مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی هفدهم، شماره‌ی ۳، صفحه‌های ۲۱۴ ـ ۲۰۶ (مرداد ـ شهریور ۱۳۹۴)

مقاله‌ی پژوهشی

مقایسه‌ی تغییرات ژنتیکی لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز بین افراد دارای غلظت سرمی بالا و پایین از لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) در جمعیت قند و لیپید تهران

دکتر محسن ناصری[۱]، دکتر مهدی هدایتی[۲]، دکتر مریم السادات دانشپور[۲]، دکتر فاطمه بندریان[۳]، دکتر فریدون عزیزی[۴]

۱) مرکز تحقیقات ژنومیک، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران، ۲) مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، ۳) مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، ۴) مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول**: تهران، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، بزرگراه چمران، خیابان یمن، خیابان پروانه، کدپستی۴۷۶۳ -۱۹۱۹۵، دکتر فریدون عزیزی؛ e-mail: azizi@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: غلظت سرمی پایین لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) یکی از مهم‌ترین و شایع‌ترین عوامل خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی است. بنابراین شناخت ژن‌های موثر بر غلظت HDL سرمی اهمیت زیادی دارد. در این مطالعه، ارتباط بین تغییرات توالی ژن لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز (LCAT) با سطح سرمی کلسترول ـ HDL در جمعیت مطالعه قند و لیپید تهران (TLGS) مورد بررسی قرار گرفت. مواد و روش‌ها: با استفاده از داده‌های فاز ۴ مطالعه TLGS، افراد با غلظت کلسترول ـ HDL پایین و افراد با غلظت کلسترول ـ HDL بالا شناسایی شده، در نهایت افرادی از هر گروه که حداقل یکی از بستگان درجه اول آن‌ها دارای فنوتیپ مورد نظر بودند، وارد مطالعه گردیدند. محدوده سنی افراد ۱۵ سال به بالا تعیین و عوامل چاقی، سن، جنس، قند و فشار خون به عنوان عوامل مداخله‌گر در نظر گرفته شدند. تغییرات ژنتیکی ژن LCAT به روش تعیین توالی مستقیم شناسایی و ارتباط آن‌ها با غلظت کلسترول ـ HDL بررسی شد. یافته‌ها: در مجموع ۱۵ تغییر ژنتیکی شناسایی شدند. دو تغییر ژنتیکی rs5923 و Q177E با فراوانی آللی به ترتیب ۵/۸۷ درصد و ۴/۷ درصد در هر دو گروه مورد مطالعه وجود داشتند، هر چند در افراد با غلظت پایین HDL به طور معنی‌داری بیشتر بودند. ۱۱ مورد از تغییرات ژنتیکی برای اولین بار در این بررسی گزارش شده است و ۴ مورد قبلاً در پایگاه داده چندریختی تک نوکلئوتیدی (dbSNP) گزارش شده بودند. نتیجه‌گیری: نواحی اگزونی ژن LCAT در جمعیت تهران دارای تغییرات ژنتیکی متعددی می‌باشد. اگرچه فراوانی تعدادی از آن‌ها در افراد با کلسترول ـ HDL سرمی پایین، بیشتر بود، اما پس از تعدیل با عوامل مداخله‌گر، از نظر آماری معنی‌دار نبود.

واژگان کلیدی: تغییرات ژنتیکی، لیپوپروتئین، لسیتین کلسترول آسیل ترانسفراز، تعیین توالی

دریافت مقاله: ۹۳/۱۱/۱ـ دریافت اصلاحیه: ۹۴/۴/۲ ـ پذیرش مقاله: ۹۴/۴/۲۴

مقدمه

بیماری‌های قلبی ـ عروقی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان محسوب می‌شوند. اختلال سطح لیپیدهای خون (دیس‌لیپیدمی) از عوامل خطر بیماری‌های قلبی‌وعروقی می‌باشد. این اختلالات شامل افزایش سطح کلسترول تام (TC)[i]، افزایش لیپوپروتئین با چگالی کم (LDL)[ii]، افزایش غلظت تری‌گلیسرید (TG) و کاهش غلظت لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL)[iii] در سـرم می‌باشند.[۱] در دهه ۱۹۸۰

i- Total Cholesterol
ii- Low Density Lipoprotein
iii-High Density Lipoprotein

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

میلادی، سطوح پایین HDL به عنوان یک عامل خطر مستقل برای بیماری‌های عروق کرونری (CAD) به اثبات رسید.[۲] علاوه بر این، HDL پایین یکی از اجزاء سندرم متابولیک می‌باشد که خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی را افزایش می‌دهد. بر اساس گزارش مطالعات متعدد، غلظت سرمی لیپیدهای خون جزو فنوتیپ‌های ژنتیکی پیچیده بوده و تحت تاثیر عوامل ژنتیکی و محیطی قرار دارند.[۳،۴] سهم وراثت در تعیین میزان لیپیدها نسبتا بالا تخمین زده شده است، به طوری‌که این نسبت ۴۰ تا ۶۰ درصد برای کلسترول ـ HDL، ۴۰ تا ۵۰ درصد برای کلسترول ـ LDL و ۳۵ تا ۴۸ درصد برای تری‌گلیسریدها گزارش شده است.[۲]

لیپوپروتئین HDL به طور دایم توسط آنزیم‌هایی مانند LCAT[i]، CETP[ii] و PLTP[iii] از نظر خصوصیاتی مانند شکل، اندازه و شارژ سطحی دچار تغییر می‌گردد.[۲،۵] با این که تغییرات ژنتیکی شایع ژن‌های CETP، LPL[iv] و LIPC[v] بیشترین همراهی را با غلظت HDL پلاسما نشان می‌دهند،[۶] بسیاری از مطالعات، اهمیت نقش آنزیم LCAT را در هموستاز کلسترول تایید و ژن آن را به‌عنوان یک هدف برای مداخلات درمانی در پیشگیری یا جلوگیری از پیشرفت روند آترواسکلروزیس پیشنهاد کرده‌اند.[۷،۸]

