Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
Winter 2011; 13(53): 30-37

The study of mutations of the 9 exons of LDLR gene in patients with familial hypercholesterolemia in Cheharmahal Bakhtiari province

Shayesteh F(MSc)[1], Farrokhi E(MSc)[1], Shirani M(MSc)[1], Modarresi M(PhD)[2], Roghani F(MD)[3], Hashemzadeh M(PhD)[4*]

1- Cellular and Molecular Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran
2- Department of Animal Sciences, Islamic Azad University khorasgan Branch, khorasgan, Iran
3- Department of Cardiology, Esfahan University of Medical Sciences, Esfahan, Iran
4- Department of Human Genetics, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

Received 1 Feb 2010 Accepted 2 Jun 2010

Abstract

Background: Familial hypercholesterolemia (FH) is a disorder with autosomal dominant pattern caused mainly by mutations in the low-density lipoprotein receptor (LDLR) and apolipoprotein B-100. The aim of this study was to investigate the frequency and type of LDLR gene mutations in an Iranian population of patients with high blood cholesterol.

Materials and Methods: In this descriptive-lab based study, a total of 50 non-related possible FH subjects from Cheharmahal Bakhtiari were studied. All subjects were tested for presence of LDLR gene mutations in 9 exons of the LDLR gene including 2, 4, 6, 7, 8, 9, 10, 12, and 14. The shifted bands were detected on electrophoresis gels and confirmed by subsequent DNA sequencing method.

Results: Overall, four different polymorphisms were identified in 18% of the patients. We found 1413G>A, 1725C>T and 1773C>T, 2140+5G>A in 2,23,2 and 2 subjects respectively from which 1413G >A and 1773C>T were detected in both alleles of the gene.

Conclusion: The results did not indicate the involvement of LDLR gene mutations of FH in the samples studied.

Keywords: FH, LDLR, PCR-SSCP

*Corresponding author:
Address: Cellular and Molecular Research Center, School of medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatih, Shahrekord, Iran
Email: mchalesh@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال 13، شماره 4 (شماره پیاپی 53)، زمستان 1389، 37-31

بررسی جهشهای 9 اگزون ژن LDLR در بیماران با کلسترول بالای خانوادگی در استان چهارمحال وبختیاری

فاطمه شایسته[1]، عفت فرخی[2]، منوچهر شیرانی[3]، دکتر مهرداد مدرسی[4] ، دکتر فرشاد روغنی[5]، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتری[6]*

1-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی پیام نور اصفهان، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

2- کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

3- کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

4- استادیار، دکترای فیزیولوژی، گروه علوم دامی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، خوراسگان، ایران

5- استادیار، گروه آموزشی قلب وعروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

5- استاد، دکترای ژنتیک، گروه ژنتیک انسانی ، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت 88/11/12، تاریخ پذیرش 89/3/12

چکیده

زمینه و هدف: هایپرکلسترولمی فامیلی یک اختلال غالب اتوزومی است که عمدتاً به علت جهش‌های ژن گیرنده لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDLR) و آپولیپوپروتئین B-100 ایجاد می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی نوع و فراوانی جهش‌های گیرنده لیپوپروتیئن با دانسیته پائین در بیماران با کلسترول بالای خون در یک جمعیت ایرانی است.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی- آزمایشگاهی تعداد 50 نمونه غیر خویشاوند مشکوک به هایپرکلسترولمی فامیلی از استان چهارمحال و بختیاری مورد مطالعه قرار گرفت. تمامی نمونه‌ها با استفاده از روش PCR-SSCP با استفاده از پرایمرهای مربوط به 9 اگزون مورد نظر از LDLR شامل اگزون‌های 2 و 4 و 6 و 7 و 8 و 9 و 10 و 12 و 14 مورد آزمایش قرار گرفتند و باندهای تغییر یافته بر روی ژل الکتروفورز تشخیص داده شد و متعاقباً توسط روش تعیین توالی DNA تایید شدند.

یافته ها: در مجموع 4 پلی مورفیسم مختلف در 18 درصد بیماران مورد مطالعه تشخیص داده شد. 1413G>A , 1725C>T, 1773C>T, 2140+5G>A را به ترتیب در 2،3،3 و 2 مورد پیدا کردیم که از بین آنها 1413G>A در هر دو آلل ژن پیدا شدند.

