

بررسی پلی مورفیسم Msp1 ژن کلسترل استر ترانسفر پروتئین در بیماران هیپرکلسترولمی

دکتر تقی حسن زاده*، عسگر برخوردار**، دکتر مسعود سعیدی جم***، امیر فتاحی**، زینب لطیفی**

دریافت: ۹۱/۱۱/۱، پذیرش: ۹۲/۲/۳۱

چکیده:

مقدمه و هدف: بین کلسترول و بیماری کرونری قلب (CHD) ارتباط معنی داری وجود دارد. کلسترل استر ترانسفر پروتئین (CETP) نقش مرکزی در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها بازی می‌کند و نشان داده شده‌است که پلی‌مورفیسم‌های مختلف در ژن این آنزیم، فعالیت آن و پارامترهای لیپیدی خون را تحت تاثیر قرار می‌دهد. نظر به اینکه اطلاعات کافی در مورد توزیع ژنوتیپی و تاثیرات پلی‌مورفیسم Msp1 بویژه در جمعیت ایرانی وجود ندارد بنابراین پلی‌مورفیسم Msp1 CETP و اثرات آن بر روی پارامترهای لیپیدی در افراد دارای هیپرکلسترولمی و افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: در این مطالعه مورد - شاهدی ۱۰۰ بیمار هیپرکلسترولمی و ۲۰۰ فرد سالم بعنوان جمعیت مورد مطالعه انتخاب شدند. پارامترهای لیپیدی و فعالیت CETP در نمونه‌ها اندازه‌گیری شدند. برای تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم CETP از واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) جهت تکثیر قطعه ژنی واجد تغییرات ژنتیکی و از تکنیک RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) در حضور آنزیم Msp1 جهت تعیین ژنوتیپ‌های مورد مربوطه استفاده شد.

نتایج: فراوانی آلل M₁ در بیماران هیپرکلسترولمی ۴۷٪ و در افراد سالم ۲۱/۲۵٪ بود. فراوانی ژنوتیپ M₁M₁ در بیماران هیپرکلسترولمی در مقایسه با افراد سالم بیشتر بود. در افراد هیپرکلسترولمی با ژنوتیپ M₁M₁، میزان TC و LDL-C بطور معنی‌داری بیشتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود و نیز افراد با ژنوتیپ M₁M₁ دارای فعالیت بالایی از CETP بودند.

نتیجه‌نهایی: در کل نتایج بدست آمده نشان دهنده این است که پلی‌مورفیسم Msp1 می‌تواند بر الگوی لیپیدی و فعالیت CETP تاثیر گذار باشد.

کلید واژه‌ها: افزایش کلسترول خون / پلی مورفیسم / کلسترل استر ترانسفر پروتئین

مقدمه:

(۱،۳). ثابت شده‌است که ارتباط معنی‌داری بین کلسترول و بیماری کرونری قلب وجود دارد (۴). کلسترول در فراکسیون‌های لیپوپروتئینی مختلف از جمله لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL) Low density lipoprotein و لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) High density lipoprotein حمل می‌شود. کاهش کلسترول تام و LDL موجب کاهش خطر بروز CHD می‌شود (۵) و بالا بودن غلظت کلسترول - HDL، خطر بروز CHD را کاهش می‌دهد (۶). HDL موجب انتقال کلسترول از سلولها به کبد می‌شود که این

میزان مرگ و میر ناشی از بیماری کرونری قلب (Coronary Heart Disease; CHD) در سرتاسر جهان تقریباً دو برابر سرطان و ۱۰ برابر تصادفات است (۱،۲). علت اولیه CHD، آترواسکلروزه شدن عروق کرونری در اثر ضایعات حاوی چربی در پوشش داخلی سرخرگ‌های کرونری می‌باشد. هیپرلیپیدمی علت اصلی آترواسکلروز و اختلالات مرتبط با آن مانند بیماری کرونری قلب، بیماری ایسکمیک عروق مغزی و بیماری عروق محیطی، می‌باشد

* استادیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

** کارشناسی ارشد بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی همدان (zeinablatifi@yahoo.com)

*** دانشیار گروه پزشکی مولکولی و ژنتیک دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

در مطالعه‌ای که روی جمعیت ایرانی انجام گرفته، نتایج حاکی از کمتر بودن فراوانی ژنوتیپ Taq1B B2B2 بیماران هیپرکلسترولمی در مقایسه با افراد سالم است (۲۹). تعدادی از مطالعات نیز به بررسی فراوانی پلی مورفیسم‌های دیگر از جمله 629C/A- و Eco N1 در گروه‌های مختلف پرداخته‌اند و وجود ارتباط مابین این پلی مورفیسم‌ها و غلظت پلاسمایی لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها را گزارش کرده‌اند (۳۲-۲۷).

