View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۱۰، شماره ۴/ زمستان ۱۳۸۷/ ۱۱۱-۱۰۵

بررسی سه جهش شایع ژن آپولیپوپروتئین B (ApoB-100) در بیماران مشکوک به کلسترول بالای خانوادگی با استفاده از PCR-RFLP در استان چهارمحال و بختیاری، ۱۳۸۵

فاطمه شایسته*، دکتر کیهان قطره سامانی**، منوچهر شیرانی***، ندا پروین†، جواد صفاری چالشتری††، مریم طاهرزاده فرخشهری††، غلامرضا مبینی†††، مهدی بنی طالبی•، دکتر مهرداد مدرسی•• ، دکتر مرتضی هاشم زاده چالشتری•••[۱]

*کارشناس ارشد فیزیولوژی- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، **PhD بیوشیمی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ***کارشناس ارشد حشره شناسی پزشکی -دانشگاه علوم پزشکی زابل، †کارشناس ارشد پرستاری- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی -دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ††دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی- دانشگاه پیام نور تهران، †††کارشناس ارشد ویروس شناسی -مرکز تحقیقات سلولی مولکولی -دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، •کارشناس ارشد همانولوژی -مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی -دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، ••استادیار گروه علوم دامی –فیزیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، •••استاد گروه ژنتیک – مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی -دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۸۷/۷/۱۵ تاریخ تایید: ۸۷/۱۱/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: کلسترول بالای خانوادگی (FH) یک اختلال اتوزوم غالب است که عمدتاً به علت جهش های ژن LDLR و ApoB-100 ایجاد می شود. تاکنون اساس مولکولی FH بطور مفصل در بسیاری از جمعیت ها تشریح شده است ولی هنوز اطلاعات مولکولی اندکی در ارتباط با FH در ایران موجود است. هدف از این مطالعه بررسی فراوانی ۳ جهش شایع ژنی آپولیپوپروتئین B-100 (ApoB-100) در یک جمعیت ایرانی است.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی- آزمایشگاهی مجموعاً تعداد ۳۰ نمونه غیر خویشاوند مشکوک به FH از استان چهارمحال و بختیاری در سال ۱۳۸۵مورد مطالعه قرار گرفت. تمامی نمونه ها با استفاده از روش چند شکلی طول قطعه محدود (PCR-RFLP) برای سه جهش شایع ژن ApoB-100 شامل R3500Q، R3500W و R3531C مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته ها: هیچکدام از سه جهش شایع ApoB-100 در نمونه های مورد مطالعه با استفاده از روش PCR-RFLP تشخیص داده نشد.

نتیجه گیری: نتایج ما نشان داد که سه جهش شایع ژنی ApoB-100 شامل R3500Q، R3500W و R3531C دخالتی در ایجاد FH در نمونه های مورد مطالعه نداشتند. پیشنهاد می گردد جهت تعیین نقش جهش های این ژن در ایجاد FH در استان چهارمحال و بختیاری تعداد بیشتری نمونه FH و گروه جمعیتی مورد بررسی قرار گیرد.

واژه های کلیدی: کلسترول بالای خانوادگی، ژن آپولیپوپروتئین B، واکنش زنجیره ای پلیمراز-چند شکلی طول قطعه محدود.

مقدمه:

کلسترول خون بالای خانوادگی یک بیماری اتوزوم غالب است که در اثر جهش در یکی از سه ژن گیرنده لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDLR)، ApoB–100 و Proprotein Convertase Subtilisin/kexin type 9 (PCSK9) رخ می دهد. غلظت پلاسمایی لیپوپروتئین با دانسیته پایین (Low density lipoprotein=LDL) در این بیماران در هنگام تولد زیاد است و در سراسر زندگی بالا باقی می ماند. در افراد بزرگسال درمان نشده LDL مشخصاً بالای ۲۲۰ mg/dl (در محدوده ۲۷۵–۵۰۰ mg/dl) است. غلظت تری گلیسرید پلاسما

[۱]نویسنده مسئول: شهرکرد- رحمتیه - دانشکده پزشکی- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- تلفن: ۳۳٤٦٦۹۲ -۰۳۸۱، E-mail:mchalesh@yahoo.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

مشخصاً طبیعی است و غلظت لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) طبیعی یا کاهش یافته است (۱). FH (Familial hyperchdesterolemia) هتروزیگوت در ۱ از هر ۵۰۰ نفر وجود داشته و با بیماری آترواسکلروتیک زود رس شدید در دوره جوانی یا میانسالی همراه است (۲) و خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر را نسبت به بستگان غیر مبتلا حدود ۲۵ برابر افزایش می دهد. حدود ۵۰ درصد مردان هتروزیگوت تا سن ۵۰ سالگی دچار انفارکتوس میوکارد می شوند که این میزان در زنان حدود ۱۰ تا ۲۰ درصد است (۳).

