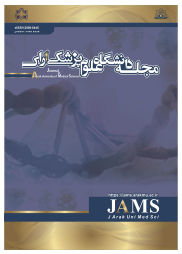
JAMS

مجله دانشگاه علوم پزشکی اراک

دوره بیست و یک، شماره چهار، مرداد و شهریور ۱۳۹۷

journal homepage: http://jams.arakmu.ac.ir



مقاله پژوهشی

بررسی الگوی متیلاسیون پروموتر ژن فاکتور رشد اندوتلیال عروقی(VEGF) در مبتلایان به سندرم متابولیک در استان آذربایجان شرقی

ناهیده طالب زاده[1]، سعید قربیان[1*]

۱. گروه ژنتیک مولکولی، دانشکده علوم پایه، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران.

اطلاعات مقاله

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۰/۳۰

تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۶

تاریخ انتشار: ۹۷/۰۵/۰۱

واژگان کلیدی:

ژن VEGF

متیلاسیون پروموتر

سندرم متابولیک

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی

***نویسنده مسئول:**

سعید قربیان

آدرس پستی: ایران، اهر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، دانشکده علوم پایه، گروه ژنتیک مولکولی.

تلفن: +98 913 262 9389

نمابر:

E-mail: ghorbian20@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: سندرم متابولیک در واقع مجموعه‌ای از اختلالاتی است که شامل دیابت، پرفشاری خون و چاقی می‌شود و تأثیر به‌سزایی در میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی دارد. فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF)، پروتئینی است که باعث تحریک عروق و رگ‌زایی می‌شود. متیلاسیون نواحی پروموتری ژن، شایع‌ترین تغییرات اپی ژنتیکی است که تنظیم بیان ژن را تغییر می‌دهد. هدف از این مطالعه، ارزیابی الگوی متیلاسیون مناطق پروموتری ژن VEGF بود- با این احتمال که تغییرات متیلاسیون در این ژن، نقش مهمی در شکل‌گیری سندرم متابولیک دارد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، از ۱۰۰ نفری که مورد ارزیابی قرار گرفتند، ۵۰ نفر مبتلا به سندرم متابولیک و ۵۰ نفر سالم بودند. سپس با استفاده از روش MS- PCR الگوی متیلاسیون پروموتر ژن مورد ارزیابی و نتایج حاصل با آزمون کای مربع و نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: فراوانی متیلاسیون در گروه بیمار ۳۲ درصد و در گروه سالم۲۰ درصد نشان داده شد که از لحاظ آماری اختلاف معناداری بین این دو گروه مشاهده نشد (p=۰/۲۳۹). از طرف دیگر، اختلاف معناداری در ارتباط با میانگین سطح قند خون (p=۰/۰۲۵)، تری گلیسرید (p=۰/۰۵۰)، کلسترول (p=۰/۰۴۶) و HbA1C (p=۰/۰۱۶) بین دو گروه مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های مطالعه حاضر حاکی از آن است که تغییرات متیلاسیون در پروموتر ژن VEGF در جمعیت مورد مطالعه نقش مهمی در پیدایش سندرم متابولیک ندارد که تأیید این موضوع مستلزم بررسی‌های بیشتری در آینده است.

تمامی حقوق انتشار این اثر، متعلق به دانشگاه علوم پزشکی اراک می‌باشد.

۱. مقدمه

سندرم متابولیک به عنوان مجموعه‌ای از اختلالات متابولیکی به شمار می‌رود که شامل پرفشاری خون، اختلالات لیپیدی و افزایش مقاومت به انسولین می‌شود و نقش زیادی در میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی دارد (۱). شیوع این سندرم نه تنها در کشورهای غربی، بلکه در کشورهای آسیایی نیز بالا گزارش شده است. فراوانی این سندرم در ایران ۳۴ درصد گزارش شده است (۵-۲). مطالعات بسیار زیادی مبنی بر ارتباط بین این سندرم با عوامل خطرساز بیماری‌های قلبی‌عروقی از جمله دیابت، پرفشاری خون، اختلالات لیپیدی، چاقی، بی‌تحرکی و سیگار انجام شده است که در برخی از موارد به نظر می‌رسد این اختلال از دوران جنینی آغاز شده باشد و عواملی از قبیل ژنتیک بر بروز آن مؤثر باشد (۶). کنترل عوامل خطرساز در افراد مبتلا به سندرم متابولیک می‌تواند خطر ابتلا به آن و دیگر بیماری‌های قلبی‌عروقی را کاهش دهد (۷، ۸). از عواملی که می‌تواند منجر به کاهش خطر ابتلا به سندرم متابولیک شود، اصلاح شیوه زندگی است به‌طوری‌که درمان سندرم متابولیک با کاهش وزن، کنترل چربی‌های خون، کنترل یا درمان قند خون بالا و پرفشاری خون قابل انجام است (۹، ۱۰). تاکنون مطالعات متعددی در زمینه آسیب‌شناسی و عوامل مرتبط با این سندرم در ایران انجام گرفته، ولی هنوز عوامل ناشناخته زیادی باقی مانده است.

