

The Association of Apolipoprotein A1 Polymorphisms with Diabetes and Hypertension in Patients with Coronary Artery Disease in Fars Province

Leila Hamidi¹, Saeed Khatamsaz^{2*}, Mohammad Javad Mokhtari³, Mohammad Ali Babaei Beigi⁴

1. Ph.D. Student in Animal Physiology, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Fars Science and Research Branch, Shiraz Branch, Islamic Azad University, Shiraz, Iran

2. Associate Professor of Animal Physiology, Department of Biology, Jiroft Branch, Islamic Azad University, Jiroft, Iran

3. Assistant Professor, Cellular and Molecular Biology, Department of Biology, Zarghan Branch, Islamic Azad University, Zarghan, Iran

4. Professor, Cardiologist, Department of Cardiology, School of Medicine, Shiraz Branch, University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

Received: 2 Aug 2017, Accepted: 24 Sep 2017

Abstract

Background: Coronary artery disease (CAD) is a multifactorial disorder, which remains asymptomatic for many years. Genetic and environmental factors are involved to this disease. In the past years, the role of apolipoproteins and their polymorphisms has been identified in the diseases. The aim of this study was to evaluate the correlation between gene polymorphisms of apolipoprotein A1 with diabetes, hypertension and cigarette smoking in CAD sufferers in Fars province.

Materials and Methods: This study evaluates the promoterregion polymorphisms up to intron 2 of APOA1 genes in 75 CAD cases and 75 controls. The method used to determine these polymorphisms was PCR sequencing. This case-control study was performed by odds ratio (OR, with a confidence interval of 0.95) to reveal the association of these polymorphisms with hypertension, diabetes and smoking in CAD patients.

Results: Four polymorphisms were identified in this area. The genotypes of AA in 12718466, GA in rs 670, TC in rs5070 and CC in rs 5069 had the highest frequency in all patient groups and controls. There was a significant association in Rs12718466 between control group with diabetic group ($p=0.033$).

Conclusion: The results of this study indicated that diabetes, hypertension and cigarette smoking had no effects in initiation and aggravation of CAD.

Keywords: Apolipoprotein A1, Coronary artery disease, Diabetes, Hypertension, Smoking

*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Jiroft Branch, Islamic Azad University, Jiroft, Iran

Email:saeed1617@yahoo.com

ارتباط پلی مورفیسم های ژن آپولیپوپروتئین A1 با بیماری های دیابت و فشار خون بالا در مبتلایان به آترواسکلروز عروق کرونر در استان فارس

لیلا حمیدی^۱، سعید خاتم ساز^{۲*}، محمد جواد مختاری^۳، محمد علی بابایی بیگی^۴

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات فارس، واحد شیراز، دانشگاه آزاد اسلامی، شیراز، ایران
۲. دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، واحد جیرفت، دانشگاه آزاد اسلامی، جیرفت، ایران
۳. استادیار زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد زرقان، دانشگاه آزاد اسلامی، زرقان، ایران
۴. استاد، فوق تخصص قلب و عروق، گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی، واحد شیراز، دانشگاه علوم پزشکی، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۱۱، تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۲

چکیده

زمینه و هدف: بیماری سرخرگ های کرونر (CAD) یک بیماری چند عاملی است که سال ها بدون علامت باقی می ماند. زمینه ژنتیکی و عوامل محیطی در ابتلا به CAD سرنوشت ساز هستند. در طول چند سال گذشته، نقش تعدادی از آپولیپوپروتئین ها و پلی مورفیسم های آن ها در بروز این بیماری مشخص شده است. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن آپولیپوپروتئین A1 با بیماری های دیابت، فشار خون بالا و استعمال سیگار در مبتلایان به CAD در استان فارس می باشد.

مواد و روش ها: این مطالعه به بررسی پلی مورفیسم های ناحیه پروموتور تا اینترون ۳ ژن APOA1 در ۷۵ مورد مبتلا به CAD و ۷۵ مورد شاهد می پردازد. روش مورد استفاده برای تعیین این پلی مورفیسم ها PCR-sequencing بود. این مطالعه مورد-شاهدی به وسیله نسبت شاناس (OR) با فاصله اطمینان ۰/۹۵ برای آشکار ساختن ارتباط این پلی مورفیسم ها با ابتلا به فشار خون بالا، دیابت و استعمال سیگار در مبتلایان به CAD صورت گرفت.

یافته ها: تعداد چهار پلی مورفیسم در ناحیه مورد نظر شناسایی شد که ژنوتیپ های AA در GA, rs ۱۲۷۱۸۴۶۶ در TC, rs ۵۰۷۰ و CC در IS ۵۰۶۹ دارای بیشترین فراوانی در تمام گروه های بیمار و شاهد بودند. rs ۱۲۷۱۸۴۶۶ در IS مبتلایان به دیابت ارتباط معنی داری را با گروه شاهد نشان داد $p=0.033$.

