

# ارتباط فراوانی ال B2 در ژن CETP، با میزان HDL-C در جمعیت تهرانی

## چکیده

طبق بررسی انجام شده در مورد پلی مورفیسم TaqI در جمعیت قند و لیپید تهران، ارتباط معنی داری بین میزان HDL کلاسترول و پلی مورفیسم ژن پروتئین انتقال دهنده کلاسترول استریفیه (CETP) در جمعیت تهرانی مشاهده شد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط فراوانی ال B2 و میزان بالای HDL بوده است. از میان جمعیت بررسی شده در مطالعه قند و لیپید تهران، ۹۴۳ نفر با کلاسترول و تری گلیسرید طبیعی انتخاب شدند و منحنی توزیع HDL در این جمعیت رسم گردید. صدک ۱۰ HDL در ابتدا، وسط و انتهای منحنی مشخص شد و ۳۵۶ نفر در ۳ گروه با HDL کم، متوسط و بالا قرار گرفتند. همچنین عوامل موثر در میزان HDL-C مانند شاخص توده بدنی (BMI)، فشار خون و مصرف سیگار در این افراد مورد بررسی قرار گرفت. DNA ژنومی در این ۳ گروه استخراج شد و قطعه‌ای از اینترون ۱ ژن CETP با روش PCR تکثیر گردید سپس با روش RFLP (Restricted Fragment length polymorphism) اثر آنزیم TaqI بر این قطعه مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده، فراوانی ال B2 از ژن CETP در افراد با میزان بالای HDL بیشتر بود و میزان HDL خون محیطی در ۳ ژنوتیپ تفاوت معنی داری داشت ( $p < 0.001$ ) به طوری که در ژنوتیپ B1B1 میزان HDL  $36 \pm 11$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر و در ژنوتیپ B2B2 تا  $46 \pm 13$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر افزایش نشان داده بود. همچنین فنوتیپ B2B2 از ۵/۵٪ در گروه HDL پایین، به ۱۷/۳٪ در گروه HDL بالا افزایش یافته بود. به عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت که بین سطح بالای HDL-C و پلی مورفیسم ژن CETP در جامعه مورد بررسی ارتباط وجود دارد.

\*مریم‌السادات دانشپور I

دکتر مهدی هدایتی II

دکتر فرشته آذری III

فرشته قاسمی IV

دکتر فریدون عزیزی V

کلیدواژه‌ها: ۱- پروتئین انتقال دهنده کلاسترول استریفیه ۲- HDL کلاسترول

۳- پلی مورفیسم ۴- Taq I

## مقدمه

بیماری‌های قلبی عروقی از جمله مهم‌ترین عوامل مرگ‌ومیر در جوامع بشری محسوب می‌شوند و میزان کم HDL کلاسترول یکی از عوامل موثر در بالا بردن خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی عروقی (CAD) می‌باشد.<sup>(۱)</sup>

این مقاله خلاصه‌ای است از پایان نامه مریم‌السادات دانشپور جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد علوم سلولی و مولکولی به راهنمایی دکتر فریدون عزیزی و مشاوره دکتر مهدی هدایتی، سال ۱۳۸۲. همچنین این مطالعه تحت حمایت مالی مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شده است.

(I) کارشناس ارشد علوم سلولی و مولکولی، آزمایشگاه پژوهشی مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، خیابان تابناک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران (\*مؤلف مسئول)

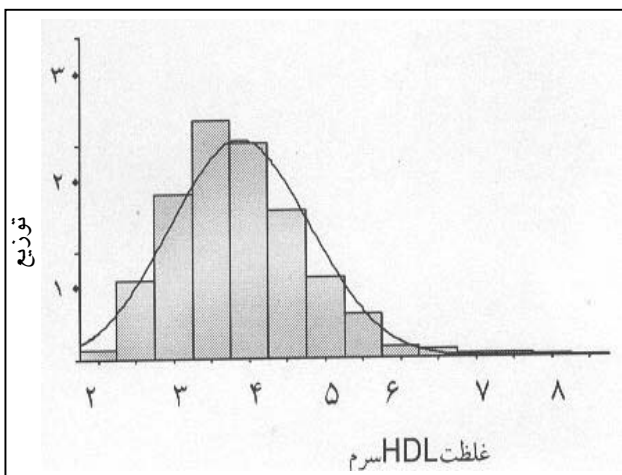
(II) دکترای بیوشیمی، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، خیابان تابناک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

(III) استادیار بیوشیمی

(IV) کارشناس ارشد علوم سلولی و مولکولی

(V) استاد و فوق تخصص بیماری‌های غدد و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، خیابان تابناک، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.