فاکتور رشد اندوتلیال عروقی VEGF، پروتئینی است که در تحریک فرآیند رگ‌زایی نقش حیاتی دارد. ژن VEGF شامل ۸ اگزون است که جایگاه سیتوژنتیکی آن بر روی کروموزوم ۱۲p۶ است. فاکتور رشد VEGF واجد عملکردهای زیستی بسیار متنوعی است که می‌توان به هدایت و تعیین سلسله واکنش‌هایی که در بستر میکرو واسکولار بافت‌ها و اندام‌های مختلف به‌ویژه در بستر شبکیه چشم که کانون اصلی آسیب‌ها و اختلالات در رتینوپاتی به شمار می‌رود، اشاره کرد (۱۱).

اپی ژنتیک، به‌عنوان یکی از مسیرهای کنترل بیان ژن است که بدون تغییر در توالی DNA منجر به تغییر در میزان بیان ژن خواهد شد. یکی از مکانیسم‌های اپی ژنتیک، متیلاسیون نواحی پروموتری ژن‌ها است که خاموش شدن ژن‌های مورد نظر را در پی دارد (۱۲). طی فرآیندهای متیلاسیون و استیلاسیون، تغییراتی در مراحل تکثیر و تمایز گروهی از سلول‌ها و بافت‌های ویژه شکل می‌گیرد. تغییرات اپی ژنتیکی ممکن است سندرم متابولیک را نیز تحت تأثیر قرار دهد (۱۳). تاکنون ژن‌های متعددی در ارتباط با سندرم متابولیک پیشنهاد شده است، از جمله: محصول پروتئینی ژن رمزکننده آپولیپوپروتئین A-IV، GCKR و MTNR1 که در ارزیابی بیماران مبتلا به سندرم متابولیک و سایر اختلالات قلبی عروقی مطرح، مورد سنجش قرار خواهد گرفت (۱۴، ۱۵). با توجه به این‌که نقش و اهمیت تغییرات اپی ژنتیکی در ژن VEGF در مبتلایان سندرم متابولیک مورد بررسی قرار نگرفته است، بنابراین هدف از این مطالعه، ارزیابی میزان الگوی متیلاسیون پروموتر ژن VEGF به‌عنوان یک ژن نامزد احتمالی مؤثر در شکل‌گیری سندرم در جمعیت مطالعه حاضر خواهد بود.

۲. ملاحظات اخلاقی

این مطالعه با کد ۲۲۰۳۰۵۵۳۹۲۱۰۰۱ در کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر به تصویب رسیده است.

۳. مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری و استخراج DNA ژنومیک

در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، تعداد ۵۰ فرد مبتلا به سندرم متابولیک و ۵۰ فرد سالم انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه در گروه بیماران افرادی بودند که تحت عنوان سندرم متابولیک توسط متخصصین گوارش تشخیص قطعی داده شده و طی سال‌های ۱۳۹۶-۱۳۹۵ به بیمارستان امام رضای تبریز مراجعه کرده بودند. میانگین سنی در گروه سالم ۲۶/۱۳۰±۴۰/۰ و در گروه بیماران ۴/۰۶۵±۳۹/۳۶ سال بود. گروه سالم، افرادی بودند که ابتلا به فشار خون، دیابت، بیماری‌های قلبی و عروقی، اختلالات لیپیدی، چاقی و سابقه

مصرف سیگار نداشتند. کلیه افراد گروه‌های سالم و بیمار که فاقد معیارهای مذکور بودند از مطالعه خارج شدند. به منظور انجام پژوهش مورد نظر، مشخصات هر بیمار با کسب اجازه و رضایت از بیمار و با رعایت کامل موازین اخلاقی ثبت و سپس ۲ میلی‌لیتر نمونه خون وریدی از افراد جمع آوری شد و استخراج DNA از نمونه‌های خون کامل با روش نمک اشباع انجام گرفت (۱۶).