نتیجه گیری: نتایج ما دخالت جهش‌های ژن گیرنده لیپوپروتئین بادانسیته پایین را در هایپرکلسترولمی فامیلی در جمعیت مورد مطالعه نشان نداد.

واژه گان کلیدی: PCR-SSCP ، گیرنده لیپوپروتئین با دانسیته پایین، هایپر کلسترولمی فامیلی

***نویسنده مسئول:** شهرکرد، رحمتیه، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email : mchalesh@yahoo.com

مقدمه

هایپرکلسترولمی فامیلی (FH) یک بیماری غالب اتوزومی است که در اثر جهش در یکی از سه ژن گیرنده لیپوپروتئین با دانسیته پایین، (LDL-R-Low Density Lipoprotein Receptor)، آپولیپوپروتئین B-100 (ApoB-100- Apolipoprotein B-100) و Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (PCSK9) رخ می‌دهد. غلظت پلاسمایی LDL در این بیماران درهنگام تولد زیاد است و در سراسرزندگی بالا باقی می‌ماند. در افراد بزرگسال درمان نشده، LDL بالای 220 میلی‌گرم در دسی لیتر (در محدوده 500 – 275 میلی‌گرم دردسی لیتر) است. غلظت‌تری گلیسرید پلاسما طبیعی است و غلظت لیپوپروتئین با دانسیته بالا (High Dennsity Lipoprotein-HDL) طبیعی یا کاهش یافته است(1). از هر 500 نفر 1 نفر مبتلا به هایپرکلسترولمی فامیلی هترزیگوت می باشد که با بیماری آترواسکلروتیک زود رس شدید در دوره جوانی یا میانسالی همراه است(2) و خطر ابتلا به بیماری عروق کرونررا نسبت به بستگان غیر مبتلا حدود 25 برابرافزایش می‌دهد. حدود 50 درصد مردان هتروزیگوت تا سن 50 سالگی دچارانفارکتوس میوکارد می‌شوند که این میزان در زنان حدود 10 تا 20 درصد است(3).

هایپرکلسترولمی فامیلی هموزیگوت در دوران کودکی با سطح LDL بیش از 500 میلی‌گرم در دسی‌لیتر (در محدوده 650 تا 1000) بروز می‌کند(4). این بیماری علاوه بر رسوب چربی‌ها در عروق، موجب بیماری عروق کرونر (CHD:Coronary Heart Disease) زودرس علامت‌دار می‌شود و اغلب قبل از سن 30 سالگی سبب مرگ بیماران به دلیل ابتلا به بیماری قلبی عروقی می‌گردد. علائم بیماری همچنین ممکن است در اثر انسداد آئورت ناشی ازرسوبات بزرگ کلسترول در نواحی دریچه‌ای و فوق دریچه‌ای ایجاد شود و همچنین با گزانتلاسماهای بزرگ وگزانتومای برجسته تاندونی و گزانتوماهای مسطح همراه باشد، این افراد دچار CHD شدیدی در دوران کودکی هستند(5).

شایع‌ترین علت ژنتیکی هایپرکلسترولمی فامیلی، جهش‌های ژن مسئول گیرنده LDL می‌باشند. این ژن با اندازه تقریبی 45kb متشکل از 18 اگزون و 17 اینترون ، روی بازوی کوتاه کروموزوم 19 (19p3.13) واقع است و متشکل از 860 اسید آمینه می‌باشد که شش ناحیه عملکردی مربوط به پروتئین گیرنده LDL را کد می‌کند(6).

کاهش در فعالیت گیرنده LDL منجر به کاهش کاتابولیسم کلسترول LDL (LDL-C) و در نتیجه افزایش سطح کلسترول خون می‌گردد. تاکنون بیش از 600 جهش، شامل جایگزینی، حذف‌های کوچک و درج نوکلئوتیدی در ژن گیرنده LDL گزارش شده است(7). جهش‌های بدمعنی (missense) در ناحیه پیوندی گیرنده LDL به وسیله هایپرکلسترولمی فامیلی و بیماری عروق کرونر نا بهنگام مشخص شده‌اند(8) و حدود 0/2 درصد از جمعیت کل جهان (بیشتر از 10 میلیون) از لحاظ ژنتیکی مستعد ابتلا به این بیماری می‌باشند(9).