در این مطالعه مقطعی از ۱۰۲۱ نفر از افراد شرکت کننده در طرح قند و لیپید که تا تاریخ ۸۲/۶/۳۰ برای انجام شدن مرحله دوم مطالعه مراجعه کرده بودند، افرادی که دارای میزان کلسترول بیش‌تر از ۲۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و تری‌گلیسرید بیش‌تر از ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بودند و نیز افرادی که سابقه بیماری‌های قلبی - عروقی داشتند از مطالعه حذف شدند سپس منحنی توزیع HDL در ۹۴۳ نفر از افراد باقی‌مانده رسم گردید (نمودار شماره ۱). همان‌طور که مشاهده می‌شود توزیع میزان HDL در این جامعه طبیعی و میزان HDL در سرم ۴۱٪ از این افراد کم‌تر از ۳۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. سپس صدک ۱۰ در ابتدا، وسط و انتهای منحنی مشخص گردید و تعداد ۳۶۵ نفر در ۳ گروه HDL بدین ترتیب قرار گرفتند: صدک ۱۰، HDL کم‌تر یا مساوی با ۲۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (۱۲۷ نفر)، صدک ۵۵-۴۵: HDL مساوی با ۳۷ تا ۳۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (۱۳۴ نفر) و صدک ۹۰: HDL بیش‌تر یا مساوی ۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (۱۰۲ نفر).



نمودار شماره ۱- نمودار توزیع HDL در جمعیت مورد مطالعه

از تمام نمونه‌های مورد بررسی پس از ۱۲-۱۰ ساعت ناشتا بودن ۲ نمونه خون محیطی لخته و حاوی ضد انعقاد EDTA گرفته شد. اطلاعات مربوط به سن، جنس، مصرف سیگار، سطح فعالیت بدنی، بیماری کرونر قلبی و وضعیت افراد از نظر بارداری و یائسگی نیز به صورت پرسش‌نامه‌ای ثبت گردید.

پروتئین انتقال دهنده کلسترول استریفیه (CETP) نقش مهمی در انتقال کلسترول از بافت‌ها به کبد دارد و این عمل توسط برداشت کلسترول‌های استریفیه از لیپوپروتئین‌هایی با دانسیته بالا (HDL) و انتقال این کلسترول‌ها به لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌گلیسرید صورت می‌گیرد.<sup>(۲)</sup> گزارش‌هایی در رابطه با افزایش غلظت و عمل‌کرد CETP و کاهش HDL کلسترول خون محیطی وجود دارد.<sup>(۳)</sup> این پروتئین واسطه انتقال کلسترول استریفیه، فسفولیپیدها و تری‌گلیسریدها می‌باشد. از نظر ساختمانی CETP انسانی گلیکوپروتئینی با وزن مولکولی ۷۴ کیلودالتون است که ژن مربوط به آن شامل ۲۵۰۰۰ جفت باز، ۱۶ اگزون و ۱۵ اینترون می‌باشد. جهش‌های مختلفی روی ژن CETP گزارش شده است که برخی از آن‌ها روی غلظت و فعالیت این پروتئین اثر می‌گذارند.<sup>(۴)</sup> یکی از جهش‌هایی که بیش‌ترین ارتباط را با میزان CETP و متابولیسم HDL نشان داده است، جهش در اینترون شماره ۱ می‌باشد. الل‌های B1 و B2 حاصل برش یا عدم برش این ناحیه توسط آنزیم Taq I هستند<sup>(۵)</sup> و مطالعات مختلف ارتباط معنی‌داری را میان الل B2 و میزان بالای HDL نشان داده‌اند.<sup>(۶)</sup>

با توجه به پایین بودن میزان HDL در جمعیت ایرانی<sup>(۷)</sup>، این مطالعه جهت بررسی ارتباط ژن و کاهش HDL در ایران صورت گرفت و نتایج به دست آمده نشان داد که افراد هموزیگوت برای الل B2، به طور معنی‌داری میزان بیش‌تری HDL-C در خون محیطی دارند.<sup>(۸)</sup> هدف مطالعه حاضر بررسی ارتباط فراوانی الل B2 که نتیجه جهش در ژن CETP می‌باشد، با بالا رفتن میزان HDL کلسترول بوده است. به علت اهمیت عوامل محیطی در این پلی‌مورفیسم، نقش سیگار و فشارخون نیز در این مطالعه بررسی گردید.