نتیجه گیری: با توجه به این مطالعه، مشخص شد که بیماری های دیابت، فشار خون بالا و نیز استعمال سیگار از طریق این ژن تأثیری در شروع و تشدید CAD ندارند.

واژگان کلیدی: بیماری سرخرگ های کرونر، آپولیپوپروتئین A1، دیابت، فشار خون بالا، سیگار

*نویسنده مسئول: ایران، جیرفت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جیرفت، گروه زیست شناسی

Email:saeed1617@yahoo.com

مقدمه

بیماری سرخرگ‌های کرونر (CAD) یک بیماری مزمن است که سال‌ها بدون علامت باقی می‌ماند (۱). این بیماری ۳۰ درصد از کل مرگ و میرها در دنیا را به خود اختصاص داده است (۲). در ایران نیز این بیماری با ۳۳ تا ۳۸ درصد مرگ میردر صدر علل مرگ در کشور قرار دارد (۳). عوامل گوناگونی در ایجاد CAD شرکت دارند که به دو دسته عوامل غیرقابل اصلاح و عوامل قابل اصلاح تقسیم می‌شوند. عوامل غیرقابل اصلاح عبارت‌اند از: سن بالا، جنسیت، سابقه فامیلی بیماری قلبی عروقی و عوامل قابل اصلاح شامل استعمال سیگار، فشارخون بالا و دیابت شیرین می‌باشند (۴). مطالعات اپیدمیولوژیک رابطه فشار خون بالا و CAD را تایید می‌کنند (۵). خطر ابتلا به CAD در بیماران دیابتی ۲ تا ۴ برابر بیشتر از افراد عادی است (۶). هم‌چنین استعمال سیگار مرگ و میر ناشی از CAD را تا ۵۰ درصد افزایش می‌دهد (۷). احتمالاً یکی از عوامل ابتلا این افراد به CAD، کاهش (High Density Lipoprotein HDL-C:Cholesterol) خون است (۸). ۵۵ درصد از ترکیب HDL-C را پروتئین تشکیل می‌دهد و مهمترین نقش آن انتقال معکوس کلسترول از بافت‌ها به کبد است (۹). مهم‌ترین بخش پروتئینی HDL-C آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1) است (۱۰). برخی مطالعات سطوح پایین این آپولیپو پروتئین را به طور معکوس با بیماری CAD مرتبط می‌دانند (۱۱)، هرچند که در برخی مطالعات ارتباط معنی‌دار دیده نشده است (۱۲). ژن NC-APOA1 (000011) بر روی کروموزوم ۲۴، ۲۳q۱۱ قرار گرفته و دارای ۵ اگزون است (۱۳). به نظر می‌رسد که برخی از عوامل قابل اصلاح از جمله دیابت، فشار خون بالا و مصرف سیگار می‌توانند باعث تغییر درتوالی نوکلئوتیدی ژن APOA1 شده و خطر ابتلا به CAD را افزایش دهند (۱۴). در این مطالعه سعی شده است به این پرسش پاسخ داده شود آیا ارتباطی میان شیوع پلی‌مورفسم‌های ژن APOA1 و

فاکتورهای خطر از قبیل فشارخون بالا، ابتلا به دیابت و استعمال سیگار در بیماران مبتلا به CAD در استان فارس وجود دارد یا خیر؟

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک مطالعه مورد-شاهدی است که در بخش آنژیوگرافی قلب بیمارستان نمازی شیراز انجام شد. مجوز این پژوهش از کمیته اخلاق علوم پزشکی بیمارستان نمازی شیراز با شماره ۷۱-۶۳-۱۴ دریافت گردید. با استفاده از مطالعات مشابه (۱۵)، حجم نمونه لازم برای مطالعه ۷۵ بیمار و ۷۵ فرد سالم به دست آمد. سطح آلفا ۰/۰۵ و قدرت مطالعه ۸۰ درصد تعیین گردید. محدوده سنی افراد بیمار و سالم ۵۰ تا ۷۵ سال بود. اطلاعات بالینی با استفاده از پرسش‌نامه جمع‌آوری شد. اطلاعات جمع‌آوری شده شامل سن، جنسیت، وضعیت ابتلا به CAD، ابتلا به فشار خون بالا، دیابت و سابقه استعمال دخانیات بود. معیار ورود بیماران به مطالعه ابتلا به CAD بالای ۶۰ درصد در سه سرخرگ کرونر بود که توسط پزشک متخصص قلب و عروق تایید گردید. معیار خروج از مطالعه سابقه مصرف داروهای مربوط به فشار خون بالا و دیابت بود که از مراجعین در قالب پرسشنامه پرسیده شد و در صورت مثبت بودن جواب، فرد از مطالعه خارج می‌شد. از میان بیمارانی که به مطالعه وارد شدند ۲۵ نفر سابقه ابتلا به فشار خون سیستولیک بالاتر از ۱۳۰ میلی‌متر جیوه، ۲۵ نفر سابقه داشتن قند خون ناشتا بالاتر از ۱۲۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و ۲۵ نفر سابقه مصرف حداقل ۱۰ نخ سیگار در روز به مدت حداقل ۱۰ سال را داشتند. آزمایشات مربوط به چربی‌های خون شامل HDL-C، LDL-C، تری‌گلیسرید و کلسترول تام که به روش رنگ‌سنجی آنزیمی و قند خون ناشتا که به روش آنزیم گلوکز اکسیداز و با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) انجام شده بود در پرونده موجود بودند که یک روز قبل از انجام آنژیوگرافی و بعد از ۱۲ ساعت ناشتا گرفته شده بود. فشار خون نیز در ابتدای ورود بیمار به بخش آنژیوگرافی براساس روش