آنزیم LCAT، گلیکوپروتئین پلاسمایی با مقادیر فراوان کربوهیدرات همراه است.[۹] این آنزیم تقریباً تشکیل تمامی استرهای کلسترول پلاسمای انسان را با انتقال یک رزیدوی زنجیر آسیل چرب بلند از موقعیت sn-2 فسفاتیدیل کولین (لیسیتین) به گروه ۳- بتا هیدروکسی کلسترول و ایجاد لیزوفسفاتیدیل کولین و استرکلسترول کاتالیز می‌نماید. این واکنش اغلب روی HDL پلاسما که حاوی فعال‌کننده‌ی اصلی آنزیم LCAT (یعنی ApoA1)[vi] است، اتفاق می‌افتد.[۷،۹] ApoA1 قوی‌ترین فعال‌کننده LCAT در پلاسماست، البته آنزیم LCAT توسط ApoE، ApoC1 و ApoA4 هم فعال می‌شود. آنزیم LCAT پس از فعال شدن توسط ApoA1، کلسترول‌های آزاد موجود بر سطح HDL را استریفیه می‌نماید.[۲]

ژن LCAT در ناحیه‌ی q21-22 از کروموزوم ۱۶ انسانی واقع شده است و به طور عمده در کبد بیان می‌گردد. این ژن دارای ۶ اگزون است[۷] و پروتئینی با ۴۱۶ اسیدآمینه را کد می‌کند.

بررسی‌ها نشان داده که جهش در ژن LCAT سبب کاهش سطح HDL-C می‌گردد.[۱۰] از سوی دیگر، موتاسیون‌های این ژن اساس بیماری‌های(FLD) Familial LCAT Deficiency و یا Fish-eye disease (FED) می‌باشد. تاکنون بیش از ۹۰ پلی‌مورفیسم در ژن LCAT شناسایی شده است. تمامی این جهش‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای فعالیت LCAT را کاهش می‌دهند.[۸،۱۱،۱۲] در مطالعه‌ایی که در سال ۲۰۱۱ توسط دکتر دانشپور در پژوهشکده‌ی علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شد، سه ناحیه ژنی q22–24، 11q23–25 و 16q23–24 دارای شانس بالایی برای حضور ژن‌های موثر بر غلظت سرمی HDL-C گزارش شدند[۱۳] که ژن LCAT نیز در این ناحیه قرار می‌گیرد.

با توجه به گزارش شیوع بالای HDL پایین در مطالعه TLGS [۱۴،۱۵] و سهم بالای عوامل ژنتیکی در تعیین غلظت HDL سرم، این مطالعه با هدف شناسایی تغییرات ژنتیکی در ژن LCAT و مقایسه توزیع آن‌ها در دو گروه افراد با غلظت بسیار بالای کلسترول ـ HDL و افرادی با سطوح بسیار پایین کلسترول ـ HDL در جمعیت سالم شرکت‌کننده در مطالعه قند و لیپید تهران (TLGS) انجام گردید.

مواد و روش‌ها

با استفاده از داده‌های فاز ۴ مطالعه TLGS، افراد با غلظت سرمی کلسترول ـ HDL کمتر از صدک ۵ (۱۸۱ نفر) و افراد با غلظت سرمی کلسترول ـ HDL بیشتر از صدک ۹۵ (۱۷۵ نفر) شناسایی و انتخاب شدند. برای افزایش شانس یافتن موارد ژنتیکی HDL خیلی بالا و خیلی پایین افرادی انتخاب شدند که حداقل یکی از بستگان درجه اول آن‌ها نیز دارای فنوتیپ مورد نظر بودند و در هر ۴ فاز مطالعه TLGS، فنوتیپ مورد نظر را به صورت ثابت نشان داده بودند (جدول ۱). افراد در محدوده سنی ۷۰–۱۵ سال انتخاب شدند و کودکان در این مطالعه وارد نشدند. معیارهای خروج از مطالعه، مصرف داروهای کاهنده یا افزاینده HDL (هر گونه داروی موثر بر لیپیدهـــای سرم)، نمایه‌ی توده‌ی بدنی (BMI) $\leq$ ۳۰ کیلوگرم بر مترمربع و مصرف سیگار بودند.

i-Lecithin-Cholesterol Acyltransferase
ii-Cholesterylester Transfer Protein
iii-Phospholipid Transfer Protein
iv- Lipoprotein Lipase
v- Lipase, Hepatic
vi- Apolipoprotein A-1

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

جدول ۱- غلظت صدک ۵ و ۹۵ HDL در سرم در هر گروه سنی در فاز ۴ مطالعه‌ی TLGS

گروه سنی (سال)	مرد		زن	
	صدک ۹۵ (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	صدک ۵ (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	صدک ۹۵ (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	صدک ۵ (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)
۱۵-۲۴	۶۲	۳۱	۷۰	۳۶
۲۵-۳۴	۵۹	۳۰	۷۳	۳۵
۳۵-۴۴	۵۷	۲۹	۷۰	۳۴
۴۵-۵۴	۵۹	۳۰	۷۰	۳۳
۵۵-۶۴	۶۰	۲۹	۷۰	۳۴
≥۶۵	۶۳	۳۰	۷۱	۳۴

از افراد شرکت‌کننده در این مطالعه، رضایت‌نامه اگاهانه اخذ گردید و اصول اخلاقی رعایت شد و مطالعه به تصویب کمیته‌ی اخلاق پژوهشکده‌ی علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی رسید. این افراد شامل ۸۴ نفر با غلظت‌های پایین کلسترول ـ HDL (۶۳ مرد و ۲۱ زن) و ۶۶ نفر با غلظت‌های بالای کلسترول ـ HDL (۳۹ مرد و ۲۷ مورد زن) بودند. اطلاعات اولیه از قبیل سن، BMI[i]، غلظت‌های کلسترول تام، کلسترول ـ LDL، کلسترول ـ HDL و تری-گلیسرید برای هر دو زیرگروه‌های HDL بالا و پایین ثبت شد. اطلاعات دموگرافیک و بیومتریک این افراد در جدول ۲ بیان شده است.[۱۶]

استخراج DNAی افراد انتخاب شده توسط کارشناسان بانک DNA پژوهشکده‌ی علوم غدد ومتابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و به روش Salting out انجام و DNA در دمای ۲۰- یا ۷۰- ذخیره شده بود. پس از انتخاب و دریافت نمونه‌ی مورد نظر از بانک DNA، غلظت نمونه و درجه‌ی خلوص آن توسط دستگاه نانودراپ مرکز خوانده و در صورت بالا بودن غلظت DNA با آب مقطر استریل رقیق گردید تا همه‌ی نمونه‌ها به غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر برسند.