### روش بررسی

جامعه مورد بررسی از مطالعه قند و لیپید تهران انتخاب شد. مطالعه قند و لیپید بررسی آینده‌نگری است که طی ۲ مرحله به منظور بررسی عوامل خطر ساز بیماری‌های غیرواگیر در ۱۵۰۰۵ نفر از جمعیت تهران انجام می‌شود.<sup>(۷)</sup>

شرایط ترمال سایکسر پس از بهینه‌سازی عبارت بود از: (۱) مرحله Denaturation ابتدایی، ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد (یک سیکل) (۲) مرحله Denaturation ۳۰ ثانیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، (۳) مرحله annealing (جورشدن)، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد (۴) مرحله extention (ازدیاد) ۴۵ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (مراحل ۲ تا ۴، ۳۰ سیکل تکرار شد)، (۵) مرحله extention نهایی ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد (یک سیکل). کنترل صحت تکثیر PCR با استفاده از کنترل‌های مثبت و منفی بررسی گردید.

با روش RFLP، ۱۲ میکرولیتر از محصولات PCR تحت اثر هضم با  $EcoRV$  آنزیم (تهیه شده از شرکت فرمنتاز، کانادا) به مدت ۲ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد.

نتیجه الکتروفورز محصولات RFLP، (ژل آگارز ۱/۵٪ و بافر TBE، رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید) پس از تصویربرداری از الگوی باندها توسط دستگاه Transluminator روی دیسکت ذخیره گردید. الگوی باندهای حاصل برای الل B<sub>1</sub>، قطعات ۱۷۴ bp و ۳۶۱ bp برای الل B<sub>2</sub> یک قطعه ۵۳۵ bp بوده است. اطلاعات به دست آمده توسط نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد و متغیرهای کمی با میانگین  $\pm$  انحراف معیار و متغیرهای کیفی به صورت درصد بیان گردید.

از آزمون ANOVA دو دامنه به دنبال post-hoc با آزمون‌های چند گانه توکی، برای مقایسه یافته‌های آزمایشگاهی ۳ گروه HDL و نیز در ۳ گروه B<sub>2</sub>B<sub>2</sub>، B<sub>1</sub>B<sub>1</sub>، B<sub>1</sub>B<sub>2</sub> استفاده گردید و سطح معنی‌دار آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### نتایج

متوسط متغیرهای بالینی و تن‌سنجی که شامل سن، شاخص توده بدنی، فشار خون، درصد افراد سیگاری و متوسط تعداد نخ سیگار مصرفی و گروه‌های ۳ گانه بود، به تفکیک در جدول شماره ۱ آورده شده است.

داده‌های مربوط به قد، وزن و فشارخون اندازه‌گیری شد و شاخص توده بدنی (BMI) محاسبه گردید. میزان کلسترول تام و تری‌گلیسرید سرم و قند خون ناشتا توسط کیت‌های تجاری (پارس آزمون - ایران) و HDL-C پس از رسوب با فسفوتنگستات اندازه‌گیری شد سپس LDL-C با استفاده از فرمول فریدوالد برای نمونه‌هایی که میزان تری‌گلیسرید آن‌ها کم‌تر از ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، محاسبه گردید و بیماران با سطح تری‌گلیسرید بالاتر از ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر از مطالعه حذف شدند.

