطمینان از تکثیر پروموترژن apoAI محصول PCR روی ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز شد.

هضم محصولات PCR با آنزیم MspI؛ SstI: ۲۰ میکروگرم از DNA تکثیر شده با ۵ واحد از آنزیم MspI در بافر انکوباسیون حاوی ۱۰ تریس HCL و ۱۰ میلی‌مول کلرید منیزیوم؛ ۱ میلی‌مول دی‌تیوتریتول با pH=۷/۵ به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷°c انکوبه گردید.

جهت هضم محصولات PCR با آنزیم SstI از بافر انکوباسیون حاوی ۳۳ میلی‌مول تریس استات؛ ٦٦ میلی‌مول استات پتاسیم؛ ۱۰ میلی‌مول استات منیزیوم؛ ۰/۵ میلی‌مول دی‌تیوتریتول با PH=۷/۹ استفاده گردید. ردیف نوکلئوتیدی پرایمرهای مورد استفاده برای تکثیر پروموتر apoAI به صورت: (Sense)'3'-CACCCGGGAGACCTGCAAGC-'5، (anti sense)'3'-CTGGGGCAAGGCCTGAACCT-'5، و پرایمرهای مورد نیاز برای تکثیر اگزون ٤ apoCIII به شکل (Sense)'3' – GGCTGGGTGACCGATGGCTTC -'5، (anti sense) بود. پرایمرها به کمک یک دستگاه Gene assembler special/٤Primer (ساخت شرکت Pharmacia Bioteck) در مرکز تحقیقات علوم سلولی ملکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران سنتز گردید.

ـ الکتروفورز DNA و لیپوپروتئین‌های سرم: الکتروفورز DNA با استفاده از دستگاه الکتروفورز Pharmacia Bioteck (مدل GNA200) به مدت ۲۵ دقیقه روی ژل آکریل آمید انجام شد، باندها جدا شده و با رنگ‌آمیزی silver(دستگاه Hoefer UV20) ظاهر گردید.

الکتروفورز لیپوپروتئینهای سرم روی نوار استات سلولز و در بافر نمک سدیم باربیتات با pH=۸/٤ و با استفاده از دستگاه Helena مدل Rep انجام شد و برای رنگ‌آمیزی

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

لیپوپروتئینهای جدا شده از Fat Red7B حل شده در مخلوط متانول و سود استفاده گردید. پس از تجزیه و تحلیل آماری، نتایج به صورت میانگین ±انحراف معیار نمایش داده شد. از آزمونهای t-Student Chi-squre و آنالیز واریانس برای مقایسه نتایج استفاده گردید. مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار در نظر گرفته شد. حدود اطمینان برای هر یک از فراوانی‌های آللها و ژنوتیپها ۹۵٪ در نظر گرفته شد.

نتایج

غلظت تری‌گلیسرید؛ کلسترول و VLDL– کلسترول سرم خون بیماران نسبت به افراد سالم افزایش معنی‌داری را نشان داد(P<۰/۰۰۰۱). مقدار HDL– کلسترول سرم خون بیماران با P<۰/۰۳ در مقایسه با افراد سالم کاهش داشته است و LDL– کلسترول سرم خون بیماران بطور معنی‌داری بالاتر از افراد سالم بوده است(P<۰/۰۰۸). درصد فراکشن Pre Beta در بیماران بطور معنی‌داری بالاتر از افراد سالم بود در حالی که درصد فراکشن Alpha و Beta در بیماران کاهش معنی‌داری را به ترتیب با P<۰/۰۰۰۱، P<۰/۰۳ و P<۰/۰۰۱ را نشان داد(جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱– مقایسه درصد فراکشن‌های تفکیک شده لیپوپروتئینها در گروههای مورد مطالعه