FH هموزیگوت در دوران کودکی با سطح LDL بیش از ۵۰۰ mg/dl (در محدوده ۶۵۰ تا ۱۰۰۰) بروز می کند (۴). این بیماری علاوه بر رسوب چربی ها در عروق که موجب بیماری عروق کرونر (Coronary health disease=CHD) زودرس علامت دار می شود، اغلب قبل از سن ۳۰ سالگی سبب مرگ بیماران به دلیل ابتلا به بیماری قلبی عروقی می گردد. علایم بیماری همچنین ممکن است در اثر انسداد آئورت ناشی از رسوبات بزرگ کلسترول در نواحی دریچه ای و فوق دریچه ای ایجاد شود و همچنین با گزانتلاسما های بزرگ وگزانتومای برجسته تاندونی و گزانتوماهای مسطح همراه باشد. این افراد دچار CHD شدیدی در دوران کودکی هستند (۵).

آپولیپوپروتئین B (ApolopoproteinB=ApoB) یک گلیکوپروتئین بزرگ است که یک نقش مرکزی در متابولیسم لیپوپروتئین در انسان دارد. دو فرم ApoB بوسیله یک فرآیند ویرایش نسخه برداری از ژن ApoB ایجاد می شوند: ApoB-48 که برای تولید شیلومیکرون ها در روده کوچک مورد نیاز است و ApoB–100 که برای تولید لیپوپروتئین با دانسیته بسیار کم (VLDL) در کبد مورد نیاز است به علاوه ApoB –100 یک لیگاند برای LDLR است که اندوسیتوز اجزاء LDL را میانجیگری می کند (۶).

از جمله عللی که منجر به FH می شود جهش های ژن ApoB می باشد. این ژن با اندازه تقریبی ۴۳ kb متشکل از ۲۹ اگزون و ۲۸ اینترون بوده و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲ (2P24.1) قرار دارد (۴). جهش های بد معنی (Missense) در ناحیه پیوندی LDLR و ApoB به وسیله FH و بیماری عروق کرونر نابهنگام مشخص شده اند (۷).

تعداد جهش های گزارش شده در ژن ApoB زیاد نیست و تاکنون حدود ۵۰ جهش از این ژن گزارش شده است که بیشترین جهش ها در ناحیه اگزون ۲۶ واقع شده است مطالعات مختلف نشان داده است که سه جهش شایع ApoB –100 شامل R3500Q، R3500W و R3531C باعث کاهش باندینگ LDL در لوله آزمایش (in vitro) می گردند (۹،۸) و در سلول نیز موجب تاخوردگی ناجور در پروتئین مربوطه شده و کاهش باندینگ گیرنده LDL را سبب می شوند (۱۰). البته وابستگی R3531C به FH نسبت به R3500Q و R3500W که در نقطه ای دورتر از اسید آمینه کلیدی یعنی اسید آمینه ۳۵۰۰ قرار دارد به میزان ۷۰ درصد کاهش می یابد (۱۱). تاکنون مطالعات فراوانی بر روی این ژن انجام شده و بیشترین موارد جهش (۵-۳٪) در بیماران FH، در اروپا گزارش گردیده است (۱۲). بیشترین فراوانی جهش R3500Q در لهستان و سوئیس گزارش شده و در چکسلواکی و دیگر کشورهای اروپایی فراوانی کمتری دارد وتقریباً در جمعیت های آفریقای جنوبی و آسیا به صفر می رسد (۱۳). در مطالعه ای که در لبنان که بر روی ۵۹ بیمار مشکوک به FH انجام گردید جهشی در ژن ApoB مشاهده نشده است (۱۴).