غلظت و خلوص DNA استخراج شده از طریق روش اسپکتروفتومتری با نانودراپ (Thermo Scientific، آمریکا) تعیین و برای ارزیابی متیلاسیون پروموتر ژن VEGF از روش MS-PCR استفاده شد. پس از استخراج، میکروتیوب حاوی DNA در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور تبدیل سیتوزین غیرمتیله به اوراسیل، تیمار DNA با سدیم بی‌سولفیت با استفاده از کیت شرکت کیاژن (EpiTect Bisulfite Kit) و بر اساس پروتکل شرکت سازنده انجام شد. البته در این روش، سیتوزین‌های متیله شده به اوراسیل تغییر پیدا نمی‌کنند. در این روش، ۱ تا ۲ میکروگرم از DNA استخراج شده با ۸۵ میکرولیتر مخلوط بی‌سولفیت و ۳۵ میکرولیتر از بافر محافظت‌کننده DNA اضافه شد. تغییرات بر روی مولکول‌های DNA با استفاده از Thermal Cycler مطابق جدول ۱ انجام شد. سیکل دمایی و زمانی Thermal Cycler برای فرآیندهای واسرشتی DNA، سولفوناسیون و دآمیناسیون سیتوزین مطابق دستورالعمل کیت سازنده (EpiTect Bisulfite Kit، Catalogue No. 59104) انجام شد. سپس، میکروتیوب حاوی DNA بی‌سولفیته تا انجام واکنش MS-PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی¬گراد نگهداری شد.

جدول ۱. مراحل فرآیند بی سولفیت کرد DNA تحت شرایط Thermal Cycler

حرارت	زمان	مراحل
۹۵ درجه سانتی‌گراد	۵ دقیقه	واسرشت سازی
۶۰ درجه سانتی¬گراد	۲۵ دقیقه	انکوباسیون
۹۵ درجه سانتی¬گراد	۵ دقیقه	واسرشت سازی
۶۰ درجه سانتی¬گراد	۸۵ دقیقه	انکوباسیون
۹۵ درجه سانتی¬گراد	۵ دقیقه	واسرشت سازی
۶۰ درجه سانتی¬گراد	۱۷۵ دقیقه	انکوباسیون
۲۰ درجه سانتی¬گراد	نامحدود	نگهداری

تکثیر اختصاصی DNAهای متیله از غیر متیله با MS-PCR ارزیابی الگوی متیلاسیون DNA در جزایر CpG مربوط به پروموتر ژن VEGF، با استفاده از پرایمرهای اختصاصی متیله (برای تکثیر DNA متیله) و غیر متیله (برای تکثیر DNA غیرمتیله) انجام شد. اندازه مورد انتظار محصولات تکثیری در جدول ۲ ذکر شده است. توالی ژن VEGF از بانک داده‌های Ensemble استخراج و برای یافتن CpG Islands با استفاده از نرم افزار آنلاین CpG finder شناسایی شد و پرایمرهای اختصاصی متیله و غیرمتیله با کمک نرم‌افزار Methprimer طراحی شدند. دقت و اختصاصیت پرایمرهای طراحی شده با نرم افزار Oligo نسخه ۷ مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور انجام واکنش اختصاصیMSP، از کیت FastStart Taq DNA Polymerase (Roche، آلمان) استفاده شد. مخلوط واکنش PCR buffer (l×) PCR، $MgCl_2$ (۲ میلی‌مول)، PCR Grade Nucleotide Mix (۲۰۰ میکرومول)، FastStart Taq DNA Polymerase (۱ واحد) پرایمرهای مستقیم و معکوس (۱۰ پیکومول) و ۱۰۰ نانوگرم DNA بی سولفیت شده در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر انجام شد. جهت انجام واکنش PCR یک دوره انکوباسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی¬گراد به مدت ۷ دقیقه، به دنبال آن ۳۵ سیکل با انکوباسیون ۳۰ ثانیه‌ای برای دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمرهای اختصاصی به

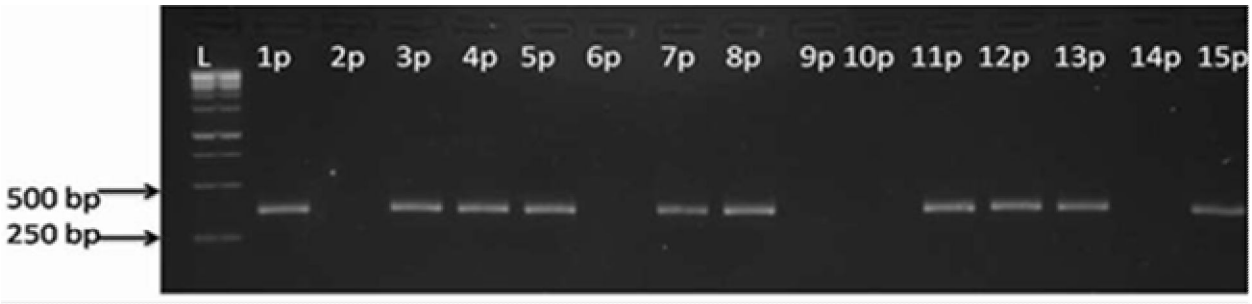
DNA الگوی هدف به ترتیب برای پرایمرهای متیله و غیرمتیله در دماهای ۶۳ و ۵۹ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه و مرحله تطویل، در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه انجام شد. در انتها، جهت تکمیل فرآیند پلیمریزاسیون، واکنش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه دنبال شد. بعد از انجام واکنش، مقادیر ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد بارگذاری و از Safe Stain (سیناژن، ایران) برای آشکارسازی استفاده شد. بعد از بررسی تک‌تک افراد از نظر متیله بودن یا غیرمتیله بودن پروموتر ژن هدف، داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۳ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. فراوانی متیله و غیرمتیله در دو گروه سالم و شاهد و اطلاعات بالینی با استفاده از آزمون آماری کای مربع مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده با سطح معناداری کمتر از $p < ۰/۰۵$ مقایسه شد.

