

افزایش میزان کلسترول تام و غلظت آپولیپوپروتئین B در حضور الل X^+ در ژن Apo B در جمعیت تهرانی

دکتر مریم‌السادات دانشپور^۱، بیتا فام^۱، دکتر مهدی هدایتی^۱، دکتر فریدون عزیزی^۲

۱) مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، ۲) مرکز تحقیقات غدد، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، نشانی مکاتبه‌ی نویسندگی
مسئول: تهران، صندوق پستی ۴۷۶۳-۱۹۳۹۵، دکتر فریدون عزیزی؛ e-mail: azizi@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: بروز تغییر در میزان چربی‌های خون یکی از عوامل موثر در بیماری‌های قلبی - عروقی می‌باشد. آپولیپوپروتئین‌ها (APO) در تنظیم سازوکار چربی‌ها نقش کلیدی دارند. در پژوهش حاضر پلی‌مورفیسم Xbal در ژن کدکننده‌ی آپولیپوپروتئین B با هدف بررسی ارتباط آن با تغییرات لیپیدها بررسی شده است. مواد و روش‌ها: در مطالعه‌ی مقطعی حاضر ۸۴۹ نفر از جمعیت TLGS به طور تصادفی انتخاب شدند. میزان فشارخون آنها اندازه‌گیری و نمایه‌ی توده‌ی بدن محاسبه شد. میزان تری‌گلیسرید، کلسترول، قند خون ناشتا، کلسترول-HDL و زیرمجموعه‌های آن، APOB و APOA1 اندازه‌گیری و میزان کلسترول-LDL محاسبه گردید. قطعه‌ی مورد نظر از ژن Apo B به روش PCR تکثیر شد و پلی‌مرفیسم انتخابی با استفاده از آنزیم کوتاه‌اثر Xbal به روش RFLP تعیین گردید. یافته‌ها: فراوانی الل‌ها در جمعیت مورد بررسی برای X^+ و X^- به ترتیب ۲۷/۶٪ و ۷۲/۴٪ بود و هم‌چنین از قانون هاردی-واینبرگ تبعیت می‌کرد. تحلیل یافته‌های پژوهش نشان داد که حضور الل X^+ به طور معنی‌داری با افزایش میزان کلسترول ($193 \pm 1/2$ و X^+X^+) $\pm 1/2$ از ۱۸۲ : XX^- (P=۰/۰۲۲) و غلظت ApoB ($116 \pm 1/5$: X^+X^+ و $104 \pm 1/4$: XX^- ؛ P=۰/۰۲۴) ارتباط داشت. این ارتباط پس از مدل سازی و تعدیل عوامل مداخله‌گر هم‌چنان معنی‌دار بود. نتیجه‌گیری: فراوانی اللی با آنچه که در سایر پژوهش گزارش شده هم‌خوانی داشت. با توجه به ارتباط پلی‌مرفیسم Xbal با فاکتورهای لیپیدی، اهمیت هر چه بیشتر لزوم بررسی ارتباط تغییرات ژنتیکی ژن آپولیپوپروتئین B و سایر ژن‌های مرتبط با سوخت و ساز لیپیدها مشخص می‌شود.

واژگان کلیدی: پلی‌مرفیسم Xbal، ApoB، کلسترول، TLGS

دریافت مقاله: ۸۹/۱/۲۲ - دریافت اصلاحیه: ۸۹/۶/۲۸ - پذیرش مقاله: ۸۹/۸/۲۴

مقدمه

بیماری‌های قلبی - عروقی یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان می‌باشند.^{۱،۲} از جمله عوامل خطرساز این

بیماری‌ها چاقی، مصرف سیگار، افزایش فشار خون، کاهش میزان کلسترول-HDL و افزایش میزان کلسترول-LDL می‌باشد.^۳ به تازگی نقش تغییرات ژنتیکی نیز در بروز این بیماری‌ها مشخص شده است.^۴ یافته‌های پژوهش‌های