پلی مورفیسم Msp1 در ناحیه غیرکدکننده در اینترون ۸ ژن CETP در اثر تغییر A به G رخ می‌دهد و وجود ارتباطی قوی بین این پلی مورفیسم و غلظت پلاسمایی HDL-C در جمعیت هلندی گزارش شده است (۲۰). در مطالعه‌ای که روی جمعیت ترکها انجام شده، وجود ارتباط بین پارامترهای لیپیدی با این پلی مورفیسم گزارش شده است (۳۳) ولی وو و همکارانش هیچ ارتباطی بین پلی مورفیسم MSP1 و غلظت پلاسمایی HDL-C مشاهده نکردند (۲۷).

با توجه به نتایج متناقض حاصل از این مطالعات و عدم دسترسی به اطلاعات کافی در مورد پلی مورفیسم MSP1 در جمعیت ایرانی، مقرر گردید تا پلی مورفیسم CETP Msp1 و اثرات آن بر روی پارامترهای لیپیدی در افراد دارای هیپرکلسترولمی و افراد سالم مورد بررسی قرار گیرد.

روش کار:

در این مطالعه مورد/شاهدی، ۱۰۰ بیمار هیپرکلسترولمی که کلسترول تام آنها بیش از ۲۵۰ mg/dl بود، بررسی گردیدند و ۲۰۰ فرد سالم بدون هیچ نوع سابقه بیماری که دارای پروفایل لیپیدی طبیعی بودند به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این افراد از نظر سن و جنس با گروه بیمار مشابه بودند. لازم به ذکر است که ملاحظات اخلاقی در این مطالعه رعایت شده و به تأیید کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان رسیده است. در این مطالعه از انتخاب افرادی که مبتلا به دیابت، فشار خون بالا، بیماری‌های کبدی، کلیوی و تیروئیدی بودند اجتناب گردید. علاوه بر این زنان باردار و افراد مصرف کننده داروهای کاهنده چربی خون از این مطالعه خارج شدند. از هر فرد پس از ناشتای شبانه، ۱۰ میلی لیتر خون سیاهرگی گرفته شد که بخشی از آن برای استخراج DNA و بخشی برای اندازه گیری پارامترهای

عمل با همکاری کلاسترین استر ترانسفر پروتئین Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) صورت می‌پذیرد (۷).

CETP نوعی گلیکوپروتئین آبدوست می باشد که نقش مهمی در فرآیند انتقال معکوس کلسترول Reverse cholesterol transportation (RCT) برعهده دارد. در نتیجه این فرآیند کلسترول از بافتهای محیطی به کبد منتقل می‌شود (۸،۹). CETP از طریق تبادل استرهای کلسترول با تری‌گلیسیرید، مابین ذرات HDL با LDL و VLDL نقش مرکزی را در مکانیسم لیپوپروتئین‌ها بازی می‌کند (۱۰-۱۲). بررسی‌های انجام شده نشان داده‌اند که بیماران دارای نقص ژنتیکی در ژن CETP دارای مقادیر بالاتری از HDL-C می‌باشند (۱۳) همچنین مشخص شده است که مهار CETP سبب افزایش غلظت HDL-C می‌شود (۱۴) بنابراین فعالیت بالای CETP از طریق کاهش سطح HDL/TC (Total cholesterol) می‌تواند به عنوان عامل ایجادکننده آترواسکلروز و بیماری کرونر قلب مطرح باشد (۱۵،۱۶)