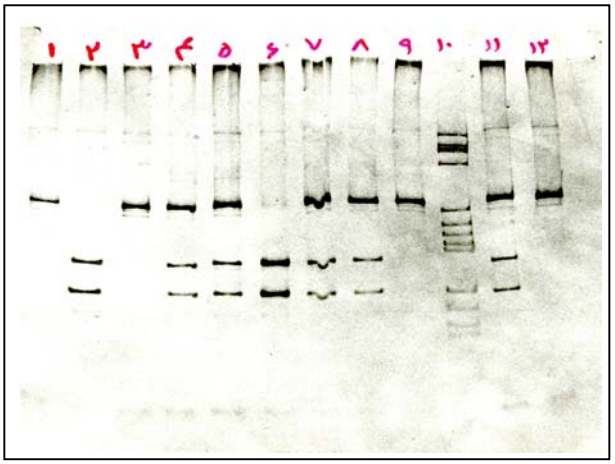
	گروه بیمار		گروه سالم		مقدار P
α– لیپوپروتین (HDL)	۷/۴۲	۲۸/۹۱	۸/۱۱	۳۲/۵۸	۰/۰۳
Preβ– لیپوپروتین (VLDL)	۱۰/۶۳	۳۳/۳۶	۷/۰۱	۲۱/۸۴	۰/۰۰۰۱
β– لیپوپروتین (LDL)	۹/۷۴	۳۷/۳۲	۷/۰۷	۴۵/۷۱	۰/۰۰۱

فراوانی آللهای گروه بیمار در مقایسه با گروه سالم تفاوت معنی‌داری را نشان نداد. چنین عدم تفاوتی هم برای سایت SstI یعنی S۱(آلل معمولی) و نیز S۲(آلل نادر) مشاهده شد(جدول شماره ۲و تصویرهای شماره ۱و ۲).

جدول شماره ۲– مقایسه فراوانی آللها در بیماران و گروه کنترل

	آللهای SstI				آللهای MstI			
	S۱	n	S۲	n	M۱	n	M۲	n
گروه بیمار	۰/۸۱۰	۶۸	۰/۱۹۰	۱۶	۰/۸۶۰	۷۴	۰/۱۴۰	۱۲
گروه سالم	۰/۷۷۱	۵۴	۰/۲۲۹	۱۶	۰/۷۹۷	۵۱	۰/۲۰۳	۱۳

مقایسه توزیع آللهای گروه بیمار با گروه سالم تفاوت آماری معنی دار نشان نمی‌دهد(P>۰/۰۵).



تصویر شماره ۱– الگوی الکتروفورز محصول هضم شده چند نمونه با آنزیم SstI روی ژل آکریل‌آمید ستون ۱۰ مربوط به مارکر و ستون ۹ مربوط به شاهد فاقد آنزیم. ستون ۱ آلل S1S1 و ستون ۲ آلل S2S2 ستون ٤ آلل S1S2 را نشان می‌دهد.

تصویر شماره ۲– الگوی الکتروفورز محصول هضم شده چند نمونه با آنزیم MspI روی ژل آکریل‌آمید. ستون ۷ مربوط به مارکر، ستون ۳ آلل M1M1، ستون ۱و ستون ٤ آلل M2M2 ستون ٥ آلل M1M2، را نشان می‌دهد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

توزیع ژنوتیپی پلی‌مورفیسم سایت MspI و سایت SstI بین بیماران و افراد سالم در جدول شماره ۳ مورد مقایسه قرار گرفته است که در هیچ یک از موارد تفاوتها از نظر آماری معنی‌دار نبوده‌اند.

فراوانی آللها بر حسب شدت گرفتگی عروق کرونر در بیماران با افراد سالم مقایسه گردید که در تمام زیر گروههای با گرفتگی یک، دو یا سه رگ این فراوانی‌ها معنی‌دار نبوده است. غلظت لیپیدهای سرم خون بر حسب ژنوتیپهای مختلف در کل افراد مورد مطالعه در جدول شماره ٤ نشان داده شده است.

مقایسه میانگین غلظت لیپیدها بین ژنوتیپهای مختلف نشان داد که تفاوت معنی‌داری در کل افراد مورد مطالعه با ژنوتیپهای S۱S۱ و S۱S۲ و نیز m۱m۱ و m۲m۲ وجود ندارد.