(نسخه ۳/۰۱) و روش BLAST سایت ملی مرکز اطلاعات زیست فن آوری (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) طراحی و بهینه شده بود ناحیه پروموتور تا اینترون ۲ از ژن APOA1 به طول ۸۵۶ pb طی واکنش زنجیره ای پلیمرز تحت شرایط زیر تکثیر گردید:

۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومیک به مخلوط واکنشی حاوی بافر Taq (۱۰ میلی مولار تریس - کلراید (PH:9) □ ۵۰ میلی مولار کلراید پتاسیم □ ۱/۱، تریتون X-100 □ 25μl Taq DNA Pol 2x Master mix Red (Ampliqon, Denmark)، ۵ پیکومول بر میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها و آب برای رساندن به حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر استفاده شد. واکنش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر اتوماتیک گرایانت ۴۸ (گوتیژن آلمان) به این ترتیب انجام پذیرفت: ابتدا واسرشت اولیه در دمای ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه و به دنبال آن ۳۲ چرخه از دماهای ۹۵ °C برای مدت ۳۰ ثانیه □ ۶۲ °C (دمای اتصال پرایمر) برای مدت ۳۰ ثانیه انجام پذیرفت و سپس تکثیر در ۷۲ °C برای ۹۰ ثانیه، و مرحله تکثیر نهایی در ۷۲ °C بمدت ۵ دقیقه استفاده شد. محصول PCR نیز به روش الکتروفورز بر روی ژل آگارز (رچ □ آلمان) و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید در مقابل نور فرا بنفش آشکار سازی شد. پس از آن محصول PCR توسط شرکت میکروژن کره جنوبی و با روش دزوکسی فلورسانت (توالی‌یابی سینگر) و با دستگاه توالی‌یابی Genetic Analyer3130 (ساخت کمپانی ای بی ای آمریکا) توالی‌یابی شد. نتایج توالی‌یابی با نرم افزار Chromas نسخه ۲/۴ و پایگاه داده NCBI - Blast آنالیز گردید.

پیشنهادی سازمان بهداشت جهانی اندازه‌گیری گردید، به طوری که بعد از ۱۵ دقیقه استراحت بیمار، فشار خون او دو بار در وضعیت نشسته از دست راست اندازه‌گیری شده و میانگین دو بار اندازه‌گیری به عنوان فشار خون در نظر گرفته شد (۱۶). بعد از اطلاع رسانی مناسب با اخذ موافقت نامه کتبی ۷ میلی لیتر خون وریدی از بیمار گرفته شد. ۴ میلی لیتر درون لوله های آزمایش gel activator برای تشکیل لخته و ۳ میلی لیتر درون لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA (نیم مولار) گرفته شد. برای انتخاب گروه شاهد، ۷۵ فرد سالم بدون سابقه ابتلا به CAD، فشار خون بالا، دیابت و استعمال سیگار که دارای بیشترین شباهت به بیماران بودند انتخاب شدند. به این منظور پرسش‌نامه‌ها میان تعدادی از مراجعین به آزمایشگاه بیمارستان نمازی شیراز توزیع و تکمیل گردید. فشار خون اعضای گروه شاهد نیز به صورت فوق اندازه‌گیری گردید. پس از توضیح کافی به مراجعین، با اخذ موافقت نامه کتبی دو نمونه خون وریدی لخته و حاوی ماده ضد انعقاد EDTA گرفته شد. هم‌چنین، اطلاعات مربوط به چربی‌ها و قند خون افراد از آزمایشگاه دریافت گردید. سطح پروتئین ApoA1 در هر دو گروه با روش ایمونوتوربیدومتری و با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران، ایران) اندازه‌گیری گردید. DNA ژنومیک افراد با استفاده از روش استاندارد نمک اشباع (۱۷) از خون محیطی استخراج شده و روش PCR-Sequencing جهت تعیین ژنوتیپ افراد مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا با استفاده از یک جفت پرایمر با توالی‌های درج شده در جدول ۱ که با کمک نرم افزار Gene Runner (Hastings software Inc)