شده‌اند. افراد انتخاب شده برای شرکت در این مطالعه به پرسشنامه‌ای شامل اطلاعات تن‌سنجی، عوامل بیوشیمیایی و مصرف سیگار پاسخ داده‌اند. قد و فشار خون هر یک از افراد اندازه‌گیری و نمایه‌ی توده‌ی بدن (BMI)ⁱⁱ محاسبه شد. نمونه‌ی خون افراد پس از ۱۲ ساعت ناشتایی درون لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد خون (EDTA) و سرم آن‌ها درون لوله‌های فاقد هر نوع ماده ضد انعقادی جمع‌آوری شد. پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور، سرم‌ها در دمای ۷۵- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان گلوکز سرم، کلسترول تام، کلسترول-HDL و تری‌گلیسرید هر یک از نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.^{۱۶} غلظت آپولیپوپروتئین‌های A1 و B به روش کدورت سنجی تعیین گردید. میزان کلسترول-HDL در سرم خون پس از رسوب محتویات آپولیپوپروتئین B به روش دکستران سولفات منیزیم اندازه‌گیری شد. زیرواحدهای کلسترول-HDL به روش رسوب پلی‌آنیونی تفکیک شدند. میزان کلسترول-LDL در افراد با میزان تری‌گلیسرید بالای ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر از راه معادله‌ی فریدوالد محاسبه شد.^{۱۷} دامنه‌ی تغییرات (CV) برای گلوکز سرم، کلسترول تام، کلسترول-HDL و تری‌گلیسرید کمتر از ۵٪ در نظر گرفته شد. برای بررسی پلی‌مرفیسم XbaI در ژن Apo B گلبول‌های سفید از نمونه‌های خون جدا شدند و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند و DNA ژنومی نمونه‌ها به روش نمک اشباع پروتئیناز K استخراج شد.^{۱۸،۱۹} برای تکثیر قطعه‌ای با طول ۲۳۰ جفت باز از ژن ApoB روش واکنش زنجیره‌ای پلیمران (PCR) با جفت پرایمرهای رفت: 5'-AAA TAA CCT TAA TCA TCA 3' و برگشت: 5'-GGT TCT TAG CAG 3' و برگشت: 5'-GGT TCT TAG CAG 3' و برگشت: 5'-GGT TCT TAG CAG 3' انجام گرفت. محلول واکنش PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۴۰ پیکومول از هر یک از پرایمرها، ۱/۵ میلی‌مول در لیتر MgCl2، ۰/۲ میلی‌مول در لیتر dNTP و ۰/۲۵ واحد از آنزیم Taq پلیمران تهیه شد. تکثیر قطعه‌ی مورد نظر در دستگاه ترموسایکلر (شرکت Corbet، کشور استرالیا) براساس برنامه‌ی زیر انجام گرفت. مرحله‌ی واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله‌ی تکثیر (۳۵ سیکل) در ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و ۷۲ درجه‌ی

گوناگون نشان داده که آپولیپوپروتئین B (Apo B) بخش اصلی از ساختار کلسترول-LDL و کلسترول-VLDL می‌باشد^۵ و میانکشی Apo B با گیرنده‌ی کلسترول-LDL در جذب آن از سلول‌های محیطی و کبد نقش مهمی بازی می‌کند.^۶ تعیین توالی ژن Apo B نشان داده که پلی‌مرفیسم‌های بسیاری روی این ژن وجود دارد که برخی از آن‌ها با سوخت و ساز لیپیدها و درنهایت بیماری‌های قلبی - عروقی ارتباط دارد.^۷ به دلیل نقش اساسی آپولیپوپروتئین‌ها در سوخت و ساز لیپیدها، بروز تغییرات کوچک در ساختار و عملکرد آن‌ها می‌تواند موجب مشکلات اساسی در سوخت و ساز چربی‌ها شود.^۸ ژن کدکننده‌ی Apo B روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲ در موقعیت ۲P۲۴ واقع شده که به طور تقریبی ۴۳ هزار جفت باز طول دارد و از ۲۹ اگزون تشکیل شده است.^۹ این ژن، پروتئینی با ۴۵۳۶ اسیدآمین را کد می‌کند.^{۱۰} یافته‌های برخی پژوهش‌ها نشان داده که پلی‌مرفیسم XbaI در کدون ۲۴۸۸ اگزون ۲۶ با میزان تری‌گلیسرید، کلسترول-LDL و غلظت آپولیپوپروتئین B ارتباط دارد.^{۱۱،۱۲} این پلی‌مرفیسم نتیجه‌ی جابجایی باز آلی سیتوزین (C) در موقعیت ۷۶۷۳ با تیمین (T) است که منجر به ایجاد یک جایگاه برش برای آنزیم کوتاه اثر XbaI می‌شود ولی توالی اسید آمینه‌ای را در ساختار پروتئین Apo B تغییر نمی‌دهد.^{۱۳} مطالعه حاضر، با هدف بررسی اثر پلی‌مرفیسم XbaI روی تغییرات میزان چربی‌ها در پلاسمای خون افراد مورد مطالعه در جمعیت قند و لیپید تهران (TLGS)ⁱ طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه‌ی مقطعی حاضر ۸۴۹ نفر (۳۵۰ نفر مرد و ۴۹۶ نفر زن) از افراد بالای ۱۸ سال جمعیت مورد مطالعه‌ی قند و لیپید تهران به صورت تصادفی انتخاب شدند. مطالعه قند و لیپید تهران پژوهشی است که به منظور تعیین عوامل خطر ساز بیماری‌های غیرواگیر در جمعیت شهری تهران و همچنین اتخاذ اقدام‌های مبتنی بر جمعیت، برای تغییر شیوه‌ی زندگی و ممانعت از سیر پیشرونده‌ی دیابت قندی و دیس‌لیپیدمی در حال انجام است.^{۱۴،۱۵} مطالعه قند و لیپید تهران دربرگیرنده‌ی ۱۵۰۰۵ نفر در سنین مختلف است که به روش خوشه‌ای تصادفی از منطقه ۱۳ شهر تهران انتخاب