جدول شماره ۳- توزیع ژنوتیپی بین بیماران و گروه سالم

	ژنوتیپهای SsrI			جمع	ژنوتیپهای MspI			جمع
	S1S1	S2S1	S2S2		M1M1	M2M1	M2M2	
گروه بیمار	۲۷	۱٤	۱	٤۲	۳۲	۱۰	۱	٤۳
درصد	٦٤/۳	۳۳/۳	۲/٤	۱۰۰	۷٤/٤	۲۳/۳	۲/۳	۱۰۰
گروه سالم	۲۰	۱٤	۱	۳٥	۲۰	۱۱	۱	۳۲
درصد	٥۷/۲	٤۰	۲/۸	۱۰۰	٦۲/٥	۳٤/٤	۳/۱	۱۰۰

مقایسه ژنوتیپی گروه بیمار با گروه سالم تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد($P>۰/۰٥$).

جدول شماره ۴- مقایسه لیپیدها و لیپوپروتئینها(mmol/L) و فراکشن‌های لیپوپروتئین‌ها(درصد) در افراد مورد مطالعه بر حسب ژنوتیپهای مختلف

	S1S1	S1S2	m1m1	m1m2
تری‌گلیسرید	۲/۱٥±۰/۹۸	۲/۳۰±۰/۹٤	۲/۳۰±۰/۹۱	۱/۹۸±۰/۱۸
کلسترول	٥/٤٦±۰/۹۲	٥/۲۲±۱/٦	٥/۲٤±۱/۲۰	٥/٦۷±۱/۷٦
HDL-c	۰/۸٦±۰/۲٤	۰/۷۹±۰/۱٦	۰/۸٥±۰/۱۸	۰/۸۷±۰/۳۰
LDL-c	۳/٦٦±۰/۸٦	۳/۳٦±۱/٦	۳/٤۸±۰/۹۹	۳/۸۸±۱/۷٥
VLDL-c	۰/۹۸±۰/٤٥	۱/۰٥±۰/٤۳	۱/۰٥±۰/٤۲	۰/۹۱±۰/٥٥
α-لیپوپروتیین	۳۲/٦۹±۸/۷۹	۲۷/۹±٦/٤	۲۹/٦۹±۸/۰۹	۳۳/۱٥±۸/٦۰
preβلیپوپروتیین	۳۰/٤۰±۱۰/۱۲	۲۸/٤۱±۱۱/۸۳	۳۱/۷٥±۱۱/۰۱	۲۳/۷۱±۹/۳۲
β-لیپوپروتیین	۳٦/۳±۸/۸۷	٤۳/۰۳±۸/۲۲	۳۸/۰۱±۱۰/۷۱	٤۲/۳۲±٦/۹۰

هر کدام از ژنوتیپهای S2S2 و m2m2 تنها در یک نفر از افراد مورد مطالعه مشاهده گردید. مقایسه در تمام ژنوتیپهای SS و mm معنی‌دار نبود.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

بحث

در مجموعه ژنی apo AI-CIII-AIV حداقل ۱۱ پلی‌مورفیسم مورد شناسایی قرار گرفته است که در تعدادی از بررسیها ارتباط برخی از پلی‌مورفیسم‌های موجود در هر یک از این مجموعه با بیماری عروق کرونر(CAD) و هیپرتری‌گلیسیریدمی نشان داده شده است(۹) درحالی که چنین ارتباطی در برخی از بررسیها و روی جمعیتهای خاص مورد تأیید قرار نگرفته است(۱۰).

در این مطالعه سایت پلی‌مورفیک SstI واقع در ژن apo CIII به این دلیل انتخاب شد که تغییرات آن در بسیاری از بررسیها در هیپرتری‌گلیسیریدمی مؤثر گزارش شده بود.

سایت پلی‌مورفیک MspI نیز به این دلیل انتخاب گردید که تغییرات این سایت در غلظت کلسترول -HDL در تعدادی از بررسیها موثر بیان شده بود.

از آنجا که افزایش تری‌گلیسرید همراه با کاهش کلسترول -HDL فاکتور خطر شناخته شده برای ابتلا به بیماری عروق کرونر قلب محسوب می‌گردد، پلی‌مورفیسم‌های مربوط به این دو سایت در جمعیتی از بیماران مبتلا به گرفتگی رگهای قلب و جمعیتی از افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج این بررسی بوضوح نشان داد که سطح لیپیدهای پلاسما بطور معنی‌داری ($P<0/001$) بین ۲ گروه متفاوت می‌باشد اما توزیع ژنوتیپی و فراوانی آلل‌های مربوط به هر دو سایت تفاوت معنی‌داری را بین افراد سالم و بیمار نشان نداد بطور مسلم قبل از آنکه فردی دچار گرفتگی رگ یا رگهای قلب شود در اثر تغییرات ژنتیکی یا در اثر عوامل غیر ارثی مثل رژیم غذایی، مصرف سیگار و مشروبات الکلی، ورزش، روش زندگی یا حالتهای هورمونی خاص، متابولیسم لیپیدهای خون آن فرد دچار اختلال می‌گردد.