در این مطالعه تعداد ۳۶۵ نفر در ۳ گروه HDL، مورد بررسی قرار گرفتند که از نظر سن و میزان کلسترول هماهنگ شدند به طوری که این متغیرها در گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشته باشند. برای استخراج DNA ژنومی ابتدا نمونه‌ها توسط Lysis Buffer (۵ میلی‌مول در لیتر =  $MgCl_2$ ، ۱۰ میلی‌مول در لیتر =  $Tris-HCl$ ،  $pH=7.6$  Triton X 1%) و بافر P.B.S شسته شد و RBCها از محیط حذف شدند سپس DNA توسط روش جوشاندن قلیایی از WBCها استخراج گردید<sup>(۹)</sup> و عصاره سلولی به دست آمده در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده با اسپکتروفتومتر و الکتروفورز، تکثیر بخشی از اینترون ۱ ژن CETP شامل ۵۳۵ bp به روش PCR صورت گرفت.

هر محلول PCR (کوکتل) به مقدار ۲۵ میکرولیتر شامل 10X PCR buffer، dNTPs mix (۰/۲mM) و Taq DNA Polymerase (۰/۲۵U)  $MgCl_2$  (۱/۵mM) و جفت پرایمرهای رفت و برگشت (تهیه شده از شرکت سیناژن) شامل:

5'-CACTAGCCCAGAGAGAGGAGTGCC-3' و  
3'-CTGAGCCAGCCGCACACTAAC-5' بود.

به هر لوله میزان ۱۰۰ نانوگرم از DNA استخراج شده اضافه گردید و پس از افزودن روغن معدنی استریل به نمونه‌ها، این لوله‌ها سانتریفوژ شد و به دستگاه ترموسایکسر (ساخت کارخانه Hybrid انگلستان) منتقل گردید.

بیشتر و در گروه با HDL متوسط (۳۷-۳۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) از افرادی که در گروه با صدک بیش‌تر از ۹۰ بودند افزایش معنی‌داری را نشان داد. در رابطه با الگوی قطعات بریده شده توسط آنزیم TaqI پس از تکثیر قطعات مورد نظر در اینترون شماره ۱ ژن CETP و بریده شدن این قطعات تحت اثر آنزیم TaqI، الگوی قطعات حاصل پس از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵٪

همان‌طور که در جدول ذکر شده مشاهده می‌شود با افزایش HDL میزان BMI و فشار خون کاهش یافته بود. درصد افراد سیگاری در گروه دارای HDL پایین بیش‌تر و در گروه با HDL بالا کم‌تر بود. نمودار شماره ۱ توزیع HDL را در جمعیت مورد مطالعه نشان می‌دهد. با توجه به این نمودار می‌توان گفت که توزیع HDL در این جمعیت طبیعی (Normal) بوده است.

جدول شماره ۱- متغیرهای بالینی تن‌سنجی در جمعیت مورد مطالعه

متغیر	صدک <math>HDL < 10</math>	صدک <math>HDL = 45-55</math>	صدک <math>HDL > 90</math>
سن (سال)	۲۸ ± ۱۸	۲۳ ± ۱۷	۳۵ ± ۲۲
شاخص توده بدنی BMI (کیلوگرم/متر <sup>۲</sup> )	۲۶/۸ ± ۴/۹	۲۵/۱ ± ۵/۴	۲۳/۴ ± ۵/۷
فشار خون سیستولیک (میلی‌متر جیوه)	۱۱۷ ± ۱۸	۱۱۱ ± ۲۰	۱۰۷ ± ۱۵
فشار خون دیاستولیک (میلی‌متر جیوه)	۷۴ ± ۱۱	۷۲ ± ۱۱	۷۰ ± ۱۰
درصد افراد سیگاری	۲۱/۸*	۵/۶†	۳/۵
تعداد نخ سیگار مصرفی در روز	۷	۵	۱۴