جدول ۱- ویژگی‌های تن‌سنجی، بیوشیمیایی و ژنوتیپ‌های افراد مورد بررسی

متغیرها	میانگین ± انحراف معیار
تعداد (نفر)	۸۴۶
سن (سال)	۴۳/۲ ± ۱۶/۳
نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۷/۲ ± ۴/۸
مصرف سیگار (%)	۹/۴
کلسترول تام (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۸۹ ± ۴۰/۷
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۴۷ ± ۸۶/۱
کلسترول-HDL (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۴۶/۲ ± ۱۱/۴
HDL2 (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۶/۶ ± ۸/۰
HDL3 (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۳۰/۱ ± ۶/۹
کلسترول-LDL (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۱۳ ± ۳۶/۵
فشار خون دیاستولی (میلی‌متر جیوه)	۷۳/۷ ± ۱۰/۱
فشار خون سیستولی (میلی‌متر جیوه)	۱۱۵ ± ۱۸/۵
آپولیپوپروتئین A1 (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۴۴ ± ۲۳/۸
آپولیپوپروتئین B (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۱۱ ± ۳۵/۶
ژنوتیپ‌های ApoB (%)	
X ⁺ X ⁺	۸/۵
X ⁺ X ⁻	۳۹/۲
X ⁻ X ⁻	۵۲/۳

فراوانی محاسبه شده برای الل X⁺ ۰/۲۷۶۰ و الل X⁻ ۰/۷۲۴۰ بود. ژنوتیپ X⁻X⁻ بیشترین فراوانی (۰/۵۲۳۰) و ژنوتیپ X⁺/X⁺ کمترین فراوانی (۰/۰۸۵۰) را داشتند. فراوانی اللی در این جمعیت از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت کرد. ارتباط انواع ژنوتیپ‌های پلی‌مرفیسم XbaI با متغیرهای مورد بررسی نشان می‌دهد که حضور الل X⁺ با افزایش میزان کلسترول تام (۱۹۳ ± ۱۱/۲) و X⁺X⁺ و ۱۸۲ ± ۱/۲ X⁻X⁻ (P=۰/۰۲۲) و غلظت آپولیپوپروتئین B (۱۱۶ ± ۱/۵) و X⁺X⁺ (P=۰/۰۲۴) ارتباط معنی‌داری داشت (جدول ۲). میزان تری‌گلیسرید (۱۴۶ ± ۱/۶) و X⁺X⁺ و ۱۲۹ ± ۱/۶ X⁻X⁻ (P: ۰/۰۹۹) و کلسترول-LDL (۱۱۳ ± ۴۷/۱) و X⁺X⁺ و X⁺X⁻ (P: ۰/۱۱۶) با حضور الل X⁺ نوعی ارتباط افزایشی نشان داد که این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبود. در آنالیز رگرسیون خطی برای تعدیل اثر مداخله‌گرها (جنس، سن، نمایه‌ی توده‌ی بدن، مصرف سیگار، فشارخون، میزان قند خون) ۸ مدل طراحی شد و به ترتیب اثر هر یک از عوامل روی ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی‌مرفیسم XbaI

سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه انجام شد سپس مرحله‌ی طویل سازی نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. برای تشخیص پلی‌مرفیسم مورد نظر محصولات PCR به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد مورد تاثیر آنزیم کوتاه اثر XbaI انکوبه شدند. قطعات به دست آمده از برش این آنزیم به روش الکتروفورز در ژل آگارز ۲٪ قابل تفکیک بودند. پس از الکتروفورز، ژل آگارز به مدت ۱۰ دقیقه در ۱ میکروگرم در دسی‌لیتر از محلول اتیدیوم برماید قرار گرفت و قطعات DNA با دستگاه ژل خوان (شرکت Optico، کشور هلند) بررسی شدند. ژنوتیپ X⁺X⁺ با قطعات ۱۶۰ و ۷۰ bp قابل تشخیص بود. قطعات ۱۶۰، ۲۳۰ و ۷۰ bp معرف ژنوتیپ X⁺X⁻ و قطعه ۲۳۰ bp نشان دهنده ژنوتیپ X⁻X⁻ است.

محاسبه‌ی آماری به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۵ انجام گرفت. در این پژوهش سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نرمال بودن متغیرها با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف ارزیابی شد. بررسی تبعیت از تعادل هاردی-واینبرگ و فراوانی اللی جمعیت مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار پاور مارکر انجام گرفت. توصیف آماری برای متغیرهایی که توزیع نرمال داشتند به صورت میانگین ± انحراف معیار و برای آن دسته که لگاریتم آنها در مبنای عدد نپر نرمال بود به صورت نسبت میانگین هندسی ± انحراف معیار و برای متغیرهای غیر نرمال به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای کمی با توزیع نرمال از آزمون تی و آنالیز واریانس یک طرفه آنووا و در صورت لزوم، آزمون پست هاک به روش توکی و در مورد متغیرها با توزیع غیرنرمال آزمون‌های کراس کال-والیس و من-ویتنی استفاده شد. بررسی احتمال مخدوش‌کنندگی متغیرهای زمینه‌ای مختلف با استفاده از مدل آماری رگرسیون خطی انجام گرفت.

یافته‌ها

ویژگی‌های تن‌سنجی و بیوشیمیایی ۸۴۹ نفر از جمعیت مورد مطالعه‌ی بالای ۱۸ سال با متوسط سنی ۴۳/۲ ± ۱۶/۳ سال و هم‌چنین فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مرفیسم XbaI از ژن آپولیپوپروتئین B بررسی گردیده است (جدول ۱).

میزان کلاسترول تام و غلظت آپولیپوپروتئین B بررسی شد. مقدار P نشان داد که پس از تعدیل با مداخله‌گرهای انتخابی ارتباط هم‌چنان معنی‌دار بود (نمودار ۱).