ژن CETP در انسان بر روی کروموزوم ۱۶ (16q12-16q21) در نزدیکی ژنهای لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز Cholesteryl lecithin acyl transferase (LCAT) و هاپتوگلوبولین قرار دارد. این ژن بیش از ۲۵ کیلو جفت باز دارد و حاوی ۱۶ اگزون و ۱۵ اینترون می‌باشد. CETP انسانی نوعی گلیکوپروتئین پلاسمایی هیدروفوب با وزن مولکولی ۷۴ کیلو دالتون و حاوی ۴۷۶ اسید آمینه است (۱۷،۱۸) این ژن چه در توالی‌های کدکننده و چه غیر کدکننده، دارای مکانهای فراوان پلی مورفیسم می‌باشد (۱۹) برخی از پلی مورفیسم‌های شایع در این ژن عبارتند از: Eco N1, I405V, R451Q, Taq 1A, Taq 1B, StuI, Msp1, 971 G/A-، Taq 1A، Taq 1B، StuI و 629C/A- (۲۰،۲۱،۱۸) که برخی از آنها سبب تغییر در فعالیت CETP و غلظت HDL-C می‌شوند (۲۲). مطالعات متعددی در زمینه شیوع این پلی مورفیسم‌ها و اثراتشان بر روی غلظت لیپیدهای پلاسما در جمعیت‌های مختلف انجام گرفته که برخی از آنها روی افراد ایرانی بوده است (۲۳-۲۶). بررسی پلی مورفیسم Taq1B نشان دهنده وجود ارتباط معنی‌دار بین این پلی مورفیسم با مقادیر لیپیدهای پلاسما است (۳۰-۲۷) بطوریکه فراوانی ژنوتیپ Taq1B B1B1 در بیماران قلبی بیشتر می باشد (۲۷).

RFLP از ژل آگارز و رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید استفاده شد. قطعات مربوط به پلی مورفیسم Msp1 در آگاروز ۱٪ الکتروفورز شدند و با UV Transilluminator مشاهده و بررسی شدند. عدم وجود جایگاه برش در قطعه PCR شده نشان دهنده آلل M₂ (A) می باشد و شکسته شدن قطعه به دو بخش ۴۵۸ و ۱۱۵۰ جفت بازی نشان دهنده آلل M₂ (G) است.

آنالیز آماری: اطلاعات کمی به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه گردیده است. برای تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS16 استفاده شد. برای مقایسه پارامترهای پلاسمایی خون از آزمون t مستقل و برای مقایسه فراوانی آللها و ژنوتیپها بین بیماران و گروه شاهد از آزمون مجذور کای استفاده شد. مقایسه میانگین غلظت لیپیدها و فعالیت CETP در میان ژنوتیپهای مختلف توسط آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام گرفت. $P < 0.05$ اختلاف معنی دار منظور گردید.

نتایج:

مقایسه خصوصیات بالینی و بیوشیمیایی دو گروه کنترل و بیماران هیپرکلسترولمی نشان داد دو گروه از نظر شاخص توده بدنی (BMI) و سن اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند ولی کلسترول تام، HDL-C و LDL-C در گروه هیپر کلسترولمی بطور معنی داری بالاتر است ($P < 0.001$) (جدول ۱).

جدول ۱: الگوی لیپیدی و دموگرافیک گروه کنترل و گروه هیپرکلسترولمی

ارزش P	هیپرکلسترولمی (N=۱۰۰)	کنترل (N=۲۰۰)	
NS	۵۲/۱ \pm ۱۱/۸	۴۹/۴ \pm ۱۲/۹	سن (سال)
NS	۲۵/۹ \pm ۵/۷	۲۵/۵ \pm ۵/۹	شاخص توده بدنی (kg/m ²)
۰/۰۰۱	۲۶۹/۷ \pm ۱۹/۴	۱۸۴/۸ \pm ۳۱/۵	کلسترول تام (mg/dl)
NS	۱۴۳/۳ \pm ۵۸/۷	۱۳۱/۱ \pm ۵۱/۱	تری آسید گلیسرول (mg/dl)
۰/۰۰۱	۴۷/۶ \pm ۱۲/۹	۵۳/۶ \pm ۱۰/۹	HDL-C (mg/dl)
۰/۰۰۱	۱۶۹/۶ \pm ۴۰/۴	۱۰۴/۶ \pm ۲۵/۹	LDL-C (mg/dl)
۰/۰۰۱	۱۴۱/۸ \pm ۲۱/۴	۱۰۷/۳ \pm ۱۹	فعالیت CETP (pmol/ μ l.h)

تمام داده‌ها بصورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده‌اند.

فراوانی آلل M₁ در بیماران هیپرکلسترولمی ۲۷٪ و در افراد سالم ۲۱/۲۵٪ می باشد که نشان دهنده اختلاف معنی دار بین دو گروه است ($P < 0.05$). نتایج حاکی از بیشتر بودن فراوانی ژنوتیپ M₁M₁ در بیماران

بیوشیمیایی استفاده گردید.

اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی: نمونه های خون بمدت ۱۵ دقیقه با سرعت $2000 \times g$ سانتریفیوژ شدند و سرم حاصل جهت اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی شامل کلسترول تام، HDL-C و LDL-C استفاده گردید. از کیت‌های شرکت پارس آزمون ساخت ایران، با بهره‌گیری از روش اسپکتروفتومتری Visible-UV برای اندازه‌گیری میزان کلسترول تام، HDL-C و LDL-C استفاده شد. کیت اندازه‌گیری فعالیت CETP (کیت کمپانی Roar Biomedical، ساخت کشور آمریکا) برای سنجش فعالیت CETP استفاده گردید. اساس این روش اندازه‌گیری افزایش شدت فلورسنس همزمان با انتقال لیپیدهای خنثی فلورسنت از دهنده به گیرنده می باشد و نمونه‌ها توسط اسپکترومتر فلورسنس در طول موج های ۴۶۵ نانومتر (Excitation) و ۵۳۵ نانومتر (Emission) خوانده می شوند.

استخراج DNA و بررسی ژنوتیپهای پلی مورفیسم Msp1: برای استخراج DNA از دو میلی لیتر خون تام که داخل لوله حاوی EDTA ریخته شده بود استفاده گردید. برای این کار از کیت سیناژن (ساخت کشور ایران) استفاده شد. یک قطعه ۱۶۰۸ جفت بازی با استفاده از پرایمرهای مربوط با روش PCR با شرایط زیر تکثیر گردید:

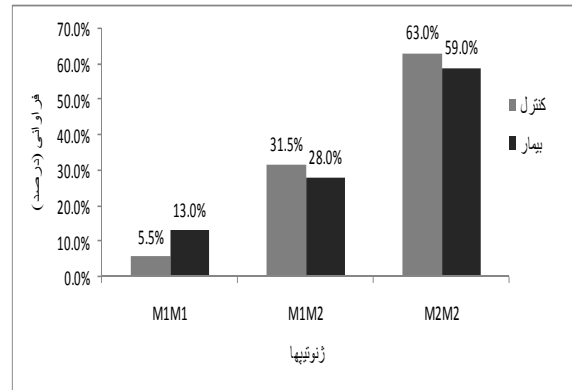
۰/۴ میکرومول از هر پرایمر، ۰/۲ میلی مول dNTP Mix، ۱/۵ میلی مول MgCl₂، ۲ میکرولیتر از PCR Buffer 10X، ۰/۵ واحد Taq Polymerase، ۲۰۰-۱۰۰ نانو گرم DNA. برنامه دمایی: ابتدا ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه. بعنوان دمای ذوب اولیه سپس ۳۰ سیکل بصورت: ۴۵ ثانیه در ۹۴ درجه بعنوان دمای ذوب، ۴۵ ثانیه در ۶۰ درجه جهت اتصال، ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه و در نهایت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۵ درجه. پرایمرهای Reverse (R) و Forward (F) مورد استفاده جهت تکثیر قطعه DNA دارای پلی مورفیسم Msp1 عبارت بود از: (۲۰)

Msp1 F.: 5'-cag atg gag aca ttg ggg tgg aca-3'

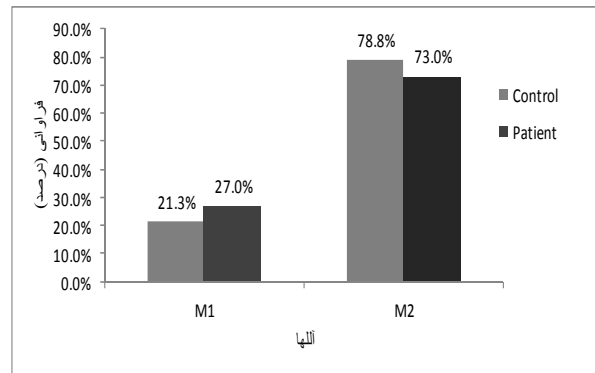
Msp1 R.: 5'-cac caa gtt tcc gag ttt cct ccc-3'

برای تعیین ژنوتیپ های پلی مورفیسم Msp1، ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR همراه ۱۰ واحد آنزیم Msp1، ۵ میکرولیتر از بافر مربوطه و ۱۰ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. برای الکتروفورز محصولات PCR و قطعات

هیپرکلسترولمی در مقایسه با افراد سالم بود ($P<0.05$)، (نمودار ۱ و ۲).



نمودار ۱: فراوانی ژنوتیپ های پلی مورفیسم CETP/Msp1 در افراد سالم و هیپرکلسترولمی



نمودار ۲: فراوانی آلل های پلی مورفیسم CETP/Msp1 در افراد سالم و هیپرکلسترولمی

پارامترهای لیپیدی سرم و فعالیت CETP در بیماران هیپرکلسترولمی در ژنوتیپ های مختلف در جدول ۲ نمایش داده شده اند.