تکثیر DNA و واکنش PCR با استفاده از پرایمرهای زیر انجام شد:

پروموتر:	F[5'TGTTGCCTCCTTGACTTGAG3'] , R [5'GGGAAGAGCACATTGAGGAG3']
اگزون ۱:	F [5'CCTTTCCGGCAATCTCTG3'] , R[5'TCACAGTGTGGTGGGAGAAG3']
اگزون ۲ و ۳:	F [5'CCAGACTGGGTGTTTGCTC3'] , R [5'TGTGTGCAGGTACCCTGTG3']
اگزون ۴:	F [5'AGCAAGCTGGCAGGTTTGTGTCA3'] , R [5'AAGACAGGCTTCCCATAGGCAG3']
اگزون ۵:	F [5'AACAATGGCTACGTGCGGGACGA3'] , R [5'AGTGGTAGATAGCACCCCTAGAG3']
اگزون ۶:	F [5'TGAGCCTACACTCAGCAGGTTGTG3'] , R [5'CCCATCTTGCCTCACTGCACACA3']

پرایمرهای مورد نظر به صورت لیوفیلیزه از شرکت Bioneer کره تهیه شدند.

یک میکرولیتر از نمونه‌ی DNA جهت واکنش PCR با استفاده از تیوب‌های کیت PCR PreMix در حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر، شامل ۴۰ پیکومول از هر پرایمر، ۰/۲ میلی‌مول بر لیتر dNTP، ۱/۵ میلی‌مول بر لیتر MgCl2،[۱۰] میلی‌مول بر لیتر Tris و ۰/۲۵ واحد آنزیم Taq پلیمراز انجام شد. واکنش PCR در ۳۲ سیکل صورت گرفت و هر سیکل در سه مرحله حرارتی شامل مرحله دناتوره شدن اولیه در دمای ۹۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله اتصال پرایمر به الگو به مدت ۳۵ ثانیه (در دماهای ۵۳، ۵۹، ۵۶، ۶۳، ۶۲ و ۶۹ به ترتیب برای هر جفت پرایمر) و مرحله توسعه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵۰ ثانیه انجام گرفت.

برای اطمینان از تکثیر شدن قطعه‌ی مورد نظر و عدم تکثیر نواحی دیگر و تشکیل پرایمر دایمر در محصول PCR، از روش الکتروفورز روی ژل پلی آکریل‌آمید و رنگ‌آمیزی نیترات نقره استفاده شد. پس از حصول اطمینان از موفق بودن PCR، نمونه‌ها جهت تعیین توالی ارسال شدند.

i-Body Mass Index

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

نتایج تعیین توالی نمونه‌ها با کمک نرم‌افزار Chromas Lite 2.1.1 یا BioEdit بررسی و پس از Alignment و تحلیل داده‌ها، تغییرات ژنتیکی احتمالی موجود در ژن LCAT مشخص و ارتباط آن‌ها با غلظت HDL بررسی گردید.

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی قند و لیپیدهای سرم با روش کالری‌متری در پژوهشکده‌ی علوم غدد و متابولیسم انجام شد. مطالب و جزییات مربوط به روش اندازه‌گیری این متغیرها در مطالعه دکتر عزیزی و همکاران موجود می‌باشد.[۱۷] به طور خلاصه از تمامی مراجعان پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتا بودن در طول شب بین ساعت‌های ۹-۷ صبح جهت اندازه‌گیری غلظت کلسترول تام، HDL کلسترول، LDL کلسترول و تری‌گلیسرید یک نمونه‌ی خون سیاهرگی گرفته شد. سپس نمونه‌های خون ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شده و کلیه اندازه‌گیری‌ها در همان روز با استفاده از دستگاه اتوآنالیزر Selectra 2 انجام گردیدند.

در این پژوهش، بررسی پیروی از تعادل هاردی-واینبرگ[i]، فراوانی آللی در جمعیت مورد مطالعه و تعیین شاخص‌های عدم تعادل پیوستگی برای تغییرات ژنی شناسایی شده با روش Pairwaise Lewontin's D و استفاده از نرم‌افزار پاورمارکر صورت گرفت.

تحلیل آماری

اطلاعات جمع‌آوری شده توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ و نرم‌افزار STATA نسخه ۹/۱ مورد تحلیل قرار گرفتند. نتایج متغیرهای کمی پیوسته به صورت میانگین± انحراف معیار و متغیرهای کیفی به صورت تعداد و درصد بیان شدند. برای مقایسه متغیرهای کمی پیوسته با توزیع نرمال بین دو گروه از آزمون تی مستقل استفاده شد. آزمون کای‌دو و آزمون دقیق فیشر برای مقایسه متغیرهای کیفی از قبیل ژنوتیپ و فراوانی آللی بین دو یا سه گروه به کار گرفته شدند. برای مقایسه متغیرهای کمی پیوسته با توزیع نرمال بین بیش از دو گروه از آزمون ANOVA استفاده شد.

رگرسیون خطی چندگانه برای کنترل اثرات مخدوش‌گرهای بالقوه از قبیل سن، سیگار، جنس و BMI به کار گرفته شد. این عوامل مخدوش‌گر باعث افزایش یا کاهش HDL سرم می‌شوند. سطح معنی‌داری برای تمام تحلیل‌های آماری کوچک‌تر یا مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه، ۸۴ نفر با غلظت‌های بسیار پایین کلسترول ـ HDL (۶۳ مرد و ۲۱ زن) و ۶۶ نفر با غلظت‌های بسیار بالای کلسترول ـ HDL (۳۹ مرد و ۲۷ مورد زن) مورد بررسی قرار گرفتند. در کل، ۱۰۲ مرد و ۴۸ زن در این مطالعه شرکت کردند. میانگین سنی مردان و زنان به ترتیب ۱۳±۴۳ و ۱۵±۴۱ سال بود.