جدول ۲- ارتباط بین ژنوتیپ‌های پلی‌مرفیسم $XbaI$ با متغیرهای مورد بررسی

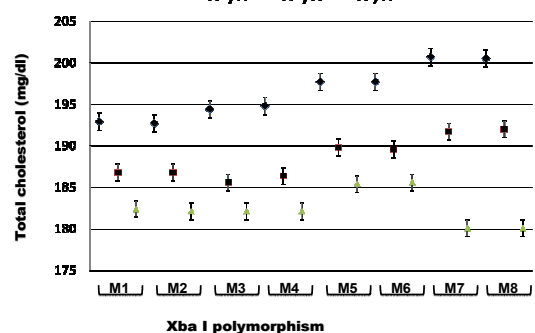
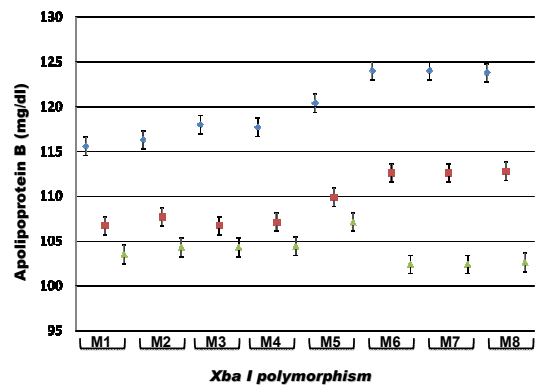
متغیرها	X^+X^+ (تعداد=۷۲)	X^+X^- (تعداد=۳۳۳)	X^-X^- (تعداد=۴۴۴)	P*
سن(سال)	۴۱/۱±۱۶/۸ [†]	۴۳/۸±۱۶/۲	۴۳/۱±۱۶/۸	۰/۵۱۵
نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۶/۹±۴/۶۸	۲۷/۲±۴/۵۶	۲۷/۳±۵/۱۰	۰/۷۹۸
فشار خون دیاستولی (میلی‌متر جیوه)	۷۳/۱±۱۰/۸	۷۳/۲±۱۰/۳	۲۷/۸±۹/۷	۰/۷۰۵
فشار خون سیستولی (میلی‌متر جیوه)	۱۱۱±۱/۸	۱۱۵±۱/۲	۱۱۳±۱/۲	۰/۳۳۱
کلاسترول تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۹۳±۱/۲	۱۸۷±۱/۲	۱۸۲±۱/۲	۰/۰۲۲
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۴۶±۱/۶	۱۲۷±۱/۶	۱۲۹±۱/۶	۰/۰۹۹
کلاسترول - HDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۲/۳±۱/۱	۴۵/۴±۱/۱	۴۴/۹±۱/۱	۰/۰۷۱
HDL2 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۳/۶±۱/۲	۱۴/۷±۱/۳	۱۵/۱±۱/۲	۰/۲۷۶
HDL3 (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۲۷/۹±۱/۱	۲۹/۶±۱/۶	۲۹/۲±۱/۱	۰/۱۲۱
کلاسترول - LDL (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۱۳±۴۷/۱	۱۱۰±۳۷/۱	۱۰۴±۳۳/۹	۰/۱۱۶
آپولیپوپروتئین A1 (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۱۴۰±۱/۳	۱۴۰±۱/۲	۱۴۰±۱/۳	۰/۹۳۶
آپولیپوپروتئین B (میلی‌گرم در میلی‌لیتر)	۱۱۶±۱/۵	۱۰۷±۱/۴	۱۰۴±۱/۴	۰/۰۲۴

* مقدار $P < 0.05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شده است. † اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار هستند.

توده‌ی بدن، مصرف سیگار، فشار خون، میزان قند خون M1: بدون حذف اثر و داخله‌گرها، M2: جنس، M3: جنس + سن، M4: جنس + سن + BMI، M5: جنس + سن + BMI + مصرف سیگار، M6: جنس + سن + BMI + مصرف سیگار + فشار خون دیاستولی، M7: جنس + سن + BMI + مصرف سیگار + فشار خون دیاستولی + فشار خون سیستولی، M8: جنس + سن + BMI + مصرف سیگار + فشار خون دیاستولیک + فشار خون سیستولیک + قند خون

بحث

یافته‌های به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ‌های پلی‌مرفیسم $XbaI$ در ژن آپولیپوپروتئین B با میزان کلاسترول تام و غلظت ApoB در افراد انتخابی از جمعیت مورد مطالعه قند و لیپید تهران ارتباط دارد. با توجه به سازوکار بیوشیمیایی حضور آپولیپوپروتئین B همراه با لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین که به حالیت کلاسترول در کلاسترول-LDL کمک می‌کند، می‌توان به احتمال نقش موثر تغییرات ساختار آن در میزان ذخیره‌ی کلاسترول خون پی برد. پژوهش‌های مختلفی برای بررسی ارتباط حضور یا عدم حضور ژنوتیپ $C > T$ ۷۶۷۳ در ژن آپولیپوپروتئین B و



▲ افراد با ژنوتیپ X^-X^- ، ■ افراد با ژنوتیپ X^+X^- و ♦ افراد با ژنوتیپ X^+X^+ . میانگین هندسی و انحراف معیار استاندارد برای فنوتیپ‌های آپولیپوپروتئین B به کمک آنالیز کو واریانس به دست آمد. بررسی اثر عوامل مداخله‌گر: جنس، سن، نمایه‌ی