جدول ۲: الگوی لیپیدی و فعالیت CETP در ژنوتیپ های مختلف در افراد هیپرکلسترولمی

M ₂ M ₂ (N=۵۹)	M ₁ M ₂ (N=۲۸)	M ₁ M ₁ (N=۱۳)	
۵۲/۵±۷/۶	۵۱/۸±۱۳/۹	۵۸/۵±۳/۶	سن (سال)*
۲۶۲/۳±۶/۵	۲۶۳/۱±۱۸/۹	۲۷۸/۷±۲۱/۵	کلسترول تام (mg/dl)**
۱۳۹/۵±۳۲/۹	۱۴۲±۷۷/۴	۱۵۵/۳±۶۰/۹	تری گلیسیرید (mg/dl)*
۵۱±۱۳	۴۷/۲±۱۱/۴	۴۲/۳±۱۴/۵	HDL-C (mg/dl)*
۱۵۴/۵±۱۷/۱	۱۵۶/۷±۱۶/۴	۱۷۰/۱±۲۴/۲	LDL-C (mg/dl)**
۱۳۶/۵±۱۷/۱	۱۳۷/۷±۲۱/۴	۱۵۳/۱±۲۴/۲	فعالیت CETP (pmol/μl.h)**

تمام داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند.

* اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ های مختلف وجود ندارد.

** $P<0.05$ ، ژنوتیپ M₁M₁ با ژنوتیپ های M₁M₂ و M₂M₂.

⁺ $P<0.05$ ، ژنوتیپ M₁M₁ با ژنوتیپ M₂M₂.

در افراد هیپرکلسترولمی با ژنوتیپ M₁M₁، میزان TC و LDL-C بطور معنی داری بیشتر از سایر ژنوتیپ ها بود ($P<0.05$) و نیز تفاوت معنی داری در غلظت HDL-C بین ژنوتیپ های M₁M₁ و M₂M₂ دیده شد. در افراد سالم با ژنوتیپ M₁M₁، غلظت HDL-C بصورت معنی داری کمتر از سایر ژنوتیپ ها بود ($P<0.05$) (جدول ۳).

جدول ۳: الگوی لیپیدی و فعالیت CETP در ژنوتیپ های مختلف در افراد سالم

M ₂ M ₂ (N=۱۲۶)	M ₁ M ₂ (N=۶۳)	M ₁ M ₁ (N=۱۱)	
۵۳±۹/۳	۵۱±۷	۴۸±۱۱/۵	سن (سال)*
۱۸۳±۲۰/۵	۱۸۵/۶±۲۳/۴	۱۸۷/۲±۳۳/۸	کلسترول تام (mg/dl)**
۱۲۹±۵۱/۲	۱۳۱/۸±۶۸/۵	۱۳۵/۸±۹۱/۲	تری گلیسیرید (mg/dl)*
۵۳/۱±۹/۶	۵۴/۶±۹/۷	۴۶/۸±۱۲/۴	HDL-C (mg/dl)*
۱۰۴/۱±۱۳/۵	۱۰۳/۲±۱۸/۱	۱۰۲/۳±۲۱/۴	LDL-C (mg/dl)**
۱۰۳/۵±۱۳	۱۰۲/۲±۱۴	۱۱۲/۳±۱۷	فعالیت CETP (pmol/μl.h)**

تمام داده ها بصورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شده اند.

* اختلاف معنی داری بین ژنوتیپ های مختلف وجود ندارد.

** $P<0.05$ ، ژنوتیپ M₁M₁ با ژنوتیپ های M₁M₂ و M₂M₂.

⁺ $P<0.05$ ، ژنوتیپ M₁M₁ با ژنوتیپ M₂M₂.

از لحاظ آماری فعالیت CETP در بیماران هیپرکلسترولمی با ژنوتیپ های مختلف در مقایسه با افراد سالم بیشتر بود ($P<0.001$) و نیز افراد با ژنوتیپ M₁M₁ دارای فعالیت بالایی از CETP نسبت به افراد با ژنوتیپ های دیگر بودند.

بحث:

بیماری هیپرکلسترولمی با میزان بالای کلسترول پلاسمایی تشخیص داده می شود و می تواند به عنوان عامل ایجاد کننده بیماری های قلبی مطرح باشد. CETP نقش مهمی در متابولیسم لیپیدها دارد از اینرو مطالعات متعددی پلی مورفیسم های CETP و اثرات آنها را روی پارامترهای لیپیدی پلاسمای بررسی نموده اند (۲۲، ۲۷، ۳۳).