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده در PCR

| | Sequence (5'→3') | Length | Tm | GC درصد | Self comple ntarity | Self 3' complement arity | |
|----------------|------------------------|--------|-----------|-----------|---------------------|--------------------------|---------------|
| Forward primer | AGGACCTGCTGGGGACT AAAG | 21 | 61.1 8 | 57.1 4 | 5.00 | 2.00 | (Tm = 58.6°C) |
| Reverse primer | TGAGAAACCTGCTGCCT CTGC | 21 | 62.9 2 | 57.1 4 | 3.00 | 2.00 | (Tm = 58.6°C) |

تحلیل آماری

داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰ تجزیه و تحلیل شد. آنالیز توصیفی به وسیله گزارش فراوانی‌ها و مقادیر میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. برای بررسی و مقایسه میانگین یک فاکتور کمی در بین طبقات یک متغیر دسته بندی از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس و آزمونهای تعقیبی دان استفاده شد. برای بررسی رابطه بین IS و گروه‌های مربوطه از آزمون کای دو یا معادل آن، تست دقیق فیشر استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه مجموعاً ۱۵۰ نفر مراجعه کننده (۸۳ نفر مرد و ۶۷ نفر زن) شرکت داشتند. میانگین سن گروه بیماران به تفکیک گروه‌ها شامل فشار خون بالا ۵۴/۱۰ \pm ۶۱/۲۴ مبتلایان به دیابت ۹/۶ \pm ۶۴/۱۲ \pm ۶۳/۹۲ \pm ۶۰/۸۳ \pm ۹/۰۶ سال بود. میانگین سن گروه شاهد ۶۰/۸۳ \pm ۹/۰۶ سال بود که تفاوت میانگین این چهار گروه سنی به لحاظ آماری معنی‌دار نبود ($p \leq 0/588$). جدول ۲

نتایج آزمون کروسکال والیس را برای بررسی اختلاف میانگین متغیرهای کمی پیوسته شامل فشار خون سیستولیک، فشار خون دیاستولیک، LDL-C، HDL-C کلسترول تام، تری گلیسرید و قندخون ناشتا را بین گروه‌های مختلف، به تفکیک نشان می‌دهد. نتایج آزمون تعقیبی دان برای متغیرهای بیوشیمیایی اصلی در این مطالعه شامل قند خون ناشتا، فشار خون سیستولیک و دیاستولیک و سطح HDL-C به ترتیب نشان می‌دهد که میانگین میزان قند خون ناشتا بین گروه دیابتی با گروه‌های شاهد، مصرف کنندگان سیگار و فشار خون بالا در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است. میانگین فشار خون سیستولیک و فشار خون دیاستولیک بین گروه فشار خون بالا با گروه‌های شاهد، سیگاری و دیابتی در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار می‌باشد. همچنین میانگین سطح HDL-C بین گروه شاهد با گروه‌های سیگاری، دیابتی و فشار خونی در سطح ۰/۰۰۱ معنی‌دار است. بررسی میانگین میزان سرمی پروتئین ApoA1 در بیماران مبتلا به CAD نشان داد بین گروه‌های مربوطه اختلاف معنی‌دار وجود ندارد (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین متغیرها بالینی و بیوشیمیایی به تفکیک گروه‌های مختلف