\* ( $P < 0.001$ ) مقایسه با صدک ۴۵-۵۵، † ( $P < 0.001$ ) مقایسه با صدک >۹۰

جدول شماره ۲- مقادیر سرمی متغیرهای آزمایشگاهی در جمعیت مورد مطالعه

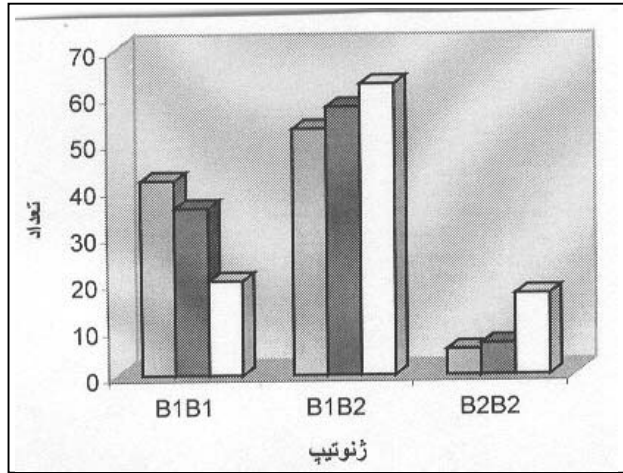
متغیر	صدک <math>HDL < 10</math>	صدک <math>HDL = 45-55</math>	صدک <math>HDL > 90</math>
کلسترول تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۷۰ ± ۳۱	۱۶۴ ± ۳۲	۱۷۴ ± ۳۲
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۸۴ ± ۸۴*	۱۲۰ ± ۶۴†	۹۷ ± ۴۷
HDL-C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۶ ± ۲/۲	۲۸ ± ۰/۸	۵۷ ± ۷/۴
LDL-C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۰۷ ± ۲۷	۱۰۲ ± ۲۷	۹۸ ± ۳۰
نسبت TC/HDL	۶/۵ ± ۱/۳	۴/۳ ± ۰/۸	۳/۱ ± ۰/۷

\* ( $P < 0.001$ ) مقایسه با صدک ۴۵-۵۵ و صدک >۹۰، † ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با صدک >۹۰

عبارت بود از: ۲ قطعه با طول ۱۷۴bp و ۳۶۱bp (نشان دهنده ژنوتیپ B1B1)، ۳ قطعه با طول ۱۷۴bp و ۳۶۱bp و ۵۳۵bp (نشان دهنده ژنوتیپ B1B2)، ۱ قطعه با طول ۵۳۵bp (نشان دهنده ژنوتیپ B2B2).

جدول شماره ۲ غلظت سرمی لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها را در ۳ گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. غلظت سرمی کلسترول، HDL و LDL در ۳ گروه تفاوت معنی‌داری نداشت اما غلظت تری‌گلیسرید در گروه با HDL پایین از ۲ گروه با HDL بالا و متوسط به طور معنی‌داری

۳ ژنوتیپ تفاوت معنی‌داری داشت ( $p < 0.001$ ) به طوری که در ژنوتیپ B<sub>1</sub>B<sub>1</sub>، HDL کلسترول به میزان  $36 \pm 11$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر و در ژنوتیپ B<sub>2</sub>B<sub>2</sub> میزان آن تا  $46 \pm 13$  میلی‌گرم در دسی‌لیتر افزایش یافته بود.



نمودار شماره ۲- نمودار ستونی توزیع ژنوتیپ‌های B<sub>1</sub>B<sub>1</sub>، B<sub>1</sub>B<sub>2</sub> و B<sub>2</sub>B<sub>2</sub> در ۳ گروه HDL

درصد فنوتیپ B<sub>1</sub>B<sub>1</sub> از  $41/7\%$  در گروه با HDL پایین به  $20/2\%$  در گروه با HDL بالا کاهش پیدا کرده بود. از سوی دیگر درصد فنوتیپ B<sub>2</sub>B<sub>2</sub> از  $5/5\%$  در گروه با HDL پایین به  $17/3\%$  در گروه با HDL بالا افزایش یافته بود (جدول شماره ۳).

نمودار ستونی ارتباط ژنوتیپ TaqI با ۳ گروه HDL در نمودار شماره ۲ نشان داده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود در گروه با ژنوتیپ B<sub>2</sub>B<sub>2</sub> افرادی که در صدک ۹۰ بالایی جامعه قرار داشتند، فراوانی بیشتری را نشان دادند در حالی که در گروه با ژنوتیپ B<sub>1</sub>B<sub>1</sub> فراوانی بیشتر در افرادی مشاهده شد که در صدک ۱۰ پایین جامعه قرار داشتند.