در این مطالعه، تاثیرات پلی مورفیسم CETP/Msp1 بر لیپیدهای پلاسمایی در افراد مبتلا به هیپرکلسترولمی و نیز افراد سالم مورد بررسی قرار گرفت. وو و همکاران معنی داری در فراوانی آلل ها و ژنوتیپ ها بین بیماران CHD و افراد سالم در جمعیت تایوان مشاهده نکردند (۲۷) در حالیکه نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که فراوانی ژنوتیپ M₁M₁ در افراد مبتلا به هیپرکلسترولمی بیشتر از

سپاسگزاری:

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی همدان در سال ۱۳۸۷ به کد ۱۶/۳۵/۶۷۵۴۹/پ می باشد که با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه اجرا شده است، نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از این نهاد اعلام می دارند.

منابع:

- Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997 ; 349(9064):1498-504.
- Rosamond W, Chambless L, Folsom A, Cooper L, Conwill D, Clegg L, et al. Trends in the incidence of myocardial infarction and in mortality due to coronary heart disease. *New Eng J Med* 1998;339:861-7.
- Kromhout D. Epidemiology of cardiovascular diseases in Europe. *Public Health Nutr* 2001; 4: 441-57.
- Castelli WP, Garrison RJ, Wilson PW, Abbott RD, Kalousdian S, Kannel WB. Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *JAMA* 1986; 256(20):2835-8.
- Stamler J, Dyer A, Shekelle R, Neaton J, Stamler R. Relationship of baseline major risk factors to coronary and all-cause mortality, and to longevity: findings from long-term follow-up of Chicago cohorts. *Cardiology* 1993;82:191-222.
- Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A. Hypertriglyceridemia and elevated lipoprotein(a) are risk factors for major coronary events in middle-aged men. *AmJ Cardiol* 1996;77:1179-84.
- Barter PJ, Nicholls S, Rye KA, Anantharamaiah GM, Navab M, Fogelman AM. Antiinflammatory properties of HDL. *Circ Res* 2004; 95(8): 764-72.
- Tall A. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J Lipid Res* 1993;34(8):1255-74.
- de Grooth GJ, Klerkx AHM, Stroes ESG, Stalenhoef AFH, Kastelein JJP, Kuivenhoven JA. review of CETP and its relation to atherosclerosis. *J Lipid Res* 2004;45(11):1967-74.
- Groener J, Pelton R, Kostner G. Improved estimation of cholesteryl ester transfer/exchange activity in serum or plasma. *Clin Chem* 1986; 32 (2):283-6.
- Bruce C, Tall AR. Cholesteryl ester transfer proteins, reverse cholesterol transport, and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1995;6(5):306.
- Ruggeri RB. Cholesterol ester transfer protein: Pharmacological inhibition for the modulation of plasma cholesterol levels and promising target for the prevention of atherosclerosis. *Curr Topic Med Chem* 2005;5(3):257-64.
- Inazu A, Brown ML, Hesler CB, Agellon LB,

افراد سالم است که این تایید کننده نتایج مطالعه‌ای است که بر روی جمعیت ترک انجام یافته بود (۳۳). نتایج این مطالعه نشان دادند که در افراد هیپرکلسترولمی با ژنوتیپ M_1M_1 میزان TC و LDL-C بطور معنی داری بیشتر از سایر ژنوتیپ ها می باشد، در مطالعه‌ای که روی افراد مبتلا به CAD انجام گرفته بود نیز چنین ارتباطی گزارش شده است (۳۳). مطالعات نشان داده اند که در افراد دارای ژنوتیپ M_1M_1 ، غلظت HDL-C بطور معنی داری کمتر از افراد دارای ژنوتیپ های دیگر است (۳۳) نتایج ما نیز نشان دادند در بیماران با ژنوتیپ M_1M_1 ، غلظت HDL-C از لحاظ آماری کمتر از افراد با ژنوتیپ M_2M_2 است ولی غلظت HDL-C بین افراد هیپرکلسترولمی با ژنوتیپ های M_1M_1 و M_1M_2 اختلاف معنی داری نداشت که نشان دهنده وجود همبستگی منفی بین آلل M_1 و غلظت HDL-C است. ایسبیر و همکارانش ارتباط مثبتی را بین آلل M_2 و میزان HDL-C در افراد سالم مشاهده نمودند (۳۳) ولی نتایج ما چنین ارتباطی را نشان نداد.