تحقیقات متعدد و گسترده‌ای در جهت کشف زوایای پنهان علل مولکولی و ژنتیکی افزایش کلسترول خون انسان در اقوام، نژادها و جمعیت‌های مختلف دنیا صورت گرفته است این در حالی است که در کشور ما تعداد ونوع این تحقیقات بسیار اندک و محدود بوده است(10).

لذا این مطالعه با هدف بررسی فراوانی جهش‌های ژن گیرنده LDL در استان چهار محال می‌باشد که نتایج آن در بهبود پیش آگهی و اطلاع رسانی زود هنگام در جهت کاهش مرگ و میر ناشی از ضایعات قلبی- عروقی و افزایش شاخص امید به زندگی موثر خواهد بود.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضریک پژوهش توصیفی- آزمایشگاهی است که در سال 1385 بر روی 50 نفر از بیماران قلبی عروقی مراجعه کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد که مشکوک به هایپرکلسترولمی فامیلی بودند، انجام شد. بیماران شامل 31 مرد و 19 زن با دامنه سنی 29 تا

75 سال و میانگین سنی 54/93 سال بودند. نمونه‌گیری به طور آسان انجام شد بدین صورت که ابتدا از کلیه بیماران باکسب رضایت، میزان 5 میلی‌لیتر خون ناشتا جهت آزمایشات بیوشیمیایی شامل کلسترول تام، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C و گلوکز گرفته شد و 5 میلی لیتر خون در لوله آزمایش محتوی اتیلن دی آمین ترا استیک اسید(EDTA) 0/5 مولار جهت آزمایشات مولکولی گرفته شد و بیمارانی که دارای LDL بیش از 190 میلی‌گرم در دسی لیتر(11) و کلسترول تام بیش از 240 میلی‌گرم در دسی لیتر بودند وارد مطالعه شدند و بیماران هایپرتیروئیدیسم، دیابتی، کبدی وکلیوی از مطالعه حذف شدند، چون این موارد بر روی تشخیص صحیح هایپرکلسترولمی فامیلی تاثیر گذار بوده و وجود این بیماری‌ها به طور مستقیم باعث افزایش بیش از حد سطح کلسترول پلاسما می‌شود(12).

جهت آزمایشات مولکولی، DNA کلیه نمونه‌های خون با استفاده از روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج شده و میزان آن با استفاده از اسپکتروفوتومتر Unico2100USA اندازه‌گیری شد. پرایمرهای اگزون‌های مورد نظرجهت تکثیر توالی ژن گیرنده LDL نیز با استفاده از توالی ژن گیرنده LDL با رمز دسترسی (NM-000527.3) و نرم افزار primer3 طراحی شدند(جدول 1).

جدول 1. توالی پرایمر های طراحی شده برای اگزون‌های مختلف ژن LDLR ، اندازه محصولات PCR مربوطه و دمای اتصال پرایمرها

اگزون	توالی	اندازه	دمای اتصال (Annealing)
2	R: 5' ATG CAT ATC ATG CCC AAA GG 3' F: 5' AGA CAC AGG AAA CGT GGT CA3'	221 bp	60ºC
4A*	F: 5' GTG GTC TCG GCC ATC CAT CC 3' R: 5' AGC CAT CTT CGC AGT CGG GG 3'	243 bp	67 ºC
4B*	R: 5' CGC CCC CAC CCT GCC CCG CC 3' F: 5' CCC CCA GCT GTG GGC CTG CG 3'	238 bp	67 ºC
6	F: 5' TGA ATG AGT GCC AAG CAA AC 3' R: 5' CTC CCC ACA AAC TCT GCC A 3'	234 bp	60 ºC
7	R: 5' GGG AGG TGG AGG TTG TAA TG 3' F:5'AGT CCC ACC CGG AAA TCA C 3 '	231 bp	60 ºC
8	F: 5' CAT TGG GGA AGA GCC TCC CC 3' R: 5' GCC TGC AAG GGG TGA GGC CG 3'	220 bp	63 ºC
9	R: 5'CAG GAG CCC TCA TCT CAC CT 3' F: 5' GGA TGG GGA GGC ACT CTT 3'	298 bp	62 ºC
10A*	F: 5' GAG AAT GAT CTG CAG GTG AGC 3' R: 5' ACA GAG ACA GTG CCC AGG AC 3'	241 bp	59 ºC
10B*	R: 5' GTT CCT GAA GCT CCT TCC TG 3' F: 5' CGT CAT CAG CAG AGA CAT CC3'	250 bp	59 ºC
12	F: 5' CCA GGT GCT TTT CTG CTA GG 3' R: 5' CCT AAG TGC TTG CAT CTC GT 3'	298 bp	59 ºC
14	F: 5' TGG AAA TTT CTG GAA TCT TCT G 3' R: 5' CAG AAA CAA GGC GTG TGC 3'	248 bp	60 ºC