جدول ۲. توالی پرایمرهای اختصاصی طراحی‌شده برای جزایر CpG پروموتر ژن VEGF متیله و غیرمتیله.

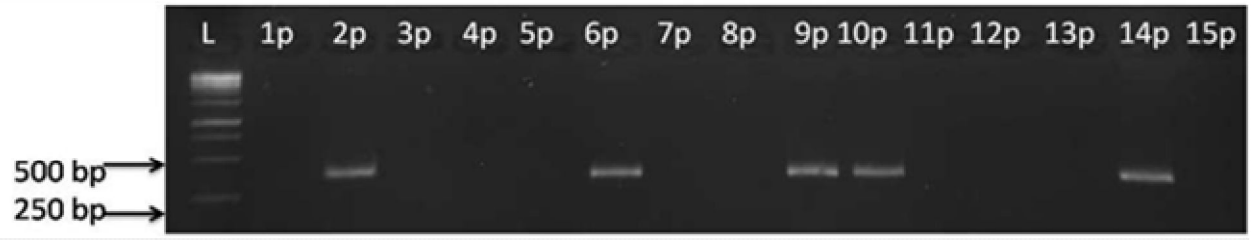
نام پرایمرها	توالی پرایمرها 3′ ← 5′	اندازه محصول جفت باز
VEGF Methylated	F: GTAGACGGTAGTTATTAGGGGGC R:GAAAACTCTATCCAAAAACACGC	۳۴۹
VEGF Un-Methylated	F:CTAGATGGTAGTTATTAGGGGGTGT R:CCAAAAACTCTATCCAAAAACACA	۳۵۱

۴. یافته‌ها

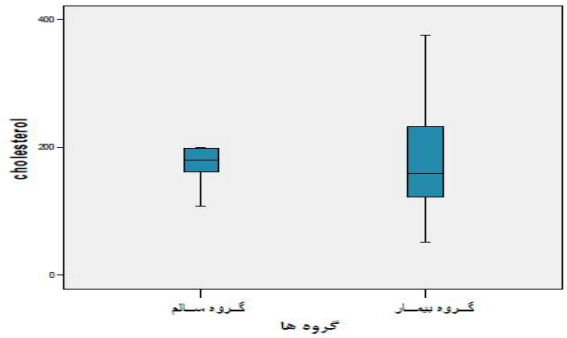
در مطالعه حاضر، الگوی متیلاسیون پروموتر ژن VEGF در ۱۰۰ نفر متشکل از ۵۰ بیمار مبتلا به سندرم متابولیک و ۵۰ فرد سالم (بر اساس معیارهای ورود و خروج از مطالعه) مورد ارزیابی قرار گرفت. با توجه به این‌که انجام واکنش MS-PCR به مقادیر زیادی به وجود DNA بستگی دارد، بنابراین لازم است که ارزیابی دقیقی بر روی کیفیت و کمیت DNAهای استخراج شده صورت گیرد. با دستگاه نانودراپ (NanoDrop™ ND-1,000, NanoDrop Technology, Wilmington, DE, USA) کمیت و با الکتروفورز ژل آگارز کیفیت DNA مورد ارزیابی قرار گرفت و نمونه‌هایی که از کیفیت لازم برخوردار نبودند حذف شدند. نمونه‌ای از نتایج MS-PCR با استفاده از پرایمرهای غیرمتیله در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. نمونه‌هایی که با پرایمرهای غیرمتیله تکثیر یافته‌اند با پرایمرهای متیله قادر به تکثیر نیستند و بر عکس، نمونه‌هایی که با پرایمرهای متیله تکثیر می‌یابند با پرایمرهای غیرمتیله تکثیر نمی‌شوند (شکل‌های ۱ و ۲). از میان ۵۰ فرد مورد مطالعه شده مبتلا به سندرم متابولیک، در ۱۶ مورد (۳۲ درصد) پروموتر ژن متیله و در ۳۴ مورد (۶۸ درصد) متیلاسیونی در پروموتر ژن هدف شناسایی نشد. در افراد گروه سالم، ۱۰ مورد (۲۰ درصد) پروموتر متیله و در ۴۰ مورد (۸۰ درصد) متیلاسیون در پروموتر ژن هدف شناسایی نشد. اگرچه فراوانی پروموترهای متیله شده در گروه‌های بیمار و سالم متفاوت بود (به ترتیب در بیمار و سالم ۳۲ و ۲۰ درصد)، ولی از نظر آماری، تفاوت معناداری مشاهده نشد (p=۰/۲۳۹). فراوانی پروموترهای متیله شده در کل افراد مورد بررسی (۱۰۰ فرد)، ۲۶ مورد (۲۶ درصد) و در ۷۴ مورد (۷۴ درصد) غیرمتیله نشان داده شد. علاوه براین، پارامترهای بالینی از قبیل میزان قند خون (p =۰/۰۲۵)، تری‌گلیسیرید (p=۰/۰۵۰)، کلسترول (p=۰/۰۴۶) و HbA1C (p=۰/۰۱۶) در ارتباط با این سندرم بین دو گروه مورد ارزیابی قرار گرفت که در تمامی موارد از نظر میانگین اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده گردید (نمودارهای ۴-۱ و جدول ۳).