تعیین توالی کامل ژن LCAT در ۱۵۰ نمونه DNAی افراد تهرانی (شرکت‌کننده در فاز ۴ مطالعه قند و لیپید تهران) به روش سنگر[ii] انجام شد. ویژگی‌های ۱۵۰ نمونه شرکت‌کننده در این مطالعه در جدول ۲ ذکر گردیده است.

جدول ۲- اطلاعات دموگرافیک و بیومتریک (زیست‌سنجی) افراد مورد مطالعه

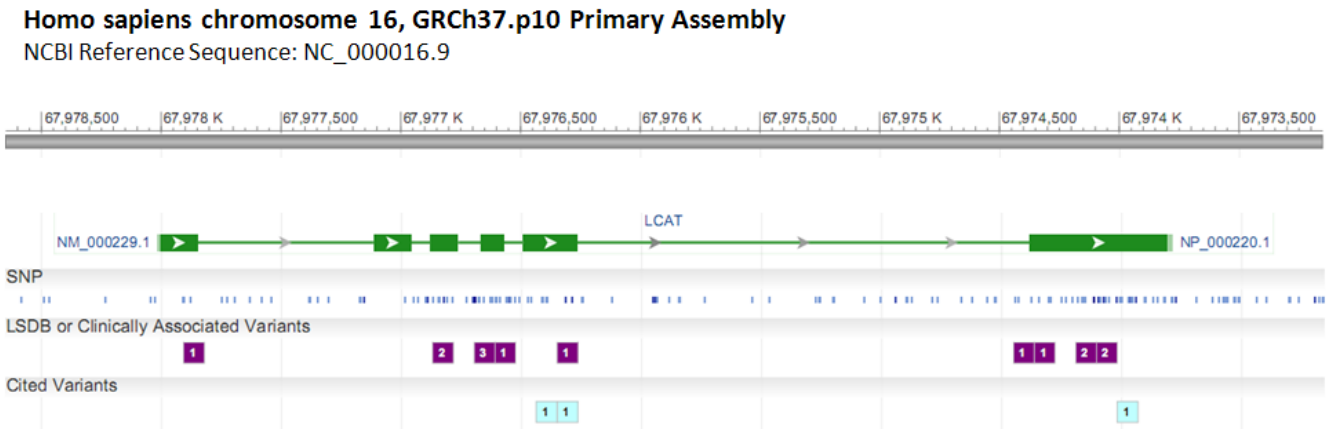
متغیرها	افراد با صدک ۹۵ کلسترول ـ HDL (۶۶ نفر)	افراد با صدک ۵ کلسترول ـ HDL (۸۴ نفر)	مقدار P
جنسیت (زن/مرد) (درصد)	۵۹/۴	۷۵/۲	۰/۰۳۷
سن (سال)	۱۶±۳۷	۱۳±۴۱	۰/۰۹۳
کلسترول تام (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۴۲±۱۹۴	۴۷±۱۶۸	۰/۰۰۱
لیپوپروتئین با چگالی پایین (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۳۵±۱۰۴	۲۸±۹۰	۰/۰۱۲
لیپوپروتئین با چگالی بالا (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۹/۸±۷۳/۸	۳/۳±۲۸	<۰/۰۰۰۱
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۴۲±۸۱	۱۷۹±۲۵۱	<۰/۰۰۰۱
نمایه‌ی توده‌ی بدنی (کیلوگرم/مترمربع^2)	۳±۲۳	۳±۲۶	<۰/۰۰۰۱

نتایج به صورت میانگین±انحراف معیار می‌باشد.

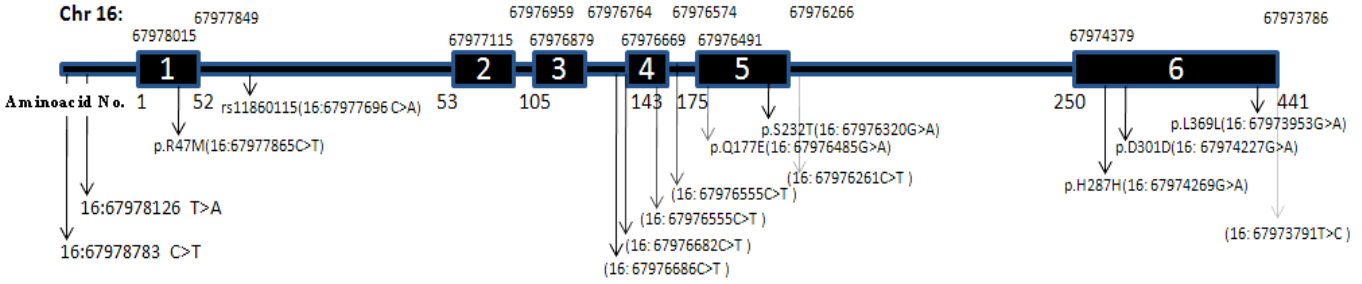
[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

در مطالعه‌ی حاضر، در کل ۱۵ تغییر ژنتیکی شناسایی شدند که از این تعداد چهار مورد قبلا در بانک‌های اطلاعاتی عمومی (dbSNP: rs4986970 ،rs11860115،rs5923 و Ensemble: COSM972635) گزارش شده بودند. دو مورد از تغییرات ژنتیکی در ناحیه احتمالی پروموتر ژن مستقر بودند. هفت تغییر ژنتیکی در اگزون‌ها (یکی روی اگزون ۱، یکی روی اگزون ۴، دوتا روی اگزون ۵ و سه تا روی اگزون ۶) و شش تغییر ژنتیکی دیگر در ناحیه اینترونی ژن LCAT قرار داشتند.