| شاخص | شاهد N=۷۵ | سیگار N=۲۵ | دیابت N=۲۵ | فشار خون بالا N=۲۵ | p |
|---|---------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|---------|
| قند خون ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر) | ۸۶/۵۶ \pm ۸/۱ | ۸۴/۶۰ \pm ۸/۱۷ | ۱۴۷/۲۸ \pm ۱۸/۷ | ۸۷/۱۲ \pm ۸/۵۶ | *.۰/۰۰۱ |
| تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر) | ۹۱/۳۷ \pm ۱۵/۴۰ | ۸۳/۵۰ \pm ۱۷/۹۱ | ۱۰۹/۸۸ \pm ۱۷/۳۳ | ۱۰۶/۰۲ \pm ۲۵/۱۷ | *.۰/۰۰۱ |
| کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر) | ۱۷۱/۰۹ \pm ۱۸/۴۹ | ۲۰۱/۷۶ \pm ۴۲/۵۴ | ۱۴۹/۲۴ \pm ۳۴/۰۴ | ۱۳۶/۲۳ \pm ۲۳/۴۹ | *.۰/۰۰۱ |
| LDL-C (میلی گرم بر دسی لیتر) | ۸۸/۰۳ \pm ۱۳/۲۱ | ۱۰۳/۶۵ \pm ۱۱/۵۵ | ۱۲۱/۶۰ \pm ۲۳/۵۱ | ۹۹/۰۷ \pm ۱۳/۹۸ | *.۰/۰۰۱ |
| HDL-C (میلی گرم بر دسی لیتر) | ۳۷/۸۳ \pm ۵/۰۴ | ۲۶/۶۱ \pm ۳/۷۷ | ۳۰/۵۲ \pm ۵/۳۰ | ۲۸/۸۵ \pm ۳/۳۸ | *.۰/۰۰۱ |
| فشار سیستولیک (میلی متر جیوه) | ۱۱۸/۰۵ \pm ۴/۲۳ | ۱۲۲/۸۷ \pm ۶/۳۴ | ۱۱۸/۶۴ \pm ۵/۱ | ۱۳۷/۰۳ \pm ۵/۶۵ | *.۰/۰۱۵ |
| فشار دیاستولیک (میلی متر جیوه) | ۸۱/۹۰ \pm ۳/۱ | ۸۴/۳۰ \pm ۵/۲۲ | ۸۱/۱۹ \pm ۲/۵۴ | ۹۱/۴۷ \pm ۶/۳۱ | *.۰/۰۰۱ |
| ApoA ₁ (میلی گرم بر دسی لیتر) | ۱۰۴/۶۶۸ \pm ۳/۹۴۵ | ۹۸/۷۶۳ \pm ۳/۲۸۶ | ۹۵/۵۹۲ \pm ۲/۲۰۷ | ۹۴/۱۶۱ \pm ۳/۹۴۵ | .۰/۸۴۵ |

پلی مورفیسم‌های مشاهده شده

توالی ناحیه پروموتور تا اینترون ۲ ژن ApoA1 تجزیه و تحلیل شد و چهار پلی مورفیسم در جمعیت مورد مطالعه مشاهده گردید. جایگاه این پلی مورفیسم‌ها عبارتند از: rs ۱۲۷۱۸۴۶۶ (T>G) و rs ۶۷۰ (C>T)، در ناحیه غیرکد شونده پروموتور، rs ۵۰۶۹ (G>A) در ناحیه اینترون ۱ و rs ۵۰۷۰ (A>G) در ناحیه اینترون ۲. ژنوتیپ‌های AA در rs ۱۲۷۱۸۴۶۶، در rs ۶۷۰، در rs ۵۰۶۹ و CC در rs ۵۰۷۰ دارای بیشترین فراوانی در تمام گروه‌های بیمار و شاهد هستند. در این مطالعه rs ۱۲۷۱۸۴۶۶ در گروه مبتلایان به دیابت ارتباط معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داد (جدول ۳).

جدول ۳: فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده ژن APOA1 در گروه شاهد و گروه‌های مختلف بیماران مبتلا به CAD

| OR | p | مبتلایان به دیابت N=25 | p | مبتلایان به فشار خون بالا N=25 | p | سیگاری‌ها N=25 | شاهد N=75 | پلی مورفیسم‌ها |
|------|-------|---------------------------|-------|-----------------------------------|-------|-------------------|--------------|----------------|
| | | | | | | | | Rs670 |
| - | | ۷ | | ۱۲ | | ۹ | ۳۲ | GA |
| ۱/۳۴ | ۰/۴۲۰ | ۱۰ | ۰/۸۳۴ | ۷ | ۰/۸۶۶ | ۹ | ۲۵ | GG |
| ۱/۴۱ | | ۸ | | ۶ | | ۷ | ۱۸ | AA |
| | | | | | | | | Rs5069 |
| - | | ۱۲ | | ۱۱ | | ۱۴ | ۳۰ | CC |
| ۱/۶۹ | ۰/۷۸۱ | ۸ | ۰/۳۴۴ | ۱۲ | ۰/۲۵۵ | ۶ | ۲۸ | TT |
| ۱/۰۹ | | ۵ | | ۲ | | ۵ | ۱۷ | CT |
| | | | | | | | | Rs5070 |
| - | | ۱۳ | | ۷ | | ۳ | ۲۹ | TC |
| ۱/۲۲ | ۰/۴۹۱ | ۷ | ۰/۲۵۷ | ۷ | ۰/۳۲۳ | ۹ | ۲۵ | CC |
| ۱/۰۸ | | ۵ | | ۱۱ | | ۱۳ | ۲۱ | TT |
| | | | | | | | | Rs12718466 |
| - | | ۱۵ | | ۱۰ | | ۱۱ | ۳۴ | AA |
| ۱/۱ | ۰/۰۳۳ | ۰ | ۰/۳۴۴ | ۷ | ۰/۸۴۲ | ۷ | ۱۷ | AC |
| ۰/۸۹ | | ۱۰ | | ۸ | | ۷ | ۲۴ | CC |