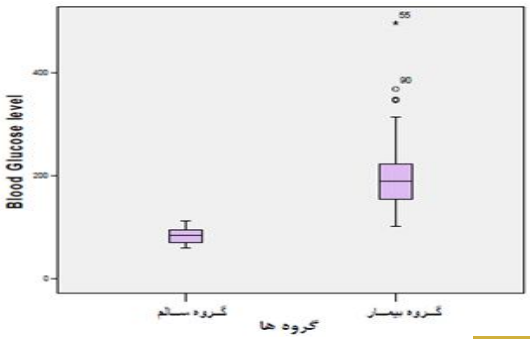
شکل ۱. الکتروفورز محصول PCR با پرایمرهای غیرمتیله روی ژل آگارز ۲ درصد: نمونه‌های 2p، 6p، 9p، 10p و 14p به دلیل متیله بودن تکثیر نشدند. مارکر: 1Kb DNA Ladder.



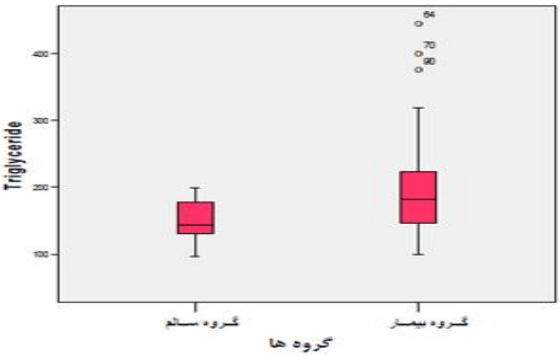
شکل ۲. الکتروفورز محصول PCR با پرایمرهای متیله روی ژل آگارز ۲ درصد: نمونه‌های 2p، 6p، 9p، 10p و 14p به دلیل متیله بودن تکثیر شدند. مارکر: 1Kb DNA Ladder.



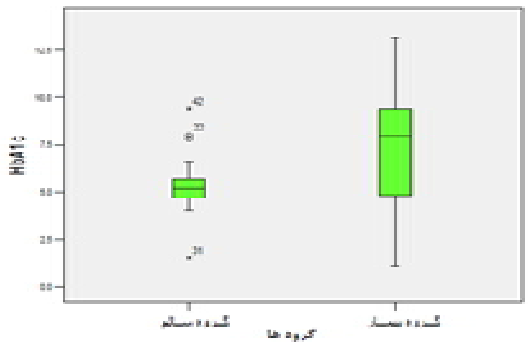
نمودار ۱. مقایسه میانگین کلسترول در گروه سالم و بیمار با آزمون χ^2. میانگین در گروه سالم کمتر از گروه بیمار به دست آمد و از نظر آماری اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده شد ($p=۰/۰۴۶$).



نمودار ۳. مقایسه میانگین قند خون در گروه سالم و بیمار با آزمون χ^2. میانگین در گروه سالم کمتر از گروه بیمار به دست آمد و از نظر آماری اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده شد ($p=۰/۰۲۵$).



نمودار ۲. مقایسه میانگین تری گلیسیرید در گروه سالم و بیمار با آزمون χ^2. میانگین در گروه سالم کمتر از گروه بیمار به دست آمد و از نظر آماری اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده شد ($p=۰/۰۵۰$).



نمودار ۴. مقایسه میانگین HbA1C در گروه سالم و بیمار با آزمون χ^2. میانگین در گروه سالم کمتر از گروه بیمار به دست آمد و از نظر آماری اختلاف معناداری بین دو گروه مشاهده شد ($p=۰/۰۱۶$).