در مطالعه حاضر در افراد دارای ژنوتیپ M_1M_1 ، فعالیت CETP بطور معنی داری بیشتر از افراد دیگر بود که نشان دهنده وجود همبستگی مثبت بین آلل M_1 و فعالیت CETP است. کیوون هون در مطالعه خود به نتیجه مشابهی دست پیدا کرده است و علت این افزایش فعالیت را افزایش در غلظت CETP بیان نموده است (۲۰). این احتمال وجود دارد که آلل M_1 بر روی میزان بیان CETP تاثیر داشته باشد. با افزایش فعالیت CETP، میزان انتقال استرکلسترول از HDL-C به LDL بیشتر می شود که این امر منجر به افزایش غلظت LDL-C و کاهش HDL-C می شود. علاوه بر این ممکن است پلی مورفیسم Msp1 روی بیان ژن های موجود در نزدیکی ژن CETP تاثیر گذار باشد (۲۰). یکی از این ژنها، ژن مربوط به آنزیم لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT) می باشد که خود در آسیله کردن کلسترول جهت ذخیره آن در ذرات HDL دخیل است و هرگونه تغییر در میزان این آنزیم می تواند بر غلظت لیپوپروتئینها بویژه HDL-C تاثیر گذار باشد.

نتیجه نهایی:

در کل نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان دهنده آن است که، پلی مورفیسم Msp1 می تواند بر الگوی لیپیدی و فعالیت CETP تاثیر گذار باشد.

- Koizumi J, Takata K, et al. Increased high-density lipoprotein levels caused by a common cholesteryl-ester transfer protein gene mutation. *New Eng J Med* 1990;323(18):1234-8.
14. Van der Steeg W, Kuivenhoven J, Klerkx A, Boekholdt S, Hovingh G, Kastelein J. Role of CETP inhibitors in the treatment of dyslipidemia. *Curr Opin Lipidol* 2004;15(6):631-6.
 15. Papp AC, Pinsonneault JK, Wang D, Newman LC, Gong Y, Johnson JA, et al. Cholesteryl ester transfer protein(CETP) polymorphisms affect mRNA splicing, HDL levels, and sex-dependent cardiovascular risk. *PloS one* 2012;7(3):e31930.
 16. Nagano M, Yamashita S, Hirano K, Takano M, Maruyama T, Ishihara M, et al. Molecular mechanisms of cholesteryl ester transfer protein deficiency in Japanese. *J Atheroscler Thromb* 2004;11(3):110.
 17. Agellon LB, Quinet EM, Gillette TG, Drayna DT, Brown ML, Tall AR. Organization of the human cholesteryl ester transfer protein gene. *Biochemistry* 1990;29(6):1372-6.
 18. Drayna D, Jarnagin AS, McLean J, Henzel W, Kohr W, Fielding C, et al. Cloning and sequencing of human cholesteryl ester transfer protein cDNA. *Nature* 1987;327(6123):632-4.
 19. Funke H, Wiebusch H, Fuer L, Muntoni S, Schulte H, Assmann G. Identification of mutations in the cholesteryl ester transfer protein in Europeans with elevated high density lipoprotein cholesterol. *Circulation* 1994;90(2):241.
 20. Kuivenhoven JA, de Knijff P, Boer JMA, Smalheer HA, Botma GJ, Seidell JC, et al. Heterogeneity at the CETP gene locus Influence on plasma CETP concentrations and HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17(3):560-8.
 21. Fumeron F, Betoulle D, Luc G, Behague I, Ricard S, Poirier O, et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk of myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995;96(3):1664.
 22. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Bickel C, Jiang XC, Poirier O, Lackner KJ, et al. Common genetic variation of the cholesteryl ester transfer protein gene strongly predicts future cardiovascular death in patients with coronary artery disease. *J Am College Cardiol* 2003;41(11):1983-9.
 23. Hassanzadeh T, Barkhordari A. [Association of -971 G/A cholesteryl-ester transfer protein gene polymorphism with lipid profile in primary hyperlipidemia]. *Tehran Univ Med J* 2012;393-401 70(7) (Persian).
 24. Farid MAK, Azizi F, Hedayati M, Daneshpour MS, Shamshiri AR, Siassi F. Association between CETP Taq1B and LIPC-514C/T polymorphisms with the serum lipid levels in a group of Tehran's population: a cross sectional study. *Lipids Health Dis* 2010;9:96.
 25. Akbarzadeh M, Hassanzadeh T, Saidijam M, Esmaili R, Borzouei S, Hajilooi M, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP)- 629C/A polymorphism and its effects on the serum lipid levels in metabolic syndrome patients. *Molecular Biol Rep* 2012:1-6.
 26. Barkhordari A, Hassanzadeh T, Saidijam M, Paoli M. [Association between cholesteryl ester transfer protein D442G polymorphism on serum lipid levels and CETP activity in hypercholesterolemic patients]. *Tehran Univ Med J* 2012; 69(12):737-43. (Persian)
 27. Wu JH, Lee YT, Hsu HC, Hsieh LL. Influence of CETP gene variation on plasma lipid levels and coronary heart disease: A survey in Taiwan. *Atherosclerosis* 2001;159(2):451-8.
 28. Hassanzadeh T, Firoozrai M, Zonouz AE, Zavarehee A, Paoli M. Taq1B polymorphism of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in primary combined hyperlipidaemia. *Indian J Med Res* 2009; 129(3): 293-8.
 29. Ghasabeh TH, Firoozrai M, Zonouz AE, Paoli M. Association between cholesteryl ester transfer protein Taq1B polymorphism with lipid levels in primary hyperlipidemic patients. *Eur J Lipid Sci Technol* 2008;110(3):225-31.
 30. Ghasabeh TH, Firoozrai M, Zonouz AE, Radmehr H, Zavarehee A, Paoli M. One common polymorphism of cholesteryl ester transfer protein gene in Iranian subjects with and without primary hypertriglyceridemia. *Pak J Biol Sci* 2007;10(23):4224-9.
 31. Meena K, Misra A, Vikram N, Ali S, Pandey R, Luthra K. Cholesterol ester transfer protein and apolipoprotein E gene polymorphisms in hyperlipidemic Asian Indians in North India. *Mol Cell Biochem* 2011;352(1):189-96.
 32. Tanrikulu S, Ademoglu E, Gurdol F, Mutlu-Turkoglu U, Bilge AK, Nisanci Y. Association of cholesteryl ester transfer protein- 629C> A polymorphism with high - density lipoprotein cholesterol levels in coronary artery disease patients. *Cell Biochem Funct* 2009;27(7):452-7.
 33. Isbir T, Yilmaz H, Agachan B, Karaali Z. Cholesterol ester transfer protein, apolipoprotein E and lipoprotein lipase genotypes in patients with coronary artery disease in the Turkish population. *Clin Gen* 2003;64(3):228-34.