بحث

ساختمانی و عملکردی پروتئین ApoA1 موثر هستند که البته در این مورد اتفاق نظر وجود ندارد (۲۰). rs ۶۷۰ و rs ۵۰۶۹ از پلی مورفیسم‌های شایع در این ژن هستند و تنها عملکرد این دو پلی مورفیسم شناخته شده است (۲۱). مطالعات نشان می‌دهند ژنوتیپ GA از rs ۶۷۰ و ژنوتیپ TC از rs ۵۰۷۰ فراوانترین ژنوتیپ‌ها هستند (۲۲). بررسی‌ها نشان می‌دهند که فراوانی rs ۶۷۰ و rs ۵۰۶۹ در افراد سالم و دیابتی مشابه است (۲۳). اما بیان ژن APOA1 در بیماران دیابتی کاهش می‌یابد (۲۴). در این مطالعه مشاهده شد rs ۱۲۷۱۸۴۶۶ در گروه مبتلایان به دیابت اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان داد

وراثت و محیط دو عامل موثر در ابتلا به CAD است. مطالعات متعدد کاهش سطح HDL-C، فشارخون بالا، دیابت و استعمال سیگار را در شروع و تشدید CAD تایید می‌کنند (۱۸). هم‌چنین ارتباط سطوح ApoA1 با CAD تا حدودی مشخص گردیده است، اما ارتباط عوامل خطر فوق با پلی مورفیسم‌های موجود در این ژن در بیماران مبتلا به CAD کمتر بررسی شده است. البته ارتباط برخی از این پلی مورفیسم‌ها با بیماری‌های مختلف مشخص شده است (۱۹). برخی از پلی مورفیسم‌ها احتمالاً در تعیین روابط

و حتی ویژگی‌های بیوشیمیایی پروتئین ApoA1 تاثیر می‌گذارند و از این طریق، در مسیر متابولیسم HDL-C (مثلا، تغییر در فعالیت LCAT) دخالت کرده و باعث تغییر در سطوح سرمی HDL-C می‌شوند. از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به کوچکی اندازه جمعیت مورد مطالعه و توالی یابی در منطقه محدودی از ژن اشاره کرد. از این رو، پیشنهاد می‌شود برای رفع برخی از ابهامات موجود، در مطالعات بعدی توالی یابی در تمامی نواحی ژن صورت گرفته و مداخلات پلی مورفیسم‌های ژن APOA1 در یک جمعیت بزرگ‌تر ایرانی بررسی شود.

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، مطالعه حاضر نشان داد که میزان پروتئین ApoA1 در بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر و افراد سالم تفاوت معنی‌داری ندارد. با این حال، شیوع پلی مورفیسم rs12718466 در مبتلایان به دیابت اختلاف معنی‌داری را با گروه شاهد نشان می‌دهد. به نظر می‌رسد میان پلی مورفیسم‌های موجود در نواحی غیر کدکننده ژن APOA1 با بیماری‌های دیابت، فشار خون بالا و استعمال سیگار ارتباط معنی‌داری وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از تمام شرکت‌کنندگان در این مطالعه صادقانه سپاس‌گزاری می‌گردد. هم‌چنین، از تمام پرسنل محترم بخش آنژیوگرافی قلب و عروق و بیماران بیمارستان نمازی شیراز که در انجام این پروژه ما را یاری کردند کمال قدردانی به عمل می‌آید. این مقاله بخشی از رساله دکتری نویسنده اول بوده و تامین کلیه هزینه‌های آن را نیز بر عهده گرفته است.