* با توجه به این که محصولات PCR طویل تر از 300 جفت باز جهت انجام PCR-SSCP مناسب نیست برای هر کدام از اگزون‌های 4 و10 دو جفت پرایمر با محصولات هم پوشان طراحی شد.

جهت مطالعه جهش‌های مربوط به ژن LDLR هر نمونه واکنش PCR شامل 0/5 میکرولیتر از پرایمرهای F(10 پیکو مول)، 0/5 میکرولیتر از پرایمرR (10 پیکو مول)، 2 میکرولیتر $MgCl_2$ ، 2/5 میکرولیتر Buffer (10X) ، 0/5 میکرولیتر dNTP (10 میلی مول)، 0/1 میکرولیتر TaqDNAPolymerase و 1 میکرولیتر DNA (~100ng) را در میکروتیوپ ریخته و با آب مقطر دیونیزه (ddH2O) به حجم 25 میکرولیتر رسانده شد. میکروتیوب‌ها سپس تحت شرایط دمایی واسرشت اولیه 95 درجه سانتی‌گراد به مدت 90 ثانیه و سپس 5 سیکل شامل واسرشت در 95 درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال در 59 درجه سانتی‌گراد تا 67 درجه سانتی‌گراد (جدول 1) به مدت یک دقیقه، طویل شدن در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 2 دقیقه و سپس 26 سیکل شامل واسرشت در 94 درجه سامتی‌گراد به مدت یک دقیقه، اتصال در 59 درجه سانتی‌گراد تا 67 درجه سانتی‌گراد به مدت 50 ثانیه، طویل شدن در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 1 دقیقه و طویل سازی نهایی در 72 درجه سانتی‌گراد به مدت 8 دقیقه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر ASTEC,PC818-Japan قرار گرفته وتوالی‌های مورد نظر تکثیر شدند.

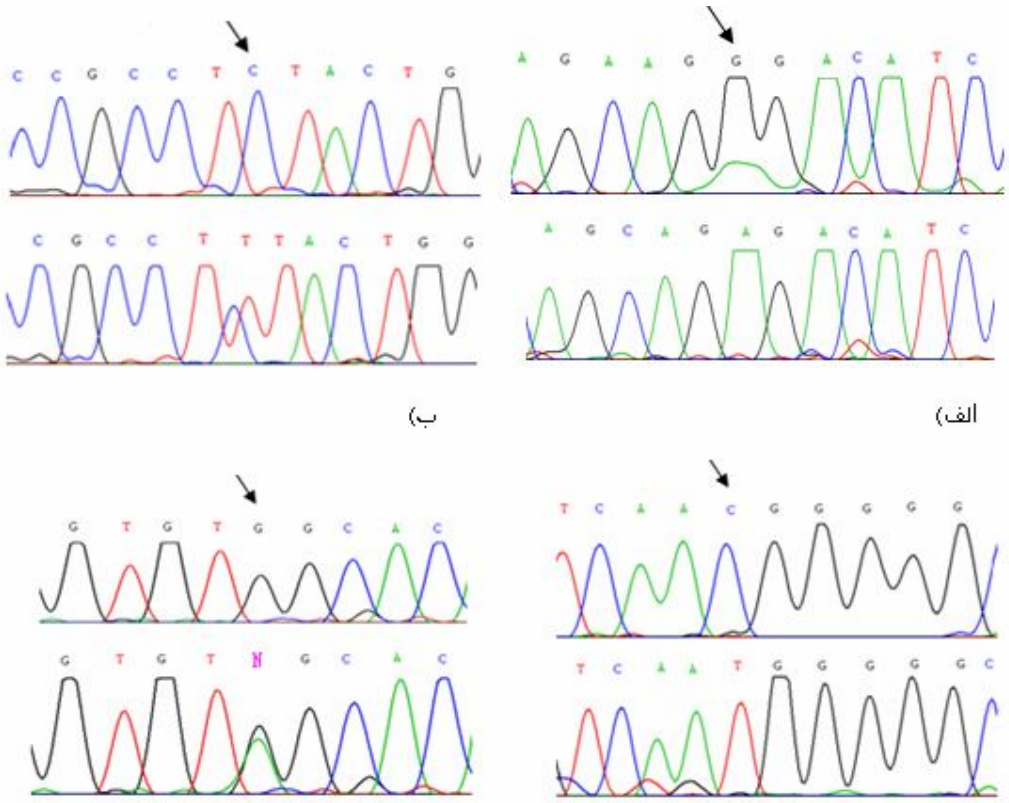
محصولات PCR به دست آمده درکنار یک نمونه DNA سالم یا کنترل بر روی ژل پلی اکریل آمید 8 درصد (Merck Germany) و تحت جریان 40 میلی آمپر به مدت 1 ساعت و30 دقیقه الکتروفورز شده وسپس توسط رنگ آمیزی نیترات نقره رویت شدند.