این احتمال نیز وجود دارد که در اختلال لیپیدهای خون، عوامل ژنتیکی و عوامل محیطی هر دو اثر داشته باشند.

در برخی از مطالعات انجام شده ارتباط پلی‌مورفیسم‌های مجموعه ژنی apo AI-CIII-AIV با هیپرتری‌گلیسیریدمی و بیماری عروق قلب بقدری محکم و قوی گزارش شده است(۵) که اثر عوامل غیر ارثی در مقابل آنها بیرنگ به نظر می‌رسد.

بطور مثال در جمعیتی از عربهای مبتلا به هیپرتری‌گلیسیریدمی در سایت پلی‌مورفیک SstI واقع در ناحیه ۳ غیرقابل ترجمه ژن آپو CIII ۷۱٪ افراد بیمار دارای آللی بوده‌اند که سایت اثر برای آنزیم SstI دارد(آلل S۱) در حالی که تنها ۳٪ افراد سالم با تری‌گلیسیرید طبیعی این آلل را در سایت مذکور داشته‌اند.

فراوانی این آلل که از جانشین شدن ساده باز C با G ایجاد می‌شود در بیماران مورد بررسی ۲٤ برابر بیشتر از افراد طبیعی بوده است.

۹٦٪ عربهایی که این آلل را داشته‌اند دچار افزایش هیپرتری‌گلیسیریدمی بوده‌اند(۵).

با اینکه سایت SstI در محلی قرار ندارد که بتواند ساختمان اول آپوپروتئین CIII را تحت تأثیر قرار دهد یا بروز ژن apo CIII را تنظیم کند اما براساس این یافته‌ها پلی‌مورفیسم‌های این سایت به عنوان مارکر ژنتیکی معتبر بر این تشخیص و پیش‌بینی بیماری عروق کرونر کاندید می‌شوند.

در مقابل گزارش‌هایی هم وجود دارند که هیچ ارتباطی بین پلی‌مورفیسم‌های سایت SstI و هیپرتری‌گلیسیریدمی مشاهده نکرده‌اند؛ مانند بررسی Ress و همکاران که روی جمعیت ژاپنی انجام شد و هیچ ارتباطی را بین سایت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

مذکور و افزایش تری‌گلیسیرید خون نشان نداد(۱۱).

گزارشهای نوع سومی هم وجود دارند که چند سایت پلی‌مورفیک را در مجموعه ژنهای apo AI-CIII-AIV مورد مطالعه قرار داده‌اند و برخی از پلی‌مورفیسم‌ها را در ارتباط و برخی دیگر را فاقد ارتباط با لیپیدهای خون و بیماریهای قلب گزارش کردند؛ مانند مطالعه Hong و همکاران روی جمعیت کره‌ای که در آنها پلی‌مورفیسم‌های SstI در رابطه با هیپرتری گلیسیریدمی و پلی‌مورفیسم‌های MspI در ژن apo AI فاقد ارتباط با تری‌گلیسیرید خون نشان داده شده است(٤) و سرانجام در برخی از گزارشها با وجود آنکه حدود ٥ سایت پلی‌مورفیک در مجموعه ژنی apo AI-CIII-AIV مورد بررسی قرار است، هیچ یک از آنها درارتباط با خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر (CAD) به دست نیامد(۱۲).

نتایج به دست آمده در این مطالعه همسو با مطالعاتی است که عدم ارتباط پلی‌مورفیسم‌های مجموعه ژنی مذکور را با بیماری CAD گزارش کرده‌اند.

با وجود آنکه آپولیپوپروتئین‌ها نقش عمده‌ای در متابولیسم لیپیدهای خون دارند و اختلال در لیپیدهای خون در جمعیت بیمار مورد مطالعه در این پژوهش یکی از عوامل اصلی گرفتگی عروق کرونر محسوب می‌شوند؛ هیچ اختلاف معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های دو سایت مورد بررسی در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق کرونر و افراد سالم وجود نداشت.