منابع

1. Sanchis-Gomar F, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Ann Transl Med*. 2016 4(13):256

(جدول ۳). rs5070 دارای یک برهمکنش مثبت با مصرف دخانیات و الکل است. افراد سیگاری با ژنوتیپ‌های CT و CC نسبت به ژنوتیپ TT دارای سطح بالا تری از تری گلیسرید هستند، ولی این موضوع در مورد غیرسیگاری‌ها صدق نمی‌کند (۲۵). براساس یافته‌های یان هوا و همکاران، احتمال ابتلا به سندروم متابولیک در افرادی که قبلا سیگار مصرف می‌کرده‌اند نسبت به افرادی که اکنون سیگار مصرف می‌کنند بسیار بیشتر است. (۲۶). علت این تفاوت می‌تواند این باشد که افراد مبتلا به بیماری‌های مزمن، مانند فشارخون بالا و دیابت به ترک سیگار ترغیب شده باشند. به علاوه، احتمال دخالت انواع خاصی از پلی مورفیسم‌های ژن APOA1 در ایجاد فشارخون بالا وجود دارد. فورویا و همکاران (۲۷) نشان دادند که آلل G از rs670 و آلل C از rs5070 باعث افزایش در فشار سیستولیک و دیاستولیک خون می‌شود. با این حال، در مطالعه حاضر تفاوت میان گروه مبتلایان به فشارخون بالا و افراد سالم در این پلی مورفیسم دیده نشد (جدول ۳). مقایسه میان فراوانی آلل‌های دو پلی مورفیسم rs5070 و rs670 در جمعیت‌های مختلف نشان می‌دهد که احتمالا نوعی همولوژی اجدادی برای این ژن و پلی مورفیسم‌های آن در ملیت‌های مختلف دنیا وجود دارد و همگی از یک منشا ژنتیکی مشتق شده‌اند (۲۸). نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی پروتئین ApoA1 در گروه‌های مختلف وجود ندارد. این نتایج با یافته‌های قبلی مطابقت دارد. در مطالعه لویز و همکاران در سال ۲۰۱۲، ارتباطی میان این پلی مورفیسم‌ها و سطح سرمی ApoA1 مشاهده نشد (۲۹). اما در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که حاملین این پلی مورفیسم‌ها افزایش اختصاصی را در میزان ApoA1 نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند (۳۰). از آنجا که پلی مورفیسم‌های بررسی شده در این مطالعه در ناحیه غیر کد شونده ژن APOA1 قرار دارند به نظر می‌رسد دارای تاثیر مستقیم بر سطح سرمی ApoA1 نیستند. احتمالا این پلی مورفیسم‌ها از طریق مکانیسم‌های مختلف بر عملکرد، ساختار

2. Chiha M, Njeim M, and G. Chedrawy E. Diabetes and Coronary Heart Disease: A Risk Factor for the Global Epidemic. *Int Jour Hyper*. 2012, Article ID 697240, 7 pages.
3. Boroumand MA, Davoodi G, Amirzadegan A, Saadat S, Abbasi SH, et al. Correlation between lipoprotein(a) serum concentration and severity of coronary artery stenosis in an Iranian population according to Gensini score. *Clin Biochem*. 2008; 41(3):117-20
4. Daniel M AS, Caidahl K, Collste O, Ekenbäck C, Frick M, Y-Hassan S, Henareh L, Jernberg T, Malmqvist K, Schenck-Gustafsson K, Sörensson P, Sundin O, Hofman-Bang C, Tornvall P. Effect of Myocardial Infarction With Nonobstructive Coronary Arteries on Physical Capacity and Quality-of-Life. *American journal of cardiology*. 2017; 120(3):341-6
5. Milane A, Kanbar R, Khazen G, Ghassibe-Sabbagh M, Salloum A, Youhanna S, Saad A, El Bayeh H, Chammas E, Platt D, Hager J, Gauguier D, Zalloua P. Association of hypertension with coronary artery disease onset in the Lebanese population. *SpringerPlus*. 2014; 12(3):533-7.
6. Swaminathan K, Jebamani S. Diabetes and coronary artery disease in South Asians. *The British Journal of Diabetes & Vascular Disease*. 2013; 13(3):124-9
7. Kamceva G, Ruskovska T, Zdravkovska M, Kamceva-Panova L, Stikova E. Cigarette Smoking and Oxidative Stress in Patients with Coronary Artery Disease. *Macedonian Journal of Medical Sciences*. 2016; 12(4):324-31
8. Ossoli A, Calabresi L. High-Density Lipoprotein, Lecithin: Cholesterol Acyltransferase, and Atherosclerosis. *Endocrinol Metab* 2016; 31(2):223-9
9. Ghatreh Samani K, Farrokhi E, Hashemzadeh Chaleshtory M, Heidarian E. Study of the relationship of activation and -107 C/T polymorphism in Paraoxonase 1 gene and fatty acid diversity in phospholipids of high density Lipoprotein. *AMUJ*. 2013; 16(74): 67-76
10. Silbernagel G, Drechsler C, Scharnagl H, Grammer T, Stojakovic T, Vera Krane V. HDL Cholesterol, Apolipoproteins, and Cardiovascular Risk in Hemodialysis Patients. *JASN*. 2015; 26(2):484-92
11. Sáez Y, Santos M, Sáez de J, Sagastagoitia J, Molinero E, Iriarte A. Relation of High-Density Lipoprotein Cholesterol and Apoprotein A1 Levels with Presence and Severity of Coronary Obstruction. *International Scholarly Research Notices*. 2012; 14(2):128-32
12. LuJin J. Plasma free fatty acids in relation with the severity of coronary artery disease in non-diabetics: A Gensini score assessment. *IJC Metabolic & Endocrine*. 2017; 14(2):48-52
13. National Center for Biotechnology Information. Availalbal from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
14. Huang T. Gene-environment interactions and obesity: recent developments and future directions. *BMC Medical Genomics*. 2015; 8(1):27-32
15. Pisciotta L, Miccoli R, Cantafora A, Calabresi L, Tarugi P, Alessandrini P, et al. Recurrent mutations of the apolipoprotein A-I gene in three kindreds whit sever HDL deficiency. *Atherosclerosis*. 2003; 167:335-345
16. Kayima J, Katamba A, Leontsini E, Nuwaha F. Hypertension awareness, treatment and control in Africa: a systematic review. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2013; 45(4):85-9
17. Russell -JFSa. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3rd ed., Vols 1,2 and 3. 2001
18. Foody J HY, Ji L, Zhao D, Boyd D, Meng H, Shiff S, Hu D. Unique and Varied Contributions of Traditional CVD Risk Factors: A Systematic Literature Review of CAD Risk Factors in China. *Clin Med Insights Cardiol*. 2013; 7(5):59-86
19. Ma C LJ, Bao Z, Ruan Q, Yu1 Z. Serum Levels of ApoA1 and ApoA2 Are Associated with Cognitive Status in Older Men. *BioMed Research International*. 2015; 14(2):121-31
20. Bandarian F HM, Daneshpour M, Naseri M, Azizi F. Genetic Polymorphisms in the APOA1 Gene and their Relationship with Serum HDL Cholesterol Levels. *Lipids in Health and Disease*. 2013; 48(12):1207-16