سپس هریک از اگزون‌ها با استفاده از تکنیک PCR- SSCP مورد بررسی قرار گرفتند. برای انجام SSCP از محصولات PCR که در مرحله قبل به دست آمد استفاده شد برای هر نمونه به میزان 3 میکرولیتر از محصولات PCR را با 3 میکرولیتر از لودینگ بافر مخصوص SSCP در یک میکروتیوب مخلوط نموده، سپس میکروتیوب‌ها را به مدت 15 دقیقه در دمای 96 درجه سانتی‌گراد قرار دادیم تا دورشته DNA ازهم جدا شوند. پس از مدت زمان لازم بلافاصله میکروتیوب‌ها را حداقل به مدت 5 دقیقه بر روی یخ قرار دادیم.

ژل پلی اکریل آمید مربوط به SSCP به نسبت 39:1 از بیس اکریل آمید/ اکریل آمید تهیه گردید و در تانک الکتروفورز قرار گرفت. سپس محصولات PCR آماده شده جهت SSCP به داخل چاهک‌های ژل ریخته شدند. در کنار نمونه‌ها یک نمونه ازمارکر و یک نمونه ازمحصول PCR مورد مطالعه به عنوان کنترل قرار داده شد. مدت زمان، شرایط دمایی و ولتاژ لازم برای اگزون‌های مختلف متفاوت بود. و برای هر نمونه با انجام آزمایشات متعدد و کسب تجربه به دست آمد. به طوری که برای اگزون‌های 9 و 12 الکتروفورز در دمای 10 درجه سانتی‌گراد، ولتاژ 60 و شدت جریان 8 میلی آمپر به مدت 16 ساعت انجام گردید و برای سایر اگزون‌ها دمای اتاق، ولتاژ 130 و شدت جریان 18 میلی آمپر به مدت 6 ساعت اعمال شد. پس از اتمام الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید با استفاده از نیترات نقره رنگ آمیزی شد و باندهای تشکیل شده روی Light box بررسی گردیدند.

یافته‌ها

همه نمونه‌ها با استفاده از پرایمرهای مربوط به اگزون‌های مورد نظر گیرنده LDL تکثیر گردیده و وجود باند مورد نظر برای آنها با الکتروفورز تایید شد. سپس محصولات PCR مربوط به هر اگزون با استفاده از تکنیک SSCP بر روی ژل پلی اکریل آمید مورد بررسی قرار گرفتند.کلیه نتایج به دست آمده با استفاده از روش تعیین توالی DNA مورد تائید نهایی قرار گرفت. در مجموع تعداد 4 پلی مورفیسم شامل 1725C>T, 1413G>A 2140+5G>A, 1773C>T به ترتیب در 2، 3، 2 و2 بیمار مشاهده شد که از آنها 1413G>A و 1773T>C در هر دو آلل یافت شدند(تصویر 1).