در ایران نیز در مورد ژن ApoB در تنها مطالعه ای که انجام گرفته از بین ۳۰ نمونه مورد بررسی جهت جهش R3500Q در ژن ApoB مورد مثبتی مشاهده نگردیده است (۱۵).

لذا این مطالعه با هدف بررسی فراوانی سه جهش شایع ژن ApoB–100 یعنی R3500Q، R3500W و R3531C در جامعه مورد مطالعه انجام شد که نتایج آن در بهبود پیش آگهی و اطلاع زود هنگام در جهت کاهش مرگ و میر ناشی از ضایعات قلبی-

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

عروقی و افزایش شاخص امید به زندگی موثر خواهد بود.

روش بررسی:

مطالعه حاضر یک پژوهش توصیفی- آزمایشگاهی است که در سال ۱۳۸۵ بر روی تعداد ۳۰ نفر از بیماران قلبی عروقی مراجعه کننده به بیمارستان هاجر(س) شهرکرد که مشکوک به FH بودند انجام شد. بیماران شامل ۲۱ مرد و ۹ زن با دامنه سنی ۲۹ تا ۷۵ سال بودند. ابتدا از کلیه بیماران با کسب رضایت، پرسشنامه تکمیل و میزان ۵ میلی لیتر خون ناشتا جهت آزمایشات بیوشیمیایی شامل کلسترول تام، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C، گلوکز و ۵ میلی لیتر خون در لوله آزمایش محتوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) ۰/۵ مولار جهت آزمایشات مولکولی گرفته شد نمونه گیری بطور آسان انجام شد و بیمارانی که دارای LDL بیش از ۱۹۰ mg/dl و کلسترول تام بیش از ۲۴۰mg/dl بودند وارد مطالعه شدند (۱۶) و بیماران هایپرتیروئیدیسم، دیابتی، کبدی و کلیوی از مطالعه حذف شدند (۱۷).

آزمایشات مولکولی: کلیه آزمایشات مولکولی در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام شد. ابتدا DNA کلیه نمونه های خون بیماران با روش استاندارد فنل کلروفرم استخراج شده و میزان آن با استفاده از اسپکتروفوتومتر (Unico2100USA) اندازه گیری شد. جهت طراحی پرایمرها از توالی ژن ApoB-100 با رمز دسترسی (NM-000384.2) و نرم افزار primer3 استفاده شد. سپس وجود جهش های R3500Q، R3500W و R3531C (بر روی ژن ApoB-100) توسط دو جفت پرایمر و با استفاده از تکنیک PCR-RFLP مطالعه شد. با استفاده از روش Site Directed Mutagenesis روی سه پرایمر F1، F2 و R2 با ایجاد تغییرات بازی به ترتیب سه محل برش آنزیم های محدود کننده ScaI، NsiI و NlaIII (Fermentas Canada) را ایجاد و سه پرایمر دارای محل شناسایی (M1، M2 و M3) ساخته شد تا در اثر آنزیم مربوطه بریده شده و به عنوان کنترل مثبت مورد استفاده قرار گیرند (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: شرایط PCR-RFLP مورد استفاده جهت تشخیص سه جهش شایع R3500Q، R3500W و R3531C

جهش	آنزیم محدود کننده	پرایمرها	طول PCR(bp)
R3500Q	ScaI	Normal Forward(F1): 5' CTT ACT TTT CCA TTG AGT CAT CTA CC 3' Normal Reverse(R1): 5' AGT GCC CTG CAG CTT CAC TGA AGA C 3' Mutant Forward (M1): 5' CTT ACT TTT CCA TTG AGT ACT CTA CC 3'	۱۴۳
R3500W	NsiI	Normal Forward (F2): 5' CTT ACT TTT CCA TTG AGT CAT C 3' Normal Reverse(R2): 5' GTA AGT GGT TTT TCG TCA TGT G 3' Mutant Forward (M2): 5' CTT ACT TTT CCA TTG AGT ACT C 3'	۲۵۱
R3531C	NlaIII	Normal Forward(F3): 5' CTT ACT TTT CCA TTG AGT CAT C 3' Normal Reverse(R2): 5' GTA AGT GGT TTT TCG TCA TGT G 3' Mutant Reverse(M3): 5' GTA AGT GGT TTT TCG TAC TGT G 3'	۲۵۱