می‌کند. از آنجایی که تغییر رخ داده در این جایگاه ژنی منجر به تغییر توالی اسید آمینه‌ای پروتئین مربوطه نمی‌شود، به نظر می‌رسد که به احتمال زیاد این پلی‌مورفیسم با تغییرات ژنی دیگر در نواحی نزدیک به آن اثر متقابل دارد که با بررسی بیشتر آن شاید به توان دلیل محکم‌تری برای توجیه این ارتباط پیدا کرد.^{۲۲} بیشتر بررسی‌ها، بروز تغییرات ژنتیکی در ژن ApoB را یکی از عوامل خطر ساز برای بیماری‌های قلبی - عروقی می‌دانند.^۸ از آنجایی که عوامل ژنتیکی و محیطی بسیاری در بروز این بیماری نقش دارند پلی‌مورفیسم XbaI به تنهایی نمی‌تواند منجر به بروز بیماری شود.^{۲۳} ولی ممکن است که در آینده یکی از راه‌های تشخیص برای این بیماری باشد.

بررسی ارتباط آن با تغییر در لیپیدهای خون انجام شده است. در سال ۲۰۰۳ پژوهشی روی جمعیت آسیایی نشان داد که ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم XbaI با میزان کلسترول تام و کلسترول-LDL ارتباط دارند.^{۲۰} مطالعه‌ای مورد-شاهدی در شمال کشور هند نشان داد که حضور ال X^+ در افراد مبتلا به بیماری‌های قلبی - عروقی با افزایش میزان کلسترول تام و غلظت ApoB ارتباط دارد.^۴ در مقابل یافته‌های پژوهشی در سال ۱۹۹۷ نشان داد که حضور ال‌های X^+ و X^- در جمعیتی از کشور ژاپن با میزان کلسترول تام و کلسترول-HDL ارتباط ندارند.^{۲۱} یافته‌های پژوهش حاضر به همراه بررسی‌های پیشین بر نقش این پلی‌مورفیسم در بروز تغییرات در میزان کلسترول، و غلظت آپولیپوپروتئین B تاکید

References

- Murray CJ, Lopez AD. Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997; 349: 1436-42.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868-74.
- Bhopal R. What is the risk of coronary heart disease in South Asians? A review of UK research. *J Public Health Med* 2000; 22: 375-85.
- Vivek Pratap Singh V R, Sonal Somvanshi, Satyendra Tewari, Faisal Khan, Nakul Sinha, Suraksha Agrawal. Association of DNA Polymorphism at the Apolipoprotein B-100 Gene Locus with Plasma Lipid Concentration and Coronary Artery Disease among North Indians. *Am J Biochem and Biotech* 2006; 2: 138-45.
- Skalen K, Gustafsson M, Rydberg EK, Hulten LM, Wiklund O, Innerarity TL, et al. Subendothelial retention of atherogenic lipoproteins in early atherosclerosis. *Nature* 2002; 417: 750-4.
- Knott TJ, Pease RJ, Powell LM, Wallis SC, Rall SC Jr, Innerarity TL, et al. Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. *Nature* 1986; 323: 734-8.
- Huang LS, Breslow JL. A unique AT-rich hypervariable minisatellite 3' to the ApoB gene defines a high information restriction fragment length polymorphism. *J Biol Chem* 1987; 262: 8952-5.
- Innerarity TL, Mahley RW, Weisgraber KH, Bersot TP, Krauss RM, Vega GL, et al. Familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J Lipid Res* 1990; 31: 1337-49.
- Ludwig EH, Friedl W, McCarthy BJ. High-resolution analysis of a hypervariable region in the human apolipoprotein B gene. *Am J Hum Genet* 1989; 45: 458-64.
- Law A, Wallis SC, Powell LM, Pease RJ, Brunt H, Priestley LM, et al. Common DNA polymorphism within coding sequence of apolipoprotein B gene associated with altered lipid levels. *Lancet* 1986; 1: 1301-3.
- Bentzen J, Poulsen P, Vaag A, Beck-Nielsen H, Fenger M. The influence of the polymorphism in apolipoprotein B codon 2488 on insulin and lipid levels in a Danish twin population. *Diabet Med* 2002; 19: 12-8.
- Friedlander Y, Leitersdorf E. Influence of apolipoprotein E genotypes on plasma lipid and lipoprotein concentrations: results from a segregation analysis in pedigrees with molecularly defined familial hypercholesterolemia. *Genet Epidemiol* 1996; 13: 159-77.
- Aalto-Setälä K, Tikkanen MJ, Taskinen MR, Nieminen M, Holmberg P, Kontula K. XbaI and c/g polymorphisms of the apolipoprotein B gene locus are associated with serum cholesterol and LDL-cholesterol levels in Finland. *Atherosclerosis* 1988; 74: 47-54.
- Azizi F, Mirmiran P, Azadbakht L. Predictors of cardiovascular risk factors in Tehranian adolescents: Tehran Lipid and Glucose Study. *Int J Vitam Nutr Res* 2004; 74: 307-12.
- Azizi F, Rahmani M, Emami H, Mirmiran P, Hajipour R, Madjid M, et al. Cardiovascular risk factors in an Iranian urban population: Tehran lipid and glucose study (phase I). *Soz Präventivmed* 2002; 47: 408-26.
- Azizi F, Emami H, Salehi P, Ghanbarian A, Mirmiran P, Mirbolooki M, et al. Cardiovascular risk factors in the elderly: the Tehran Lipid and Glucose Study. *J Cardiovasc Risk* 2003; 10: 65-73.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
- Truett GE, Walker JA, Harris RB. A developmental switch affecting growth of fatty rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000; 279: R1956-63.
- Kallel A, Feki M, Elasmı M, Souissi M, Sanhaji H, Omar S, et al. Apolipoprotein B signal peptide polymo-