ارتباط عوامل مورد بررسی با ژنوتیپ‌های مورد نظر در کل جمعیت در جدول شماره ۴ آورده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود میزان HDL کلسترول خون محیطی در

جدول شماره ۳- پلی‌مورفیسم الل‌های B<sub>1</sub> و B<sub>2</sub> مربوط به ژن CETP در جمعیت مورد مطالعه

متغیر	صدک HDL < ۱۰	صدک HDL = ۴۵-۵۵	صدک HDL > ۹۰
	HDL کمتر یا مساوی با ۲۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (تعداد(درصد))	HDL برابر با ۳۷-۳۹ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (تعداد(درصد))	HDL بیشتر یا مساوی با ۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر (تعداد(درصد))
B <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	۵۳*(۴۱/۷)	۴۸(۳۵/۸)	۲۱(۲۰/۲)
B <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	۶۷(۵۲/۸)	۷۷(۵۷/۵)	۶۵(۶۲/۵)
B <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	۷(۵/۵)	۹(۶/۷)	۱۸†(۱۷/۳)

\* ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با صدک  $> 90$ ، † ( $P < 0.001$ ) در مقایسه با صدک  $< 10$

جدول شماره ۴- ارتباط الل‌های B<sub>2</sub> و B<sub>1</sub> با متغیرهای بالینی و تن‌سنجی و مقادیر سرمی متغیرهای آزمایشگاهی در جمعیت مورد مطالعه

متغیر	B <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	B <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	B <sub>2</sub> B <sub>2</sub>
تعداد	۱۲۲	۲۰۹	۳۴
سن(سال)	$37 \pm 18$	$34 \pm 19$	$34 \pm 16$
شاخص توده بدنی (BMI(کیلوگرم/متر <sup>۲</sup> ))	$25.0 \pm 4.9$	$24.9 \pm 5.7$	$25.2 \pm 6.1$
فشار خون سیستولیک(میلی‌متر جیوه)	$113 \pm 18$	$111 \pm 18$	$110 \pm 15$
فشار خون دیاستولیک(میلی‌متر جیوه)	$73 \pm 11$	$71 \pm 11$	$71 \pm 12$
درصد افراد سیگاری	۱۲/۳	۱۱/۲	۲/۹*
تعداد نخ سیگار مصرفی در روز	۷	۷	۲
کلسترول تام(میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	$168 \pm 31$	$170 \pm 32$	$168 \pm 31$
تری‌گلیسرید(میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	$145 \pm 82$	$134 \pm 74$	$113 \pm 66^*$
HDL-C(میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	$36 \pm 11$	$40 \pm 13$	$46 \pm 13^*$
LDL-C(میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	$102 \pm 27$	$103 \pm 29$	$100 \pm 27$
نسبت TC/HDL	$5.0 \pm 1.6$	$4.7 \pm 1.7$	$4.0 \pm 1.5^*$

\* ( $P < 0.001$ ) در مقابل B<sub>1</sub>B<sub>1</sub>

## بحث

در مطالعه حاضر رابطه پلی‌مورفیسم TaqI در اینترون ژن CETP با میزان HDL در یک جمعیت تهرانی بررسی شد و یافته‌ها نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین کاهش میزان HDL کلسترول و فراوانی ال B2 در جمعیت ایرانی وجود دارد.

در مسیر متابولیسم لیپیدها، LDL کلسترول به عنوان عامل خطر و HDL کلسترول به عنوان عامل محافظت‌کننده در نظر گرفته می‌شود. پروتئین انتقال دهنده کلسترول استریفیه (CETP) در انتقال کلسترول از بافت‌ها به کبد توسط HDL، نقش مهمی دارد و برخی از جهش‌های ژن مربوط به این گلیکوپروتئین میزان یا عمل‌کرد آن را تغییر می‌دهند. جهش در اینترون ۱ این ژن از شناخته شده‌ترین جهش‌های ذکر شده محسوب می‌گردد.

با توجه به پایین بودن میزان HDL کلسترول در جمعیت ایرانی، ناحیه‌ای با طول ۵۳۵ bp در اینترون شماره ۱ ژن CETP با روش PCR و با استفاده از پرایمرهای مورد نظر تکثیر گردید و قطعه حاصل پس از قرارگرفتن تحت اثر آنزیم TaqI (برش یا عدم برش قطعات تکثیر یافته توسط آنزیم) روی ژل آگارز مورد بررسی قرارگرفت. یافته‌ها نشان داد که بروز جهش در این ژن می‌تواند تاثیر مثبتی بر افزایش میزان HDL داشته باشد.