در هر دو گروه (بیمار و سالم) توزیع ژنوتیپهای سایت SstI و MspI مطابق با نسبتهای معادله هاردی ـ وینبرگر بود و با روشهای آماری متعددی که در جدولهای بخش نتایج نشان داده شده است معلوم شد که نه تنها فراوانی آللها بین افراد بیمار و سالم در کل تفاوت معنی‌داری ندارند؛ بلکه با تفکیک جنسیت نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.

حتی زمانی که فراوانی آللها و توزیع ژنوتیپها بر اساس شدت گرفتگی رگها بین بیماران و همچنین زیرگروههای بیماران با افراد سالم مورد مقایسه قرار گرفت باز هم اختلاف معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌ها به دست نیامد.

از آنجائیکه در این مطالعه تنها دو سایت پلی‌مورفیک از حدود ۱۱ سایت شناخته شده در مجموعه ژنی apo AI-CIII-AIV مورد بررسی قرار گرفته است نمی‌توان ادعا کرد که سایت‌های دیگر در جمعیت ایرانی با بیماریهای گرفتگی عروق کرونر در ارتباط نیستند بنابراین پیشنهاد می‌گردد بررسی سایر پلی‌مورفیسم‌های موجود در این مجموعه ژنی در جمعیت ایرانی انجام گردد.

نتایج به دست آمده از این بررسی و بررسیهای دیگر که نتایج مشابهی را نشان داده‌اند؛ نظریه Rose G را تقویت می‌کنند که معتقد است بیماری عروق کرونر قلب مانند بیماری پرفشاری خون یک بیماری همگانی یا توده‌ای است (mass disease) که تمام افراد جامعه با درجات متفاوتی مستعد ابتلا به آن هستند(۱۳).

اگر چه سطوح متفاوت عوامل تولید کننده آن بطور ژنتیکی به درجات مختلفی تعیین می‌گردد.

میزان بروز و تفاوتهای موجود بین جمعیتها بطور عمده در رابطه با عوامل محیطی و روش زندگی می‌باشد.

بررسی عدم ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژنهای apo AI و apo CIII با بیماری CAD در جمعیت انتخاب شده ایرانی در این مطالعه از قدمهای اولیه برای بررسی اثر عوامل ژنتیکی بر بیماری عروق کرونر محسوب می‌گردد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

در صورتی که بررسیها در مورد سایر سایت‌های پلی‌مورفیک در مجموعه apo AI-CIII-AIV و سایر ژنهای مربوط به متابولیسم لیپیدها در جمعیتهای ایرانی به نتایج مشابهی برسند در آن زمان باید عوامل ژنتیکی را در بروز بیماریهای عروق کرونر در جمعیت ایرانی کم اهمیت و عوامل محیطی و رفتاری را بیش از پیش پراهمیت دانست.

منابع

1- Jeenah M., Kessling A., Miller N., Humphries S., G to A substitution in the promoter region of the apolipoprotein AI gene is association with elevated serum apolipoprotein AI and high density lipoprotein cholesterol concentrations, Mol. Biol. Med, 1990, 7: 233-241.

2- Wang XL., Liu SX., McCredie RM., Wilcken DEL., Polymorphisms at the 5' end of the apolipoprotein AI gene and severity of coronary artery disease, J. Clin, 1996, 98: 372-377.

3- Karathanasis SK., Zannis VI., Breslow JK.,Isolation and characterization of cDNA clones corresponding to two different human apo CIII alleles, J. Lipid Res, 1985, 26: 451-456.

4- Zeng Q., Demmerman M., Takada Y., Matsunga A., Breslow JL., Sasaki J., An apolipoprotein CIII marker associated with hypertriglyceridemia in caucasians also confers increased risk in a west japanese population, Hum Genet, 1995, 95: 371-375.

5- Tas S., Association of a single nucleotide substitution in the 3'-untranslated region of the apolipoprotein CIII gene with common hypertriglyceridemia in Arabs, Clin. Chem, 1989, 35(2): 256-259.