شکل ۱ موقعیت ژن LCAT روی کروموزوم ۱۶ انسان به همراه مکان تغییرات ژنی ثبت شده در پایگاه NCBI و شکل ۲ به صورت شماتیک مکان تغییرات ژنتیکی شناسایی شده در این مطالعه را روی ژن LCAT نشان می‌دهد. شکل۳ تصویر کروماتوگرام دو مورد از تغییرات ژنی ژن LCAT را که به صورت هتروزیگوت می‌باشند، نشان می‌دهد.



شکل ۱- موقعیت ژن LCAT روی کروموزوم ۱۶ انسان به همراه مکان تغییرات ژنی ثبت شده در پایگاه NCBI



شکل ۲- شکل شماتیک ژن LCAT که محل قرارگیری ۱۵ تغییر ژنتیکی شناسایی شده در این مطالعه روی آن مشخص شده است. باکس‌های مشکی نشان‌دهنده اگزون‌های ۱ تا ۶ ژن می‌باشند. در قسمت بالا شماره‌گذاری نوکلئوتید برحسب عدد کروموزومی (NC_000016.9) و در قسمت پایین شماره گذاری آمینواسیدها مطابق GenBank: AAB34898.1 می‌باشد.[۱۴]

i- Hardy-weinberg Equilibrium
ii-Sanger

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

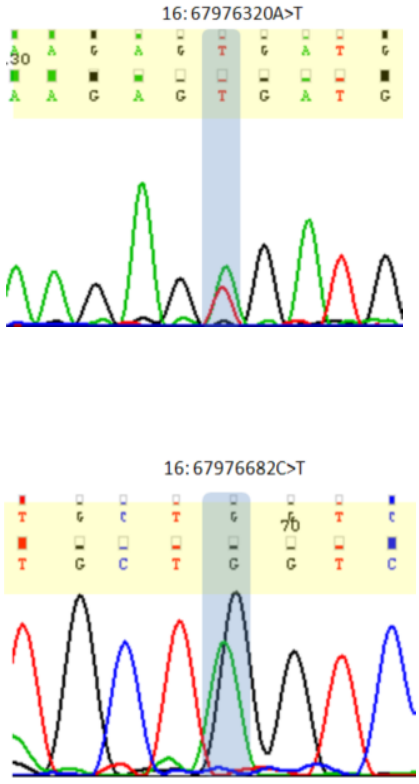
جدول ۳- فراوانی ژنوتایپی تغییرات ژنتیکی شناسایی شده

جایگاه ژنومی چند ریختی تک نوکلئوتیدی	فراوانی ژنوتیپ	کلسترول ـ HDL پایین	کلسترول ـ HDL بالا	هر دو گروه	مقدار P
	CC	۰/۸۳۵	۰/۹۴۷	۰/۸۸۵	
g.۹۰۶۳	CT	۰/۱۶۵	۰/۰۵۳	۰/۱۱۵	۰/۰۴۸
(rs۵۹۲۳)	TT	۰	۰	۰	
	CC	۰/۸۵	۰/۹۷	۰/۹	
g.۶۵۳۱	CG	۰/۱۵	۰/۰۳	۰/۰۹۵	۰/۰۱۴
(جدید)	GG	۰	۰	۰	
	AA	۰/۹۷۶	۱	۰/۹۸۶	
g.۵۳۲۰	AC	۰/۰۲۴	۰	۰/۱۲	۰/۵
(۱۱۸۶۰۱۱۵ rs)	CC	۰	۰	۰	
	CC	۰/۹۷۶	۱	۰/۹۸۳	
g.۶۳۳۴	CT	۰/۰۲۴	۰	۰/۰۱۳	۰/۵
(جدید)	TT	۰	۰	۰	
	TT	۱	۰/۹۸۲	۰/۹۹۲	
g.۴۲۳۳	AT	۰	۰/۰۱۸	۰/۰۰۸	۰/۴۴
(جدید)	AA	۰	۰	۰	
	GG	۰/۹۸۸	۱	۰/۹۹۳	
g.۴۸۹۰	AG	۰/۰۱۲	۰	۰/۰۰۷	۱
(جدید)	AA	۰	۰	۰	
	CC	۰/۹۸۸	۱	۰/۹۹۳	
g.۵۱۵۱	CT	۰/۰۱۲	۰	۰/۰۰۷	۱
(*COSM۹۷۲۶۳۵)	TT	۰	۰	۰	
	CC	۱	۰/۹۸۴	۰/۹۹۳	
g.۶۴۶۱	CT	۰	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۴۴
(جدید)	TT	۰	۰	۰	
	CC	۰/۹۸۸	۱	۰/۹۹۳	
g.۶۷۵۵	CT	۰/۰۱۲	۰	۰/۰۰۷	۱
(جدید)	TT	۰	۰	۰	
	TT	۰/۹۸۸	۱	۰/۹۹۳	
g.۹۲۲۵	CT	۰/۰۱۲	۰	۰/۰۰۷	۱
(اسنیپ جدید)	CC	۰	۰	۰	
	GG	۱	۰/۹۸۴	۰/۹۹۳	
g.۸۷۸۹	AG	۰	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۴۴
(جدید)	AA	۰	۰	۰	
	GG	۱	۰/۹۸۴	۰/۹۹۳	
g.۸۷۴۷	CG	۰	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۴۴
(۶۷۹۷۴۲۶۸)	CC	۰	۰	۰	
	AA	۱	۰/۹۸۴	۰/۹۹۳	
g. ۶۶۹۶	AT	۰	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۴۵
(rs۴۹۸۶۹۷۰)	TT	۰	۰	۰	
	CC	۱	۰/۹۸۴	۰/۹۹۳	
g.۶۴۱۸	CA	۰	۰/۰۱۵	۰/۰۰۷	۰/۴۴
(جدید)	AA	۰			