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

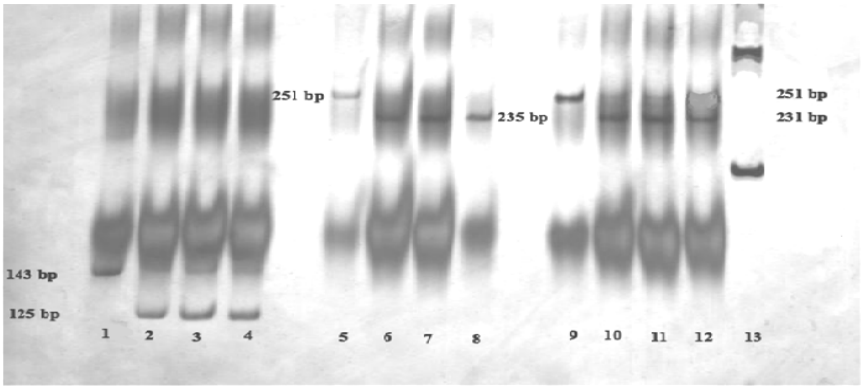
جهت مطالعه جهش R3500Q هر نمونه واکنش PCR شامل 0.5µl از پرایمرهای M1(10pm)، 0.5µl از پرایمر R1 (10pm)، 2 µl MgCl2 ، 2.5µl Buffer (10x)، 0.5µl dNTP (10mM)، 0.1µl TaqPolymerase و 1µl DNA (~100ng) را در میکروتیوپ ریخته و با ddH2O به حجم 25µl رسانده شد. میکروتیوپ ها سپس تحت شرایط دمایی واسرشت اولیه 95 °C به مدت ۲ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل شامل واسرشت در 95 °C به مدت یک دقیقه، چسبیدن در 64°C به مدت یک دقیقه، طویل شدن در 72 °C به مدت ۲ دقیقه و طویل سازی نهایی در 72 °C به مدت ۸ دقیقه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (ASTEC,PC818-Japan) قرار گرفته و توالی های مورد نظر تکثیر شدند. جهت مطالعه جهش های R3531C و R3500W نیز از پرایمرهای M2 و M3 استفاده شد. شرایط واکنش PCR و برنامه حرارتی مربوطه دقیقاً مشابه بالا انجام شد.

محصولات PCR بدست آمده سپس بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد (Merck Germany) و تحت جریان 50mA بمدت ۱ ساعت الکتروفورز شده و سپس توسط رنگ آمیزی نیترات نقره رویت شدند. جهت انجام RFLP میزان 10 µl از محصولات PCR را با 1µl آنزیم محدود کننده (5U/µl) با 2µl بافر و 7µl آب مقطر مخلوط نموده و برای مدت ۱۲ ساعت (Over night) در دمای 37°C نگهداری و سپس محصولات PCR-RFLP را بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد و تحت جریان 40mA بمدت ۱ ساعت و ۴۰ دقیقه الکتروفورز نموده و سپس توسط رنگ آمیزی نیترات نقره باندهای حاصله را روی ژل رؤیت و نتایج مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته ها:

جهت شناسایی جهش R3500Q در نمونه های بیماران از پرایمرهای R1 و M1 استفاده شد که محصول PCR آنها بطول ۱۴۳ جفت باز بر روی ژل پلی اکریل آمید رویت شد. نتیجه PCR-RFLP محصولات فوق با استفاده از آنزیم ScaI شامل یک باند ۱۲۵ جفت بازی و یک باند ۱۸ جفت بازی بوده که نشان دهنده عدم وجود جهش R3500Q در نمونه های مورد مطالعه است. هر چند محل شناسایی ساختگی روی پرایمر (کنترل مثبت) توسط آنزیم ScaI بریده شده است (تصویر شماره ۱).