در مطالعات گذشته بررسی پلی‌مورفیسم ژن CETP این رابطه را نشان داده بود اما همان طور که در یافته‌ها مشاهده می‌شود افراد با میزان HDL بیشتر، فراوانی بیشتری از ال B2 را نشان داده بودند، به طوری که افرادی که در صدک ۱۰ بالای جامعه از نظر HDL قرار داشتند و میزان HDL خون محیطی آن‌ها بیشتر از ۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود، در ۱۷/۳٪ موارد دارای ال B2B2 بودند در حالی که این مقدار در افرادی که در صدک ۱۰ پایین جامعه از نظر HDL قرار داشتند و میزان HDL خون محیطی آن‌ها کمتر از ۲۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود ۵/۵٪ به دست آمد.

نتایج تحقیقات روی بیماران قلبی عروقی نشان داده است که کاهش فعالیت CETP از طریق افزایش میزان HDL باعث

کاهش خطر بیماری قلبی عروقی می‌شود از سوی دیگر کاهش فعالیت CETP به طور مستقیم سبب کاهش VLDL می‌گردد بنابراین کاهش فعالیت این پروتئین با کاهش میزان VLDL و کاهش خطر بیماری‌های قلبی عروقی همراه می‌باشد.<sup>(۱۱ و ۱۲)</sup> بعضی از مطالعات نیز ارتباط معنی‌داری را بین پلی‌مورفیسم ژن CETP و میزان تری‌گلیسرید و LDL به دست آورده‌اند.<sup>(۱۲)</sup>

در این مطالعه ارتباط میزان تری‌گلیسرید به طور معنی‌داری در گروه B2B2 کم‌تر از میزان آن در گروه B1B1 بوده است اما در رابطه با میزان LDL، تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. مکانیسم اثر پلی‌مورفیسم TaqI روی میزان HDL هنوز ناشناخته است اما به نظر می‌رسد که جهش در ناحیه‌ای از اینترون ۱ ژن CETP سبب یک جهش در عمل‌کرد CETP می‌شود و این جهش در افرادی که ال B2 دارند مشاهده می‌شود.

بروز ال B2 موجب افزایش فعالیت CETP و در نهایت کاهش میزان HDL خون محیطی می‌گردد. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که یک ارتباط منفی بین میزان HDL و شیوع بیماری‌های قلبی وجود دارد و بیمارانی که به طور ژنتیکی نقص در HDL دارند معمولاً دچار بیماری‌های قلبی عروقی می‌شوند.<sup>(۱۳)</sup>

یافته‌های این مطالعه نشان داد که فراوانی ال B2 از ژن CETP در افرادی که میزان بالای HDL دارند بیشتر است و با توجه به پایین بودن میزان HDL-C در این جامعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که جهش در این ژن اثر مثبتی بر میزان HDL دارد. با اندازه‌گیری غلظت CETP در خون محیطی این افراد می‌توان نقش پلی‌مورفیسم TaqI را در ارتباط با غلظت CETP و در نهایت میزان HDL و ارتباط آن با بیماری‌های قلبی - عروقی بررسی نمود.

## منابع

1- Gorden T, Casteli WP, Hjortland MC, Kannel WB, Dawber TR. High density lipoprotein as a protective factor against coronary artery disease. Am J Med 1977; 62: 707-14.