تصویر 1 . توالی های نوکلئوتیدی 4 پلی مورفیسم مختلف تشخیص داده شده در این مطالعه .الکتروفروگرام های توالی نرمال (وحشی) در بالا و توالی‌های پلی مورفیسم در پایین مشاهده می شوند. الف) پلی مورفیسم 1413G>A ، ب) 1725C>T ، ج) 1773C>T ، د) 2140+5G>A

بحث

در این مطالعه تغییرات نوکلئوتیدی در9 اگزون ژن گیرنده LDL را بررسی کردیم که پس از انجام روش‌های SSCP و سپس Sequencing به 4 مورد پلی مورفیسم در ژن گیرنده LDL در نمونه‌های بیماران مورد مطالعه پی‌بردیم. در جوامع مختلف گزارش‌های متفاوتی از فراوانی و انواع جهش‌ها در ژن مزبور ارائه شده است که بیشترین این جهش‌ها از نوع جابجایی بوده است. در کشورهای خاورمیانه مطالعات محدودتری بر روی هایپرکلسترولمی فامیلی انجام شده و از جمله در ترکیه، عربستان، سوریه، قبرس، کویت و ایران مطالعاتی بر روی این بیماری به صورت محدود انجام شده و جهش‌هایی در اگزون‌های 2 و 4 و 6 و 8 و 10 و 17 ژن گیرنده LDL مشاهده شده است. در مورد شیوع جهش‌های ژن گیرنده LDL در اروپا، بیشترین فراوانی از ایسلند در 60 درصد بیماران مورد مطالعه گزارش گردیده است(13). در مطالعه‌ای که در کشور ژاپن بر روی کلیه اگزون‌ها و ناحیه پروموتر انجام گرفته در 62/5 درصد بیماران مورد مطالعه جهش‌های متفاوت این ژن گزارش شده است(14).

در ایران در مورد جهش‌های ژن گیرنده LDL تنها یک مطالعه انجام گردیده است و در بین 30 بیمار مورد مطالعه یک مورد تغییر ژنی (445G>T) گزارش شده است و ادعا گردیده که این تغییر ژنی احتمالاً بیماری‌زا می‌باشد(10).

در هر حال تست‌های ژنتیکی برای جهش‌های هایپرکلسترولمی فامیلی در گیرنده LDL می‌تواند به تشخیص هایپرکلسترولمی فامیلی و مداخله در جلوگیری یا تاخیر CHD در هر سنی کمک کند. از اینرو وجود یک برنامه غربال‌گری پیشرفته می‌تواند جهت تشخیص زود هنگام این بیماری کمک کننده باشد.

ژن گیرنده LDL دارای 18اگزون و 17 اینترون بر روی بازوی کوتاه کروموزوم 19 انسان واقع بوده و بیش

از 600 جهش تا کنون در ژن گیرنده LDL گزارش شده است که این جهش‌ها از نوع اشتباه، حذف یا درج نوکلئوتیدی بوده و بیشتر از نوع جهش‌های اشتباهی در این ژن می‌باشد که این جهش‌ها درقومیت‌ها و جمعیت‌های متفاوت با توجه به تاثیر فاکتورهای خطر ساز بسیار متنوع هستند(15).

با توجه به تعداد زیاد اگزون (18 اگزون) در ژن گیرنده LDL کاربرد روش تعیین توالی جهت تشخیص جهش‌ها معمولاً بسیار پر هزینه است و لذا استفاده از روش‌های کم هزینه‌تر از جمله PCR-SSCP را بسیار موثر و کارآمد نموده است.

نتایج مطالعات ما بغیر از چند پلی مورفیسم، هیچ‌گونه جهشی را در اگزون‌های مورد مطالعه نشان نداد که این می‌تواند به علل زیر باشد:

1- ما فقط جهش‌های 9 اگزون از 18 اگزون ژن گیرنده LDL را بررسی نمودیم. بنابر این ممکن است جهش‌ها در اگزون‌های دیگر در جمعیت‌های مورد نظر مطرح باشد.

2- ما فقط یک جمعیت محدود50 نفری از استان چهار محال و بختیاری را مطالعه نمودیم و با توجه به این که کشور ما از نظر قومیت متنوع است نمی‌توان با مطالعه یک تعداد محدود از یک جمعیت، قضاوت نمود. بنابراین بررسی جمعیت‌های مختلف با تعداد بیشتر بیمار ضروری است.