* این چند ریختی تک نوکلئوتیدی تنها در ensamble گزارش شده بود و در dbSNP نبود

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

از میان تغییرات ژنتیکی شناخته شده، rs5923 دارای فراوانی بیشتر از ۵ درصد بود و بیشتر در افراد با غلظت پایین HDL مشاهده گردید. هم‌چنین، یکی از تغییرات ژنتیکی جدید شناسایی شده (Chr: 16:67976485) نیز دارای فراوانی آلل نادر (MAF)[i] بیشتر از ۵ درصد بود و در ۱۲ نفر با مقدار پایین HDL سرمی و فقط در دو نفر با غلظت HDL بالا به صورت هتروزیگوت مشاهده گردید. تفاوت فراوانی این دو چندریختی تک نوکلئوتیدی در دو گروه مورد آزمایش (بدون در نظر گرفتن سایر عوامل) از نظر آماری معنی‌دار گردید (P≤۰/۰۵). فراوانی آلل نادر یک تغییر ژنتیکی (Q177E) هم خیلی نزدیک به ۵ درصد (۴/۷ درصد) بود که تنها در گروه HDL پایین قرار داشت و ۱۳ تای باقی مانده MAF شان کمتر از یک درصد به دست آمد. فراوانی ژنوتیپی تغییرات ژنتیکی شناسایی شده در جدول ۳ بیان شده است.



شکل ۳- تصویر کروماتوگرام دو مورد از تغییرات ژنی ژن LCAT که به صورت هتروزیگوت می‌باشند.

تغییرات ژنتیکی Ex5_6531G/C و Ex6_9063T/C در هر دو گروه HDL بالا و HDL پایین مشاهده شد. تغییرات ژنتیکی IVS1_5320G/T، PROMOTER_4890T/C، EX1_5151A/G، IVS3_6334A/G، IVS4_6755A/G و IVS6_9225G/A فقط در افراد گروه HDL پایین دیده شدند، در صورتی‌که تغییرات ژنتیکی PROMOTER_4233G/C ، IVS3_6329A/C، IVS4_6461A/G، EX6_8789T/G، EX6_8747T/C و 6696A/T در گروه HDL بالا مشخص شدند. هم‌چنین تفاوت معنی‌داری (P<۰/۰۵) از فراوانی ژنوتیپی برای Ex6_9063T/C و Ex5_6531G/C (P=۰/۰۴۸ و P=۰/۰۱۴) در بین دو گروه یافت شد، البته فراوانی آللی این دو تغییر ژنتیکی فاقد تفاوت معنی‌داری بود.

بحث

در این مطالعه، ارزیابی ژن LCAT در سطح بازهای نوکلئوتیدی با تعیین توالی نمونه‌های DNA به دست آمده از افراد سالم دو سر طیف از نظر غلظت کلسترول ـ HDL (بالا و پایین تر از صدک ۵) انجام گرفت. و ۱۵ تغییر ژنتیکی با تکثیر و تعیین توالی پروموتر، اگزون‌ها و نواحی اتصالی اگزون‌های ژن LCAT در ۱۵۰ نمونه DNAی افراد تهرانی (شرکت‌کننده در مطالعه قند و لیپید تهران) دارای بیشترین و کمترین سطوح کلسترول ـ HDL سرمی شناسایی گردیدند. از این تعداد، چهار تا قبلا در بانک اطلاعات عمومی (rs5923،rs11860115 و dbSNP: rs4986970 و ensemble: COSM972635) گزارش شده بودند. از این چهار تغییر ژنی قدیمی، rs5923 بیشترین فراوانی آلل نادر را نشان داد که البته در مطالعات گذشته نیز دارای فراوانی آللی بالایی بوده است.

هدف عمده از مطالعات ژنتیکی روی سطوح لیپید خون، بهبود معالجه و در نهایت کاهش شیوع بیماری قلبی ـ عروقی است. یکی از انواع مطالعات در این زمینه، تعیین توالی اگزون‌ها برای شناسایی تغییرات ژنتیکی نادر با اثر بزرگ بر روی سطوح لیپید خون و بیماری قلبی وعروقی می‌باشد.[۱۸]

در این روش، امکان شناسایی تغییرات ژنتیکی مسبب و نادر،[ii] علاوه بر تغییرات ژنتیکی شایع،[iii] وجـــود دارد و درنتیجه علاوه بر فرضیه‌ی بروز بیماری‌های شایع به دلیل حضور تغییرات ژنتیکی شایع، فرضیه‌ی بروز بیماری‌های شایع به دلیل حضور تغییرات ژنتیکی نادر امکان آزمون شدن پیدا می‌کند. غربالگری افراد سطوح بالا و پایین یک

i- Minor Allele Frequency (MAF)

ii -Causative and Rare
iii- Common

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

صفت، احتمال پیدا شدن تغییرات ژنتیکی مهم و دارای اثر روی عملکرد پروتئین را افزایش می‌دهد. این روش فاقد سوگیری[i] است، زیرا انتخاب افراد فقط بر اساس فنوتیپ شان شان است و از دیگر مزایای این روش عدم نیاز به بررسی خانواده‌های افراد مورد مطالعه است.[۱۹]