- 10- Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3: 213-9.
- 11- Frank M, Sacks, Petar Alaupovic, Lemual A, Moye, Thomas G. et al. VLDL, Apolipoproteins B, CIII, and E, and Risk of recurrent coronary events in the Cholesterol and Recurrent events(CARE) trial circulation, 2000 Oct; 102: 1886-92.
- 12- Corbex M, Poirier O, Fumeron F, Betoulle D, Evans A. Association analysis between the CETP gene and coronary heart disease phenotypes reveals several putative functional polymorphisms and gene-environment interaction. *Genet Epidemiol* 2000 Jul; 19(1): 64-80.
- 13- Kuivenhoven JA, Jukema JW. The role of common variant of the CETP gene in the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 86-93.
- 2- Ordovas JM, Cupples A, Corella D, Otvos JD, Osgood D, Martinez A, et al. Association of cholesteryl ester transfer protein-TaqI polymorphism with variation in lipoprotein sub classes and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1323-9.
- 3- Kondo I, Berg K, Drayna DT, Lawn RM. DNA polymorphism at the locus for human CETP is associated with high density lipoprotein cholesterol and apolipoprotein levels. *Clin Genet* 1989; 35: 49-56.
- 4- Drayna D, Lawn R. Multiple RFLP at the human cholesteryl ester transfer protein(CETP) locus. *Nucleic Acid Res* 1987; 11: 4698.
- 5- Freeman DJ, Packard CJ, Shepherd J, Gaffney D. Polymorphisms in the gene coding for cholesteryl ester transfer protein are related to the plasma HDL and transfer protein activity. *Clin Sci* 1990; 79: 575-81.
- 6- Kuivenhoven JA, Knijff PD, Boer J.M.A, Smalheer H.A, Botma G, Seidell JC, et al. Hetrogeneity at the CETP gene locus influence on plasma CETP concentrations and cholesterol levele. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 560-8.
- 7- Azizi F, Rahmani M, Emami H, Mirmiran P, Ghanbarian A. Cardiovascular risk factors in an Iranian urban population. *Soc Prev Med* 2002; 47: 408-26.
- ۸- دانشپور - م، هدایتی - م، آذری - ف، قاسمی - ف، عزیزی - ف. ارتباط پلی مورفیسم ژن CETP(TaqI) با میزان کم HDL-C در جمعیت ایرانی. *مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران* ۱۳۸۲، شماره ویژه زمستان؛ ضمیمه ۴ ص: ۳۶۱-۵.
- 9- Ferri RM, Schwartz MJ, Robertson MH, Vaudin S. Development, multiplexing, and application of ARMS tests for common mutations in the CFTR gene. *Am J Hum Genet* 1992; 51: 251-62.

## Association between B2 Allele Frequency in CETP Gene with Low level of HDL-C in Tehran

<sup>I</sup> \*M.S. Daneshpour, MSc      <sup>II</sup> M. Hedayati, Ph.D.      <sup>III</sup> F. Azari, Ph.D.  
<sup>IV</sup> F. Ghasemi, MSc      <sup>V</sup> F. Azizi, MD

### Abstract

The object of the present study was to investigate the association between common CETP polymorphism, TaqI in intron 1, and high density lipoprotein levels in Tehran population. In order to examine the relationship between B2 allele and HDL-C level, 356 people with the lowest, medium and highest deciles of HDL cholesterol levels were selected out of 993 healthy subjects from TLGS. Factors known to influence HDL cholesterol level, such as smoking, body mass index and blood pressure were then studied. A segment of mentioned gene was amplified with PCR and then polymorphism was revealed with RFLP. The allele frequency distributions of the TaqI (intron1) polymorphism differed significantly between the groups with low (<28mg/dl) and high (>50mg/dl) HDL cholesterol. Homozygotes for the B1 allele had lower HDL-C levels (36±11mg/dl) than subjects carrying B2 allele (46±13mg/ml) (P<0.001). The percentile of B2B2 allele in high HDL-C groups was more than low HDL-C groups (17.3%, 5.5% respectively). In conclusion, it was found out that TaqI polymorphism at the CETP gene is correlated with HDL cholesterol levels.

**Key Words:** 1) Cholesterol Ester Transfer Protein(CETP)

2) HDL-C 3) Polymorphism 4) Taq I

*This article is a summary of the thesis by M.S. Daneshpour for MSc degree in Cellular Molecular Sciences under supervision of F. Azizi, MD and consultation with M. Hedayati, Ph.D.(2003). This study was also conducted under financial support of Endocrinology and Metabolism Research Center of Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.*

**I)** MSc in Cellular Molecular Sciences. Endocrinology and Metabolism Research Center, Taleghani Hospital, Tabnak St., Evin Ave., Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)

**II)** Ph.D. in Biochemistry. Endocrinology Research Center. Taleghani Hospital. Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.

**III)** Assistant Professor of Biochemistry.

**IV)** MSc in Cellular Molecular Sciences.

**V)** Professor of Endocrinology and Metabolism. Taleghani Hospital. Shahid Beheshti University of Medical Sciences and Health Services. Tehran, Iran.