همچنین پرایمرهای M2 و M3 جهت شناسایی جهش های R3500W و R3531C استفاده شدند و محصول PCR بدست آمده بطول ۲۵۱ جفت باز روی ژل پلی اکریل آمید رویت شد. PCR-RFLP محصولات ذکر



تصویر شماره ۱: PCR- RFLP مربوط به سه جهش شایع R3500Q ، R3500W و R3531C ژن ApoB بر روی ژل پلی اکریل آمید ۸ درصد

شماره ۱: کنترل منفی (بدون DNA) تحت اثر آنزیم ScaI، شماره های ٤- ۲: نمونه های بیماران تحت اثر آنزیم ScaI ، شماره ۵: کنترل منفی تحت اثر آنزیم NlaIII، شماره های ۸-٦: نمونه های بیماران تحت اثر آنزیم NlaIII، شماره ۹: کنترل منفی تحت اثرآنزیم NsiI، شماره های ۱۲-۱۰: نمونه های بیماران تحت اثرآنزیم NsiI، شماره ۱۳: مارکر

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

شده با استفاده از آنزیم NlaIII دو باند ۲۳۱ و ۲۰ جفت بازی و با استفاده از آنزیم NsiI دو باند ۲۳۵ و ۱۶ جفت بازی بر روی ژل پلی اکریل آمید ایجاد نمود و نشان داد که هیچکدام از جهش های فوق الذکر در نمونه های مورد مطالعه وجود ندارد و آنزیم های محدود کننده صرفاً محل های ساختگی بر روی پرایمرها را به عنوان کنترل مثبت بریده اند (تصویر شماره ۱).

بحث:

FH یک بیماری اتوزوم غالب است که در متابولیسم لیپوپروتئین ها اختلال ایجاد می کند و در اثر جهش در یکی از سه ژن LDLR، ApoB و PCSK9 ایجاد می شود (۶). نفوذ FH تقریباً ۱۰۰ درصد است بدین معنا که نیمی از فرزندان والدین مبتلا حامل این نقص هستند و بیماران مبتلا به این نقص در معرض خطر ابتلا به بیماری های قلبی و عروقی قرار دارند. بیماران مبتلا به FH شدید ممکن است قبل از سن ۳۵ سالگی دچار قوس قرنیه شوند گزانتوم تاندونی تقریباً همیشه برای FH یک فاکتور تشخیصی است. فراوانی FH هموزیگوس ۱/۱۰۰۰۰۰۰ و فراوانی FH هتروزیگوس ۱/۵۰۰ است (۱۸،۲). تشخیص کلینیکی FH بر اساس حضور سطح بالای کلسترول پلاسما است که این تشخیص وابسته به فاکتور هایی از جمله سن، شاخص حجم توده زنده (BMI)، تاریخچه خانوادگی تغذیه و CHD نابهنگام و همچنین گزانتوم های تاندون است. تست های ژنتیکی برای جهش های FH در ApoB می تواند به تشخیص FH و مداخله در جلوگیری یا تاخیر CHD در هر سنی کمک کند. از این رو وجود یک برنامه غربال گیری پیشرفته می تواند جهت تشخیص زود هنگام این بیماری کمک کننده باشد.

در این مطالعه چنانچه ذکر شد نمونه هایی که یکی از علایم بیماری های کلیوی، بیماری های قند و تیروئید را داشتند از مطالعه حذف شدند چون این موارد بر روی تشخیص صحیح FH تاثیر گذار بوده و وجود این بیماری ها به طور مستقیم باعث افزایش بیش از حد سطح کلسترول پلاسما می شود.

ژن ApoB دارای ۲۹ اگزون و ۲۸ اینترون می باشد و بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۲ انسان واقع شده، تاکنون ۵۰ جهش متفاوت در این ژن گزارش شده که مانع انتقال و ترجمه ApoB می شوند (۱۹). اگزون ۲۶ آن با ۷۵۷۲ جفت باز بزرگترین اگزون این ژن است و بیش از نیمی از تمام ژن را تشکیل می دهد که بیشتر جهش ها چه از نوع جابجایی نوکلئوتیدها و یا حذف آنها در اگزون ۲۶ این ژن است (۷).

با توجه به تعداد زیاد اگزون (۲۹ اگزون) در ژن ApoB کاربرد روش تعیین توالی جهت تشخیص جهش ها معمولاً بسیار پر هزینه است. از طرفی تنوع پایین جهش های این ژن که عمدتاً در محلی به وسعت کمتر از ۴۵۰ نوکلئوتید در محل اگزون ۲۶ قرار گرفته اند استفاده از روشهای کم هزینه تر از جمله PCR-RFLP را بسیار موثر و کارآمد نموده به طوری که مطالعات مختلف جهت تشخیص جهش های این ژن عمدتاً از روش PCR-RFLP و جهش های شایع بخصوص R3500Q، R3500W و R3531C را مورد بررسی قرار داده اند (۱۱).