جدول ۳. مقایسه مقادیر کلسترول، تری‌گلیسیرید، قند خون، HbA1C در گروه بیماران و افراد سالم با آزمون کای مربع

متغیر	گروه سالم میانگین±انحراف معیار تعداد=۵۰	گروه بیمار میانگین±انحراف معیار تعداد=۵۰	p
کلسترول	۱۷۴/۴۲±۲۴/۸۶۱	۲۰۳/۹۸±۵۳/۱۶۷	۰/۰۴۶
تری گلیسیرید	۱۵۰/۷۶±۲۹/۴۵۰	۱۹۸/۹۴±۷۱/۷۵۹	۰/۰۵۰
قند خون	۸۳/۷۴±۱۳/۱۳۹	۲۰۱/۵۸±۷۸/۴۷۴	۰/۰۲۵
HbA1C	۵/۲۳۸±۱/۱۵۸۸	۷/۲۰۲±۳/۳۶۹۵	۰/۰۱۶

۵. بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی متیلاسیون پروموتر ژن VEGF در بیماران مبتلا به سندرم متابولیک ۳۲ درصد و در گروه سالم ۲۰ درصد به دست آمد که از لحاظ آماری اختلاف معناداری بین این دو گروه مشاهده نشد. در نتیجه مقایسه پارامترهای بیوشیمی در بین دو گروه، اختلاف معناداری در میانگین میزان کلسترول، تری‌گلیسیرید، قند خون و HbA1C مشاهده شد. هدف از این مطالعه، ارزیابی الگوهای متیلاسیون مناطق پروموتر ژن VEGF بود، با این احتمال که نقش مهمی در شکل‌گیری سندرم متابولیک داشته باشد. مطالعه ارتباط بین الگوی متیلاسیون پروموتر ژن VEGF با سندرم متابولیک برای اولین بار است که مورد بررسی قرار گرفته است. یکی از مکانیسم‌های مهم و تأثیرگذار اپی‌ژنتیک، متیلاسیون نواحی پروموتری ژن‌ها است که خاموش شدن ژن‌ها را در پی دارد. متیلاسیون DNA شایع‌ترین تغییرات اپی ژنتیکی است که منجر به تنظیم بیان ژن در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی می‌شود (۱۷). فرارا و همکاران نقش ژن VEGF را با روش Real-Time-PCR بررسی کرده و نشان دادند که تنظیم میزان بیان ژن VEGF و کیفیت پاسخ آن نسبت به محرک‌های محیطی، نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی رتینوپاتی دیابتی دارد (۱۸). آمولی و همکاران در مطالعه‌ای میزان بیان ژن VEGF را در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق‌کرونر با روشReal-Time PCR نشان دادند و اظهار کردند که میزان بیان در بیماران مبتلا به گرفتگی عروق‌کرونر کاهش یافته و چندشکلی C/A در ناحیه ۲۵۷۸- بیان را شدیداً تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۹). بررسی‌های ساندرانی و همکاران با بهره‌گیری از روش PCR و EpiTYPER ™Sequenom® نشان داد که هیپومتیلاسیون جزایر CpG در ناحیه پروموتر ژن منجر به افزایش بیان VEGF در شرایط پره اکلامپسی زودرس می‌شود. هیپومتیلاسیون پروموتر VEGF منجر به تنظیم بیان می‌گردد که به‌عنوان یک مکانیسم جبرانی در جهت حفظ جریان خون در شرایط Preterm پره اکلامپسی و فرآیند رگ‌زایی طبیعی عمل می‌کند (۲۰). سیدیکو و همکاران در مطالعه‌ای الگوی متیلاسیون پروموتر VEGF-A را در سلول‌های انسانی مورد ارزیابی قرار دادند که نتایج حاصل حاکی از آن بود که هیپرمتیلاسیون پروموتر VEGF-A منجر به سرکوب بیان ژن می‌شود (۲۱). فایلدر و همکاران برای یافتن الگویی به منظور تنظیم VEGF-R، با استفاده از ۹۰ رده سلولی لنفوم و لوسمی، میزان بیان ژن، KDR و FLT4 را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که هر دو ژن به طور منظم در لوسمی بیان می‌شوند (۲۲). سانچز و همکاران رابطه بین سندرم متابولیک و رژیم High-Fat/High-Fructose Diet (HFD) را در رت‌های آزمایشگاهی مورد بررسی قرار دادند و عنوان کردند که درصد متیلاسیون (۵- متیل سیتوزین) در رت‌های نر و ماده، در قبل و بعد از تغذیه با رژیم غذایی HFD تفاوت معناداری دارد (۲۳).

سندرم متابولیک به‌عنوان مجموعه‌ای از اختلالات متابولیکی شامل پرفشاری خون، اختلال لیپیدها و افزایش مقاومت به انسولین تلقی می‌گردد و تأثیر زیادی بر میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی و عروقی دارد. فاکتور رشد VEGF، پروتئینی است که باعث تحریک عروق و رگ‌زایی می‌شود و

به‌طور قابل توجهی از طریق تغییرات اپی ژنتیکی، بیان ژن تغییر می‌کند (۱۲).