در مطالعه Haase در سال ۲۰۱۲، از ۷۶۰ فرد تعیین توالی شده، ۴۶ نفر این چند ریختی تک نوکلئوتیدی را دارا بودند که در هر دو گروه HDL بالا و HDL پایین تقریباً یکسان حضور داشتند.[۲۰] از آنجایی‌که تغییر باز این چند ریختی تک‌نوکلئوتیدی به تغییر اسیدآمینه منجر نمی‌گردد، احتمال این که این تغییر ژنی نقشی در تغییر غلظت HDL سرمی داشته باشد نیز، پایین خواهد بود. شایان ذکر است که در مطالعه حاضر، این چند ریختی تک‌نوکلئوتیدی با اختلاف معنی‌داری در گروهی که سطح HDL پایین داشتند، بیشتر از گروه HDL بالا حضور داشت، اما پس از تحلیل رگرسیون لجستیک و وارد نمودن عوامل مداخله‌گر، همراهی معنی‌داری با سطوح پایین HDL نشان نداد. البته فراوانی آلل T این چندریختی تک‌نوکلئوتیدی، در مطالعه‌ای که روی ۱۰۰ نفر از شهروندان ترکیه انجام شد، در گروه HDL پایین ۵۴ درصد و در گروه HDL بالا ۳۷ درصد (P=۰/۰۱۹) به‌دست آمد.[۷] از دلایل احتمالی این مشاهده، امکان همبستگی این آلل با آلل دیگری از لکوس مربوطه (موثر روی عملکرد آنزیم)[i] در جمعیت شهروندان ترکیه و یا نزدیک بودن این تغییر ژنی به ناحیه فعال آنزیم است، که احتمال دارد به نوعی در فعالیت آنزیم در آن جامعه اثرگذار باشد. در مطالعه متاآنالیزی که روی جمعیت ۲۰۵۶۲ نفری از کشور دانمارک در سال ۲۰۱۲ انجام شد، ۱۰۴۵ نفر دارای این تغییر ژنی بودند (فراوانی آللی: ۰/۰۵) که با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. از طرفی در جمعیت دانمارک، rs4986970 در ۷۷۹ نفر (فراوانی آللی: ۰/۰۴) گزارش‌شد که بیشتر از میزانی است که در این تحقیق مشاهده شده است.[۲۰] یکی دیگر از تغییرات ژنتیکی شناخته شده در ژن LCAT، چندریختی تک‌نوکلئوتیدی g.5151G> بود که در حقیقت یک نوع موتان بدمعنی[ii] است و باعث جانشینی باز آدنین به جای سیتوزین در اگزون یک شده که این امر خود منجر به جایگزینی اسیدآمینه‌ی متیونین به‌جای آرژنین در زنجیره‌ی اسید-آمینه‌ی آنزیم LCAT در موقعیت ۴۷ می‌شود.

i-Unbiased

rs4986970 تغییر ژنتیکی شناخته‌شده بعدی است که در یک مرد با HDL بالا مشاهده گردید. این تغییر ژنتیکی در مطالعات قبلی فاقد همراهی معنی‌دار با سطوح کلسترول ـ HDL سرمی بود.[۲۱] جهش c.529C>G روی اگزون شماره ۵ ژن LCAT قرار دارد که اسیدآمینه گلوتامین موقعیت ۱۷۷ آنزیم را به گلوتامیک تغییر می‌دهد. با مقایسه میان دو گروه آزمون‌شونده، MAF در افراد دارای HDL پایین به‌طور معنی‌داری بیشتر از MAF افراد HDL بالا بود. هم‌چنین در تحلیل رگرسیون لجستیک، نسبت شانس[iii] حضور این آلل در گروه HDL پایین نسبت به HDL بالا بدون بررسی عوامل مداخله‌گر ۵/۶۴ به دست آمد که البته پس از محاسبه عوامل مداخله‌گر عدد ۲/۵۸ حاصل شد.

یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که اغلب تغییرات ژنتیکی شایع در ژن LCAT در جمعیت تهران (TLGS) همان‌هایی هستند که قبلاً در سایر جوامع ترکی، اروپایی و کانادایی نیز گزارش شده‌اند. البته جمعیت تهران (TLGS) تعدادی تغییرات ژنتیکی نادر مختص خود نیز داشت که در هیچ‌یک از جمعیت‌های مطالعه شده تاکنون گزارش نشده است. تغییرات ژنتیکی شایع مشاهده شده در ژن LCAT جمعیت تهرانی، برخلاف مطالعات انجام شده روی جمعیت ترکی و اروپایی، همراهی معنی‌داری از لحاظ آماری با سطوح سرمی کلسترول ـ HDL نشان نمی‌دهد. این عدم تطابق می‌تواند به دلایل متعددی ازجمله تاثیر ژن‌های مهم دیگر در متابولیسم HDL مانند APOA1، ABCA1 و یا سایر ژن‌هایی که در ارتباط با سطوح سرمی HDL گزارش شده‌اند، در جمعیت تهران (TLGS) باشد.[۲۲] در نهایت، اگر چه چند ریختی تک‌نوکلئوتیدی و جهش‌های یافت شده در این تحقیق همراهی معنی‌داری با غلظت‌های سرمی کلسترول ـ HDL نشان ندادند، اما با انجام این مطالعه، تغییرات ژنتیکی تمامی اگزون‌های ژن LCAT برای اولین بار در جمعیت تهران (TLGS) با روش تعیین توالی معرفی شد و امکان استفاده سایر محققان ایرانی را برای طراحی و اجرای مطالعات ژنتیکی در ارتباط با ژن LCAT و سایر بیماری‌های مرتبط فراهم آورده است.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌توان به عدم وجود بودجه پژوهشی و زمان کافی برای تعیین توالی هم‌زمان ژن ABCA1 که دارای اگزون‌های متعددی است، همراه ژن LCAT نام برد. لذا امکان بررسی تغییرات ژنی احتمالی در این ژن با اثر عملکردی بر سطوح سرمی کلسترول ـ HDL

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

هم‌زمان با بررسی اگزون‌های LCAT و APOA1 در جمعیت TLGS وجود نداشت.

سپاسگزاری: این مقاله بخشی از نتایج طرح تحقیقاتی با کد ۲۷۸ م می‌باشد که در پژوهشکده‌ی علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انجام شده است و در اینجا از زحمات تمامی محققین و کارشناسانی این که در انجام این مطالعه ما را یاری کرده‌اند، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