در این مطالعه ما نیز سه جهش شایع R3500W,R3500Q و R3531C را بررسی کردیم که محل وقوع آنها در اگزون ۲۶ ژن ApoB است. در جوامع مختلف گزارش های متفاوتی از فراوانی و انواع جهش ها در این ژن ارایه شده است که بیشترین موارد جهش در بیماران FH در اروپا به میزان ۵-۳ درصد گزارش گردیده است (۱۲). بیشترین فراوانی جهش R3500Q در لهستان و سوئیس گزارش شده است و در چکسلواکی و دیگر کشورهای اروپایی فراوانی کمتری دارد و تقریباً در جمعیت های آفریقای جنوبی و آسیا به صفر می رسد (۱۳). در مطالعه ای در لبنان که بر روی ۵۹ بیمار مشکوک به FH انجام گردید جهشی در ژن ApoB مشاهده نشده است (۱۴).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

در ایران نیز در مورد ژن ApoB در تنها مطالعه ای که انجام گرفته از بین ۳۰ نمونه مورد بررسی جهت جهش R3500Q در ژن ApoB مورد مثبتی مشاهده نگردیده است (۱۵).

نتایج مطالعات ما هیچگونه جهشی را در ژن مورد مطالعه نشان نداد که این می تواند به علل زیر باشد:

۱- ما فقط جهش های شایع موجود در بزرگترین اگزون را که جهش های مربوط به آن بیشترین شیوع و فراوانی را در جمعیت های مختلف جهان داشته است بررسی نمودیم. بنابراین ممکن است جهش های دیگری بغیر از سه جهش شایع R3500Q، R3500W و R3531C در جمعیت های ایران مطرح باشد.

۲- ما فقط یک جمعیت محدود ۳۰ نفری از استان چهارمحال و بختیاری را مطالعه نمودیم و با توجه به اینکه کشور ما از نظر قومیت متنوع است نمی توان با مطالعه یک تعداد محدود از یک جمعیت، قضاوت نمود. بنابراین بررسی جمعیت های مختلف با تعداد بیشتر بیمار ضروری است.

۳- ممکن است دخالت ژن های دیگری در ایجاد FH در ایران مطرح باشد که البته دخالت ژن های مختلف در مورد بسیاری از بیماری ها امری ثابت شده است و در مورد بیماری FH نیز مطالعات نشان داده بجز جهش در ژن ApoB، جهش در ژن های LDLR و PCSK9 نیز در ایجاد بیماری FH نقش دارند (۲۰). همچنین اخیراً جهش هایی در ژن FH3 بر روی کروموزوم ۱ گزارش گردیده که در ایجاد FH نقش دارند (۲۱).

۴- شیب جهش در ژن ApoB-100 از کشورهای اروپایی به سمت کشورهای آسیایی کاهش چشمگیری را نشان می دهد (۱۳) که این خود تصدیق کننده نتایج ما در این مطالعه و مطالعه مشابه انجام شده در ایران است.

نتیجه گیری:

نتیجه گیری اینکه نتایج این مطالعه ارتباط جهش های ژن های ApoB را با بیماران مشکوک به FH در جمعیت استان چهارمحال و بختیاری نشان نداد و با توجه به اندازه کوچک جامعه مورد مطالعه و عدم بررسی همه اگزون ها، مطالعات وسیع تری در ارتباط با جمعیت این استان و سایر استان های کشور نیاز است تا این ارتباط ها به طور کامل روشن گردد.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از کلیه بیماران که در این مطالعه شرکت نمودند صمیمانه تشکر می نماید. این مطالعه از نظر مالی توسط معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد از طریق گرانت ۳۳۹ مورخ ۱۳۸۴/۱۲/۲۱ تامین شده است.

منابع:

1.Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. J Clin Invest. 2003 Jun; 111(12): 1795-803.

2.Shahverdi M, Agazadeh B. [Ceci essentials medicine. Tehran: Golban Pub; 1380. p: 1-112.]Persian

3.Sun XM, Eden ER, Tosi I, Neuwirth CK, Wile D, Naoumova RP, Soutar AK. Evidence for effect of mutant PCSK9 on apolipoprotein B secretion as the cause of unusually severe dominant hypercholesterolaemia. Hum Mol Genet. 2005 May; 14(9): 1161-9.