به‌طورکلی، نتایج به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر نشان داد که اگرچه هیپرمتیلاسیون پروموتر ژن VEGF احتمالاً در پاتوژنز سندرم متابولیک نقشی ندارد، ولی برای تأیید نتایج، نیاز به بررسی‌های بیشتر در جمعیت‌هایی با قومیت و نژادهای مختلف و جامعه آماری بزرگ‌تر است.

۶. نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه حاکی از آن است که میزان متیلاسیون در پروموتر ژن VEGF در بیماران سندرم متابولیک نسبت به افراد سالم افزایش غیر معنی‌داری داشت. البته لازم به ذکر است که نمی‌توان نقش و ارتباط بین تغییرات در سطح یک ژن را با اختلالی خاص، تنها با نتایج مطالعات اندک و در جمعیتی با نژاد خاص عنوان کرد، ولی به نظر می‌رسد که چنان‌چه مطالعات وسیع‌تری در نژادهای مختلف انجام شود، به‌مراتب نتایج قابل قبول‌تری به دست خواهد آمد.

۷. تقدیر و تشکر

هزینه این پژوهش توسط دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر تأمین شده است و از طرفی از تمامی افرادی که در این مطالعه شرکت کرده‌اند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

۸. سهم نویسندگان

تمامی نویسندگان معیارهای استاندارد نویسندگی بر اساس پیشنهادات کمیته بین المللی ناشران مجلات پزشکی را دارا بودند.

۹. تضاد منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. AlSaraj F, McDermott JH, Cawood T, McAteer S, Ali M, Tormey W, Cockburn BN, Sreenan S. Prevalence of the metabolic syndrome in patients with diabetes mellitus. Irish journal of medical science. 2009; 178(3):309-13.
2. Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. Jama. 2002; 287(3):356-9.
3. Gharipour M, Sarrafzadegan N, Sadeghi M, Khosravi A, Hoseini M, Khosravi-Boroujeni H, Khaledifar A. The metabolic syndrome and associated lifestyle factors among the Iranian population. Advanced biomedical research. 2015; (1):84.
4. Sarrafzadegan N, Kelishadi R, Baghaei A, Sadri GH, Malekafzali H, Mohammadifard N, Rabiei K, Bahonar A, Sadeghi M, O'Laughlin J. Metabolic syndrome: an emerging public health problem in Iranian women: Isfahan Healthy Heart Program. International journal of cardiology. 2008; 131(1):90-6.
5. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC, Spertus JA. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. Circulation. 2005; 112(17):2735-52.
6. Misra A, Chaudhary D, Vikram NK, Mittal V, Devi JR, Pandey RM, Khanna N, Sharma R, Peshin S. Insulin resistance and clustering of atherogenic risk factors in women belonging to low socio-economic strata in urban slums of North India. Diabetes research and clinical practice. 2002; 56(1):73-5.
7. Pacholczyk M, Ferenc T, Kowalski J. Metabolic syndrome. Part III: its prevention and therapeutic management. Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online). 2008; 62:559-70.
8. Deedwania P, Gupta R. Management issues in the metabolic syndrome. JAPI. 2006; 54:797-810.
9. Grundy SM. Metabolic syndrome: therapeutic considerations. InAtherosclerosis: Diet and Drugs 2005 (pp. 107-133). Springer, Berlin, Heidelberg.
10. Tavassoli AA, Gharipour M, Khosravi A, Kelishadi R, Siadat ZD, Bahonar A, Sadri GH, Sadeghi M, Rabiei K, Sajjadi F, Zarfeshani S. Gender differences in obesogenic behaviour, socioeconomic and metabolic factors in a population-based sample of Iranians: the IHHP study. Journal of health, population, and nutrition. 2010; 28(6):602.
11. Wilkinson-Berka JL. Vasoactive factors and diabetic retinopathy: vascular endothelial growth factor, cycoloxygenase-2 and nitric oxide. Current pharmaceutical design. 2004; 10(27):3331-48.
12. Bottardi S, Aumont A, Grosveld F, Milot E. Developmental stage–specific epigenetic control of human β-globin gene expression is potentiated in hematopoietic progenitor cells prior to their transcriptional activation. Blood. 2003; 102(12):3989-97.
13. Yara S, Lavoie JC, Levy E. Oxidative stress and DNA methylation regulation in the metabolic syndrome. Epigenomics. 2015; 7(2):283-300.
14. Kamboh MI, Crawford MH, Aston CE, Leonard WR. Population distributions of APOE, APOH, and APOA4 polymorphisms and their relationships with quantitative plasma lipid levels among the Evenki herders of Siberia. Human biology. 1996: 231-43.
15. Suhre K, Shin SY, Petersen AK, Mohney RP, Meredith D, Wägele B, Altmaier E, Deloukas P, Erdmann J, Grundberg E, Hammond CJ. Human metabolic individuality in biomedical and pharmaceutical research. Nature. 2011; 477(7362):54.
16. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic acids research. 1988; 16(3):1215.
17. Shiota K, Kogo Y, Ohgane J, Imamura T, Urano A, Nishino K, Tanaka S, Hattori N. Epigenetic marks by DNA methylation specific to stem, germ and somatic cells in mice. Genes to Cells. 2002; 7(9):961-9.
18. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. Nature medicine. 2003; 9(6):669.
19. Amoli MM, Amiri P, Alborzi A, Larijani B, Saba S, Tavakkoly-Bazzaz J. VEGF gene mRNA expression in patients with coronary artery disease. Molecular biology reports. 2012; 39(9):8595-9.
20. Sundrani DP, Reddy US, Joshi AA, Mehendale SS, Chavan-Gautam PM, Hardikar