i- Causative
ii- Missense
iii- Odds ratio

References

1. Khor CC, Goh DL. Strategies for identifying the genetic basis of dyslipidemia: genome-wide association studies vs. the resequencing of extremes. Curr Opin Lipidol 2010; 21: 123-7.
2. Weissglas-Volkov D, Pajukanta P. Genetic causes of high and low serum HDL-cholesterol. J Lipid Res 2010; 51: 2032-57.
3. Malhotra A, Coon H, Feitosa MF, Li WD, North KE, Price RA, et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies for quantitative lipid traits in African Americans. Hum Mol Genet 2005; 14: 3955-62.
4. Knuiman MW, Divitini ML, Welborn TA, Bartholomew HC. Familial correlations, cohabitation effects, and herit ability for cardiovascular risk factors. Ann Epidemiol 1996; 6: 188-94.
5. Azizi F, Raiszadeh F, Salehi P, Rahmani M, Emami H, Ghanbarian A, et al. Determinants of serum HDL-C le vel in a Tehran urban population: the Tehran Lipid and Glucose Study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2002; 12: 80-9.
6. Sviridov D, Nestel PJ. Genetic factors affecting HDL le vels, structure, metabolism and function. Curr Opin Lipidol 2007; 18: 157-63.
7. Agirbasli D, Cirakoglu B, Eren F, Sumerkan M, Aksoy S, Aral C, et al. Effects of lecithin: cholesterol acyltr ansferase genotypes, enzyme levels, and activity on hig h-density lipoprotein levels. J Clin Lipidol 2011; 5: 152-8.
8. Shoji K, Morita H, Ishigaki Y, Rivard CJ, Takayasu M, Nakayama K, et al. Lecithin-cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency without mutations in the coding se quence: a case report and literature review. Clin Nephrol 2011; 76: 323-8.
9. Saeedi R, Li M, Frohlich J. A review on lecithin: cho lesterol acyltransferase deficiency. Clin Biochem 2015; 48: 472-5.
10. von Eckardstein A. Differential diagnosis of familial high density lipoprotein deficiency syndromes. Atherosc lerosis 2006; 186: 231-9.
11. Kuivenhoven JA, Pritchard H, Hill J, Frohlich J, Ass mann G, Kastelein J. The molecular pathology of lec-ithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency sy-ndromes. J Lipid Res 1997; 38: 191-205.
12. The Human Gene Mutation Database [database on the Internet]. Available from: URL: http://wwwhgmdorg/. cited 2013.
13. Daneshpour MS, Rebai A, Houshmand M, Alfadhli S, Zeinali S, Hedayati M, et al. 8q24.3 and 11q25 chro mosomal loci association with low HDL-C in metabolic syndrome. Eur J Clin Invest 2011; 41: 1105-12.
14. Azizi F, Rahmani M, Ghanbarian A, Emami H, Salehi P, Mirmiran P, Sarbazi N. Serum lipid levels in an Iranian adults population: Tehran Lipid and Glucose Study. Eur J Epidemiol 2003; 18: 311-9.
15. Azizi F, Raiszadeh F, Salehi P, Rahmani M, Emami H, Ghanbarian A, Hajipour R. Determinants of serum HDL-C level in a Tehran urban population: the Tehran Lipid and Glucose Study. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2002; 12: 80-9.
16. Naseri M, Hedayati M, Daneshpour MS, Bandarian F, Azizi F. Identification of genetic variants of lecithin cho lesterol acyltransferase in individuals with high HDLC levels. Mol Med Rep 2014; 10: 496-502.
17. Azizi F, Rahmani M, Majid M, Emami H, Mirmiran P, Hajipour R. Introduction of aims, methodology and stru cture of Tehran lipid and Glucose study. Iranian Journal of Eendocrinology and Metabolism 2000; 2: 77-86. [Farsi]
18. Willer CJ, Mohlke KL. Finding genes and variants for lipid levels after genome-wide association analysis. Curr Opin Lipidol 2012; 23: 98-103.
19. Cohen JC, Kiss RS, Pertsemlidis A, Marcel YL, McPh erson R, Hobbs HH. Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of HDL cholesterol. Science 2004; 305: 869-72.
20. Haase CL, Tybjaerg-Hansen A, Qayyum AA, Schou J, Nordestgaard BG, Frikke-Schmidt R. LCAT, HDL chol esterol and ischemic cardiovascular disease: a Men delian randomization study of HDL cholesterol in 54,500 individuals. J Clin Endocrinol Metab 2012; 97: 248-56.
21. Boes E, Coassin S, Kollerits B, Heid IM, Kronenberg F. Genetic-epidemiological evidence on genes associated with HDL cholesterol levels: a systematic in-depth review. Exp Gerontol 2009; 44: 136-60.
22. Bandarian F, Hedayati M, Daneshpour MS, Naseri M, Azizi F. Genetic polymorphisms in the APOA1 gene and their relationship with serum HDL cholesterol lev els. Lipids 2013; 48: 1207-16.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]

Original Article

A Comparison of Lecithin Cholesterol Acyltransferase Gene Variation among Individuals with High and Low HDL Levels in Tehran Lipid and Glucose Study (TLGS)

Naseri M[1], Hedayati M[2], Daneshpour M[2], Bandarian F[3], Azizi F[4]

[1]Genomic Research Center, Birjand University of Medical Sciences, [2]Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, [3]Diabetes Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, [4]Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: azizi@endocrine.ac.ir

Received: 21/01/2015 **Accepted**: 15/07/2015

Abstract

Introduction: Disturbances in blood lipids levels are considered an important risk factor for cardiovascular diseases. Low serum level of HDL-C is one of these disturbances. Therefore, identifying the genes effective on HDL levels is very important. The present study investigated the relationship between LCAT gene sequence alterations and serum levels of HDL-C. Materials and Methods: Using the data of phase 4 of the TLGS study, individuals with low serum HDL-C and individuals with high serum HDL-C were identified and individual aged ≥15 from both groups, who had at least one first degree relative with the desired phenotype were finally enrolled in the study. For each Individual confounding factors, including BMI, age, sex, blood sugar and blood pressure, were determined. LCAT gene variants were determined through direct sequencing, and their relationship with HDL-C level was investigated in the Tehran lipid and glucose study (TLGS). Results: In total, 15 variants were identified. Two variants of rs5923 and Q177E, with allelic frequencies of 5.87% and 4.7%, respectively, were identified in both groups, although, they were significantly higher in the low HDL subjects. Eleven variants were reported for the first time, while 4 variants had already been reported in the SNP database. Conclusions: Exon regions of the LCAT gene in Tehran's population have various gene variants. Although the prevalence of a number of single nucleotide variants of this gene was higher in individuals with low serum HDL-C, after adjustment for confounding factors, the difference was not statistically significant.

Keywords: Polymorphism, Single Nucleotide - Lipoprotein – LCAT- Sequence Analysis, DNA

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-19]