21. Ding Y ZM, Wang Z, Zhu J, Feng J, Li D. . Associations of Polymorphisms in the Apolipoprotein APOA1-C3-A5 Gene Cluster with Acute Coronary Syndrome. *J Biomed Biotechnol.* 2012; 48(2):118-23
22. Dodani S DY, Zhu H, George V. Can novel Apo A-I polymorphisms beresponsible for low HDL in South Asian immigrants? *Indian J Hum Genet* 2008; 14(1):9-15
23. Ina K HT, Kuzuya M. The importance of HDL cholesterol levels in diabetic individuals: 9.2-year survey of cardiovascular events. *Atherosclerosis.* 2016; 252(3):31-8.
24. Liao B CK, Dong S, Liu H , Xu Z. Effect of apolipoprotein A1 genetic polymorphisms on lipid profiles and the risk of coronary artery disease. *Diagnostic Pathology.* 2015; 10(4):102-9
25. TN L CW, He F, Yuan W, SX L, HW L, HY L, Wu M. Relationship between the G75A polymorphism in the apolipoprotein A1 (ApoA1) gene and the lipid regulatory effects of pravastatin in patients with hyperlipidemia. *Genet Mol Res.* 2016; 15(2):58-64.
26. Kim C J-mLJ, Park S , Kim K1, Lee M, Paik S, Jang A , Kim D , Uh S, Kim Y, Park C. Attenuation of Cigarette Smoke-Induced Emphysema in Mice by Apolipoprotein A-1 Overexpression. *ATS Journals.* 2016; 54(1):86-91
27. Furuya T CE, Mazzottit O, Ramos L. Association of APOA1 and APOA5 polymorphisms and haplotypes with lipid parameters in a Brazilian elderly cohort. *Genet Mol Res.* 2013; 12(3):3495-9
28. DW F RM, H1 G, Yan Y, Niu Q N, SG1 L, DS R, Sun F, Zhang M1, Zhang JY1, JM L, Wang K , Guo SX1.41-. Association of APOA1 gene polymorphisms (rs670, rs5069, and rs2070665) with dyslipidemia in the Kazakhs of Xinjiang. *Genet Mol Res.* 2016; 27(12):100-18
29. Yanyan Chen W, Jiang M, Ding L, Shi H, Dong P, Yang J, Yang Y. Atherosclerotic dyslipidemia revealed by plasma lipidomics on ApoE-/- mice fed a high-fat diet. *Atherosclerosis.* 2017; 262(4):78-68.
30. Wu Y, Zhao T, Wang S, Fu Y, Qi Y, Yang G, Yao W, Su Y, Ma Y. Interactions of Environmental Factors and APOA1-APOC3-APOA4-APOA5 Gene Cluster Gene Polymorphisms with Metabolic Syndrome. *POLS.* 2016; 17(4):89-94