AA, Chandak GR, Joshi SR. Differential placental methylation and expression of VEGF, FLT-1 and KDR genes in human term and preterm preeclampsia. Clinical epigenetics. 2013; 5(1):6.

21. Siddique AN, Nunna S, Rajavelu A, Zhang Y, Jurkowska RZ, Reinhardt R, Rots MG, Ragozin S, Jurkowski TP, Jeltsch A. Targeted methylation and gene silencing of VEGF-A in human cells by using a designed Dnmt3a–Dnmt3L single-chain fusion protein with increased DNA methylation activity. Journal of molecular biology. 2013; 425(3):479-91.
22. Fielder W, Graeven U, Ergün S, Verago S, Kilic N, Stockschläder M, Hossfeld DK. Expression of FLT4 and its ligand VEGF-C in acute myeloid leukemia. Leukemia. 1997; 11(8):1234.
23. Sánchez I, Reynoso-Camacho R, Salgado LM. The diet-induced metabolic syndrome is accompanied by whole-genome epigenetic changes. Genes & nutrition. 2015; 10(4):21.

JAMS
Journal of Arak University of Medical Sciences
2018; 21(4)
Journal Homepage: http://jams.arakmu.ac.ir

ORIGINAL RESEARCH

Evaluation of Promoter Methylation Pattern of the Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Gene in Metabolic Syndrome Patients of East Azerbaijan Province

Nahideh Talebzadeh[1], Saeid Ghorbian[1]*

1. Department of Molecular Genetics, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

ARTICLE INFORMATION

Article history:

Received: *20 January 2018*

Accepted: *27 May 2018*

Published online: *23 July 2018*

Keywords:

VEGF gene

Promoter methylation

Metabolic syndrome

Vascular endothelial growth factor

**** Corresponding Author:***

Saeid Ghorbian; Department of Molecular Genetics, Faculty of Basic Sciences, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.

Tel: *+98 913 262 9389*

Fax:

Email: *ghorbian20@yahoo.com*

ABSTRACT

Background and Aim: Metabolic syndrome (MS) was committed multiple disorders including diabetes, hypertension, and obesity, which were played influential effects on the mortality rates of patients suffering from of cardiovascular disorders. Vascular endothelial growth factor (VEGF) is a protein that stimulates vascular and angiogenesis. One of the most common epigenetic changes is methylation of the promoter regions of genes, which leads to the regulation of gene expression. We aimed to assess the methylation pattern of promoter regions of VEGF gene which may act a critical role in the pathogenesis of MS.

Materials and Methods: In this descriptive-analytical investigation, we have assessed a total of 100 subjects, which were included 50 of cases diagnosed as MS and 50 healthy individuals as a control group. Methyl specific polymerase chain reaction (MS–PCR) method was performed to analyzing of VEGF gene promoter methylatin patterns and data analysis was performed using Chi Square test and SPSS 23 software.

Findings: The frequencies of VEGF gene promoter methylation observed in 32% and 20% of case and control individuals, respectively. Our findings revealed that the frequencies of the gene methylated were not statistically different between two groups (p=0.239). In other hand, our findings revealed a statistically significant difference regarding to the clinical parametrics including, triglycired (p=0.050), cholesterol (p=0.046), suger blood (p=0.025) and HbA1C (p=0.016) between cases and control groups (p=0.05).

Conclusion: According to our findings, methylation alteration in VEGF gene did not show any critical role in the pathogenesis of MS and it is suggested that more evidence will be needed to approve the present results.

© Copyright (2018) Arak University of Medical Sciences

Cite this article as: Talebzadeh N., Ghorbian S. Evaluation of Promoter Methylation Pattern of the Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) Gene in Metabolic Syndrome Patients of East Azerbaijan Province. J Arak Uni Med Sci. 2018; 21(4): 30-39.

This open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution NonCommercial 4.0 License (CC BY-NC 4.0).