4.Oliver G. Terminology genetic engineering. 1th ed. Tehran: Research Center Genetic Engineering Pub; 1373. p: 101-48.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017

5.Brown MS, Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia: defective binding of lipoproteins to cultured fibroblasts associated with impaired regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity. Proc Natl Acad Sci USA.. 1974 Mar; 71(3): 788-92.

6.Estegamati A, Gholamrezanejad A, Tarbiat M, Tarbiat A. Harrisons principles of internal medicine. Tehran: Nnoredanesh Pub; 1385. p: 1-644.

7.Whitfield AJ, Barrett PH, van Bockxmeer FM, Burnett JR. Lipid disorders and mutations in the APOB gene. Clin Chem. 2004 Oct; 50(10): 1725-32.

8.Pullinger CR, Hennessy LK, Chatterton JE, Liu W, Love JA, Mendel CM, et al. Familial ligand-defective apolipoprotein B. Identification of a new mutation that decreases LDL receptor binding affinity. J Clin Invest. 1995 Mar; 95(3): 1225-34

9.Ludwing EH, McCarrthy BJ. Haplotype analysis of the human apolipoprotein B mutation associated with familial defective apolipoprotein B100. Am J Hum Genet. 1990 Oct; 47(4): 712-20.

10. Boren J, Ekstrom U, Agren B, Nilsson-Ehle P, Innerarity TL. The molecular mechanism for the genetic disorder familial defective apolipoprotein B100. J Biol Chem. 2001 Mar; 276(12): 9214-8

11. Varret M, Abifadel M, Rabes JP, Boileau C. Genetic heterogeneity of autosomal dominant hypercholesterolemia. Clin Genet. 2008 Jan; 73(1): 1-13.

12. Hirayama T, Yamaki E, Hata A, Tsuji M, Hashimoto K, Yamamoto M, Emi M. Five familial hypercholesterolemic kindreds in Japan with novel mutations of the LDL receptor gene. J Hum Genet. 1998; 43(4): 250-4.

13. Austin MA, Hutter CM, Zimmern RL, Humphries SE. Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a HuGE prevalence review. Am J Epidemiol. 2004 Sep; 160(5): 407-20.

14. Alberto FL, Figueiredo MS, Zago MA, Araujo AG, Dos-Santos JE. The Lebanese mutation as an important cause of familial hypercholesterolemia in Brazil. Braz J Med Biol Res. 1999 Jun; 32(6): 739-45.

15. Fard-Esfahani P, Mohammadi-Torbati, Khatami S, Zeinali S, Taghikhani M, Allahyari M. Familial defective apolipoprotein B100: Frequency Of R3500Q mutation of apolipoprotein B gene in Iranian hypercholesterolemic patients. Acta Medica Iranic. 2005; 43(3): 193-6.

16. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. N Engl J Med. 1995 Nov; 333(20): 1301-7.

17. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. 1995. Atheroscler Suppl. 2004 Oct; 5(3): 91-7.

18. Lombardi MP, Redeker EJ, Defesche JC, Kamerling SW, Trip MD, Mannens MM, et al. Molecular genetic testing for familial hypercholesterolemia: spectrum of LDL receptor gene mutations in The Netherlands. Clin Genet. 2000 Feb; 57(2): 116-24.

19. Melissa A. Austin Carolyn M. HutterRon L. Zimmern and Steve E. Humphries. Genetic Causes of Monogenic Heterogous Familial Hypercholesterolemia: A HuGE Prevalence Review. Human Genome Epidemiology. 2004; 160(5): 407-20.

20. Chae JJ, Kim SH, Kim UK, Han KH, Kim HS, Kastner DL, et al. Three novel small deletion mutations of the LDL receptor gene in Korean patients with familial hypercholesterolemia. Clin Genet. 1999 May; 55(5): 325-31.

21. Varret M, Rabes JP, Saint-Jore B, Cenarro A, Marinoni JC, Civeira F, et al. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p34.1-p32. Am J Hum Genet. 1999 May; 64(5): 1378-87.

22. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland coronery prevention study group. N Engl J. 1995; 333: 1301-7.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 11:15 +0330 on Saturday October 7th 2017