- rphism: distribution and influence on lipid parameters in Tunisian population. *Physiol Res* 2007; 56: 411-7.
20. Boekholdt SM, Peters RJ, Fountoulaki K, Kastelein JJ, and Sijbrands EJ. Molecular variation at the apolipoprotein B gene locus in relation to lipids and cardiovascular disease: a systematic meta-analysis. *Hum Genet* 2003; 113: 417-25.
21. Zaman MM, Ikemoto S, Yoshiike N, Date C, Yokoyama T, Tanaka H. Association of apolipoprotein genetic polymorphisms with plasma cholesterol in a Japanese rural population. The Shibata Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 3495-504.
22. Boerwinkle E, Menzel HJ, Kraft HG, Utermann G. Genetics of the quantitative Lp(a) lipoprotein trait. III. Contribution of Lp(a) glycoprotein phenotypes to normal lipid variation. *Hum Genet* 1989; 82: 73-8.
23. Ruano G, Seip RL, Windemuth A, Zollner S, Tsongalis GJ, Ordovas J, et al. Apolipoprotein A1 genotype affects the change in high density lipoprotein cholesterol subfractions with exercise training. *Atherosclerosis* 2006; 185: 65-9.

Original Article

Presence of the X⁺ Allele in Apolipoprotein B Gene Increase the Total Cholesterol and Apolipoprotein B Concentration in Tehranian People

Daneshpour M¹, Faam B¹, Hedayati M¹, Azizi F²

¹Obesity Research Center, ²Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran
e-mail: azizi@endocrine.ac.ir

Received: 11/04/2010 Accepted: 15/11/2010

Abstract

Introduction: Lipid level variations are among the most important risk factors for cardiovascular disease. Apolipoproteins play a the key role in lipid metabolism. In the present study the association of XbaI apolipoprotein B polymorphisms on lipid variation was examined. **Materials and Methods:** A cross-sectional study was conducted on 849 subjects from the Tehran Lipid and Glucose Study population. Blood pressure was measured and the body mass index was calculated. TG, Chol, FBS, HDL-C and its subfractions, Apo B and Apo A1 levels were measured, and LDL-C concentration was calculated. A segment of the apo B gene was amplified by PCR and the polymorphism was revealed by RFLP using XbaI restriction enzyme. **Results:** Allele frequencies obtained for X⁺ and X⁻ were 27.6 % and 72.4%, respectively and were in the Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE). The presence of the X⁺ allele was significantly associated with increased total cholesterol (X⁺X⁺: 193±1.2 mg/ml vs. X⁻X⁻: 182±1.2 mg/ml, P 0.022) and apolipoprotein B (X⁺X⁺: 116±1.5 mg/ml vs. X⁻X⁻: 104±1.4 mg/ml, P 0.024). The associations were significant even after adjustment for age, sex, BMI, smoking, diastolic and systolic blood pressure and fasting blood sugar. **Conclusion:** The observed allele frequencies were similar to other studies. Considering the association of XbaI polymorphisms with lipids factors, it is important to examine the relationship of Apo B gene variation and similar gene with lipids metabolisms.

Keywords: XbaI polymorphism, Apo B, Cholestrol, TLGS