3- ممکن است دخالت ژن‌های دیگری در ایجاد هایپرکلسترولمی فامیلی در ایران مطرح باشد که البته دخالت ژن‌های مختلف در مورد بسیاری از بیماری‌ها امری ثابت شده است و در مورد بیماری هایپرکلسترولمی فامیلی نیز مطالعات نشان داده به جز جهش در ژن گیرنده LDL جهش در ژن PCSK9 و ApoB نیز در ایجاد بیماری هایپرکلسترولمی فامیلی نقش دارند. همچنین تاکنون جهش‌هایی در ژن هایپرکلسترولمی فامیلی تیپ 3 بر روی کروموزوم 1 گزارش گردیده که در ایجاد هایپرکلسترولمی فامیلی نقش دارند(16).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه ارتباط جهش‌های ژن گیرنده LDL را با بیماران مشکوک به هایپرکلسترولمی فامیلی در جمعیت مورد مطالعه دراستان چهار محال و بختیاری نشان نداد و با توجه به اندازه کوچک جامعه مورد مطالعه وعدم بررسی همه اگزون‌ها، مطالعات وسیع‌تری در ارتباط با جمعیت این استان و سایر استان‌های کشور نیاز است تا این ارتباط به طور کامل روشن گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از کلیه بیماران که در این مطالعه با عنوان "بررسی جهش‌های 9 اگزون ژن گیرنده LDL در بیماران مشکوک به کلسترول بالای خانوادگی در استان چهارمحال و بختیاری " شرکت نمودند صمیمانه تشکر می‌نماید. این مطالعه از نظر مالی توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد در قالب گرانت شماره 339 مورخ 1384/12/21 تامین شده است.

منابع

1. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. Journal of Clinical Investigation. 2003;111(12):1795-803.

2. Shahverdi M, Agazadeh B.Ceci Essentials Medicine .Tehran. Golban pub. 2004.

3. Sun XM, Eden ER, Tosi I, Neuwirth CK, Wile D, Naoumova RP, et al. Evidence for effect of mutant PCSK9 on apolipoprotein B secretion as the cause of unusually severe dominant hypercholesterolaemia. Human molecular genetics. 2005;14(9):1161-9.

4. Oliver G, terminology Genetic Engineering. 1th.Tehran.Reserch Center Genetic Engineering pub. 1995.

5. Brown MS, Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia: defective binding of lipoproteins to cultured fibroblasts associated with impaired regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. Proceedings of the National Academy of

Sciences of the United States of America. 1974;71(3):788-792.
6. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis (Nobel lecture). Angewandte Chemie International Edition in English. 1986; 25(7): 583-602.
7. Lombardi MP, Redeker EJ, Defesche JC, Kamerling SW, Trip MD, Mannens MM, et al. Molecular genetic testing for familial hypercholesterolemia: spectrum of LDL receptor gene mutations in the Netherlands. Clinical genetics. 2000;57(2):116-124.
8. Estegamati A, Gholamrezanejad A, Tarbiat M, Tarbiat A. Harrisons Principles of Internal Medicine .Tehran. Nnoredanesh pub. 2006.
9. Whitfield AJ, Barrett PHR, van Bockxmeer FM, Burnett JR. Lipid disorders and mutations in the APOB gene. Clinical chemistry. 2004; 50(10): 1725–1732.
10. Pejman FE, Cyrus Z, Soghra R, Mohhamamad T, Shoreh KH. A Novel mutation in Exon 4 of the Low dencity Lipoprotein (LDL) Receotor Gele in an Iranian Familial hypercholesterolemia patient, Iranian biomedical Journal. 2005;9(3):139- 42
11. West of Scotland Coronery Prevention Study Group, Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. N Engl J. 1995; 333(4): 1301-07.
12. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, Macfarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. New England Journal of Medicine. 1995;333(20):1301.
13. Tybjærg-Hansen A, Humphries SE. Familial defective apolipoprotein B-100: a single mutation that causes hypercholesterolemia and premature coronary artery disease. Atherosclerosis. 1992;96(2-3):91-107.
14. Hirayama T, Yamaki E, Hata A, Tsuji M, Hashimoto K, Yamamoto M, et al. Five familial hypercholesterolemic kindreds in Japan with novel mutations of the LDL receptor gene. Journal of human genetics. 1998;43(4):250-4.
15. Varret M, Rabès JP, Saint-Jore B, Cenarro A, Marinoni JC, Civeira F, et al. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34. 1-p32. The American Journal of Human Genetics. 1999; 64(5): 1378-87.
16. Chae JJ, Kim SH, Kim UK, Han KH, Kim HS, Kastner DL, et al. Three novel small deletion mutations of the LDL receptor gene in Korean patients with familial hypercholesterolemia. Clinical genetics. 1999; 55(5): 325-31.