6- Bai H., Saku K., Liu Imamura M., Arakawa K., Association between coronary heart disease and the apolipoprotein AI-CIII-AIV complex in japanese population, Hum. Genet, 1995, 95: 102-104.

7- Ko YL., KO YS., WUSM., Chen FR., Hsu TS., Chiang CW., Lee YS., Interaction between obesity and genetic polymorphism in the apolipoprotein CIII gene and lipoproteinlipase gene on the risk of hypertriglyceridemia in chinese, Hum. Genet, 1997, 327-333.

8- Aalto setala K., Kontula K., Sane T., Nieminem M., Nikkila E., DNA polymorphisms of apolipoprotein AI-CIII and Insulin genes in familial hypertriglyceridemia and coronary heart disease, Atherosclerosis, 1987, 66: 145-152.

9- Hong SH., Park WH., Lee CC., Sony JH., Kim JQ., Association between genetic variations of apo AI-CIII-AIV cluster gene and hypertriglyceridemic subjects, clin. Chem, 1997, 43(1): 13-17.

10- Marcil M., Boucher B., Gagne E., Davingnon J., Hyden M., Jenest J., Lack of association of the apolipoprotein AI-CIII-AIV gene mitation in familial combined hyperlipoproteinemia in french canadian subjects, J. Lipid Res, 1996, 37: 309-319.

11- Rees A., Stocks J., Paul H., Ohchi Y., Galton D., Haplotype identified by DNA polymorphisms at the apolipoprotein AI and CIII loci and hypertriglyceridemia. A study in a japanese population. Hum. Genet, 1986, 72: 168-171.

12- Marshall HW., Morrison LC., Wu LL., Anderson JL., Corneli PS., Stauffe DM., Allen A., Karagounis LA., Ward RH., Apolipoprotein polymorphisms fail to define risk of coronary artery disease. Results of a prospective, angiographically controlled study, Circulation, 1994, 89: 567-577.

13- Miller SA., Dvkes DD., Polesky HF., A simple salting out procedure for extracting

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

DNA from human nucleated cells, Nuncleic Acid Res, 1988, 16(3): 1215.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]

POLYMORPHISM OF CIII AND AI APOLIPOPROTEIN GENES IN IRANIAN PATIENT WITH CORONARY ARTERY DISEASE

*M. Firoozrai, Ph.D[I] A.V. Ehsani Zanoz, Ph.D[II] B. Hesabi, MSc[III] S. Kheradmand Kia, MSc[IV]

ABSTRACT

Several polymorphisms within the apo AI-CIII-AIV gene cluster have been detected there is ample evidence about variations at the adjucent apo AI and apo CIII gene loci influence the risk for hypertriglyceridemia and coronary artery disease(CAD). This study was conducted to elucidate the association between two restriction fragment length polymorphisms(RFLPs) of the adjacent apo AI and CIII genes and CAD in Iranian patients. The polymorphisms sites were MspI site in the promoter region of the apo AI gene(G-78A substitution) and SstI site in the apo CIII 3' untranslated region(G 3175C substitution). Total genomic DNA was prepared from the whole blood of 46 hypertiglyceridemic patients with CAD and 36 normolipidemic Iranian subjects. Amplification of a 355 bp fragment of the promoter region of the apo AI gene and a 280 bp fragment of apo CIII 3' untranslated region were achieved by polymerase chain reaction(PCR) with specific primers. Genotype distribution and the allele frequencies for the apo AI MspI and apo CIII SstI polymorphi sms were determined and compared in patients and normolipidemic healthy subjects. Dispite the significant differences in plasma lipids concentration between patients and healthy subjects; no association between any of two investigated polymorphisms and cornary artery disease was found. This lack of association was held for both allele frequencies and genotype distribution in different sexes.

Key Words: 1) Polymorphism 2) Apolipoprotein AI 3) Apolipoprotein CIII 4) Hypertriglyceridemia 5) Coronary artery disease

This article is presented in 6th congeress of biochemistry, Also is conducted under financial support of under secretary of research of Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

I) *Ph.D, Associate professor of Biochemistery, Faculty of Basic Sciences Hemat expressway, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran(*Corresponding author).*

II) *Ph.D, Assistant professor of Biochemistery, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

III) *MSc in Genetic, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

IV) *MSc in Genetic, Instractor of faculty of paramedicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.*

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-21]