*Original Article***Msp1 Polymorphism of Cholesteryl Ester Transfer Protein in Patients with Hypercholesterolemia**

T. Hassanzadeh, Ph.D.^{*} ; A. Barkhordary, M.Sc.^{**} ; M. Saidijam, Ph.D.^{***} ; A. Fattahi, M.Sc.^{**}
Z. Latifi, M.Sc.^{**}

Received: 20.1.2013

Accepted: 21.5.2013

Abstract

Introduction & Objective: It has been shown that there is a correlation between cholesterol concentration and coronary heart disease (CHD). Cholesteryl ester transfer protein (CETP) plays a central role in lipoproteins metabolism and it has been suggested that various polymorphisms in CETP gene can affect the enzyme activity and blood lipid parameters. There was not enough information about distribution and effects of Msp1 genotypes on lipid levels, especially in Iranian population. Therefore, we studied CETP Msp1 polymorphism and its effects on lipid parameters in subjects with and without hypercholesterolemia.

Materials & Methods: In this experimental study, 100 subjects with hypercholesterolemia and 200 healthy individuals were selected as the study population. Lipid parameters and CETP activity were measured in serum. Determination of Msp1 genotypes was performed using polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism techniques.

Results: Frequency of M1 allele in hypercholesterolemic and healthy subjects was 27% and 21.25% respectively. The frequency of M1M1 genotype was significantly high in hypercholesterolemic patients compared to healthy ones. The levels of LDL-C and TC in patients with M1M1 genotype were higher than patients with M1M2 and M2M2 genotypes. CETP activity was high in all subjects with M1M1 genotype.

Conclusion: It has been concluded that the Msp1 polymorphism of CETP probably affects lipid parameters and CETP activity.

(*Sci J Hamadan Univ Med Sci 2013; 20 (2):107-113*)

Keywords: Cholesteryl Ester Transfer Protein / Hypercholesterolemia / Polymorphism

^{*} Assistant Professor , Department of Biochemistry, School of Medicine
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.

^{**} M.Sc. in Biochemistry, Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran. (zeinablatifi@yahoo.com)

^{***} Associate Professor , Department Molecular Medicine & Genetics, School of Medicine
Hamadan University of Medical Sciences & Health Services, Hamadan, Iran.