● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ نوزدهم، شمارهٔ ۳، ص ۲۴۲-۲۳۳، ۱۳۹۱

مقالهٔ پژوهشی

# ارتباط پلی‌مورفیسم Hind III ژن لیپوپروتئین لیپاز با غلظت لیپیدهای سرم در شهر سمنان

احمدرضا بندگی[1*]، محسن فیروزرای[2]، محمدرضا اکبری عیدگاهی[3]

**خلاصه**

**مقدمه:** لیپوپروتئین لیپاز (Lipoprotein lipase, LPL)، یک آنزیم کلیدی در تنظیم متابولیسم تری‌گلیسرید و HDL (High density lipoprotein) می‌باشد. احتمالاً پلی‌مورفیسم‌های ژن لیپوپروتئین لیپاز در پاتوفیزیولوژی دیس لیپیدمی حائز اهمیت می‌باشد. یکی از شایع‌ترین پلی‌مورفیسم‌ها در ژن LPL، پلی‌مورفیسم Hind III می‌باشد. در برخی مطالعات، ارتباط پلی‌مورفیسم Hind III با دیس لیپیدمی گزارش گردیده است. با توجه به شیوع بالای دیس لیپیدمی در ایران، این مطالعه جهت تعیین فراوانی الل نادر ($H^-$) پلی‌مورفیسم Hind III ژن LPL و ارتباط آن با غلظت لیپیدهای سرم در یک جامعه ایرانی انجام شده است.

**روش:** DNA ژنومی ۷۶ بیمار مبتلا به هیپرلیپیدمی (TG > 150 mg/dl و 200 mg/dl < کلسترول تام) و ۷۵ فرد سالم (TG < 150 mg/dl و TC < 200 mg/dl) استخراج گردید. پلی‌مورفیسم Hind III با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز و RFLP (Restriction fragment length polymorphism) در دو گروه شاهد و بیمار مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** فراوانی الل نادر ($H^-$) پلی‌مورفیسم Hind III در گروه بیمار و شاهد به‌ترتیب ۱۷ و ۳۰ درصد بود (P<۰/۰۱). در گروه هیپرلیپیدمیک، افراد با ژنوتیپ $H^+H^+$ در مقایسه با افراد با ژنوتیپ‌های $H^+H^-$ و $H^-H^-$، دارای کلسترول تام و LDL سرمی بالاتری بودند (P<۰/۰۵).

**نتیجه‌گیری:** حضور الل $H^+$ همراه با افزایش TC و LDL-c در جمعیت مورد مطالعه بوده است. ارتباط پلی‌مورفیسم Hind III با دیس لیپیدمی بسیار پیچیده است و بررسی پلی‌مورفیسم Hind III با یک حجم نمونه بیشتر و همراه با سایر پلی‌مورفیسم‌ها ضروری و قابل توجیه می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** لیپوپروتئین لیپاز، پلی‌مورفیسم Hind III، هیپرلیپیدمی

۱- استادیار بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان ۲- استاد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه علوم پزشکی تهران ۳- استادیار بیوتکنولوژی، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی سمنان

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** سمنان، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی ● **آدرس پست الکترونیک:** arbandegi@yahoo.ca

**دریافت مقاله:** ۱۳۸۹/۱۲/۱۰ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۹۰/۸/۲۵ **پذیرش مقاله:** ۱۳۹۰/۹/۲۳

**مقدمه**

آنزیم لیپو پروتئین لیپاز (Lipoprotein lipase: LPL)، در سطح اندوتلیوم مویرگ‌های بافت‌های خارج کبدی باعث هیدرولیز تری‌گلیسریدهای لیپوپروتئین‌های غنی از تری‌گلیسرید می‌شود (۱)، همچنین در تبادل لیپید بین لیپوپروتئین با دانسیته بالا (High density lipoprotein: HDL) و لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین (Very low density lipoprotein: VLDL) نقش دارد (۲). LPL به‌طور بالقوه یک تنظیم‌کننده کلیدی تجمع چربی در بافت چربی می‌باشد (۳). LPL همچنین با اتصال به باقیمانده‌های شیلومیکرون، به کبد منتقل و در آنجا باعث افزایش برداشته شدن این لیپوپروتئین‌ها توسط گیرنده مربوط به لیپوپروتئین با دانسیته پایین (Low density lipoprotein: LDL) می‌شود (۴).

اختلال در عملکرد LPL به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم در ارتباط با تعدادی از بیماری‌ها، ازجمله بیماری عروق کرونر (۵)، آترواسکلروز (۶)، چاقی (۷) و دیس لیپیدمی (۸،۹) می‌باشد.

ژن LPL با ۹ اگزون و ۲۹/۰۶کیلوباز بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۸ قرار گرفته است (۱۰). مطالعات زیادی بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژن LPL در جمعیت‌های مختلف انجام شده است، به‌طوری که فراوانی این پلی‌مورفیسم‌ها و اثرشان بر لیپیدهای خون (۱۳-۱۱) تفاوت‌های زیادی را بر اساس منشأ نژادی و جغرافیایی نشان می‌دهد. در مطالعات متعددی، پلی‌مورفیسم Hind III (جایگزین شدن باز تیمین با گوانین، در موقعیت ۴۸۱ اینترون ۸) ژن LPL، نسبت به سایر پلی‌مورفیسم‌ها فراوانی بالاتری داشته و فراوانی الل نادر آن در اکثر جمعیت‌ها حدود ۲۵ درصد بوده است (۱۴).

نتایج یک مطالعه در دانمارک نشان داده که حضور الل $H^+$ در مکان پلی مورفیک Hind III ژن LPL با کاهش غلظت HDL-c و افزایش تری‌گلیسرید همراه است (۱۴). همچنین در یک مطالعه در چین حضور الل $H^+$ با هیپرگلیسمی همراه بوده است (۱۵).

از آنجا که دیس لیپیدمی در ایرانی‌ها از شیوع بالایی برخوردار است (۱۶) و ارتباط پلی‌مورفیسم Hind III ژن LPL در بروز دیس لیپیدمی در سایر جمعیت‌ها گزارش گردیده است، ولی هنوز ارتباط این پلی‌مورفیسم با تغییرات غلظت لیپیدها در جمعیت ایرانی بررسی نشده است، این مطالعه به منظور تعیین فراوانی پلی‌مورفیسم Hind III و ارتباط آن با غلظت لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم در افراد سالم و بیماران مبتلا به هیپرلیپیدمی در شهرستان سمنان با استفاده از روش RFLP (Restriction fragment length) برنامه‌ریزی شد.

**روش بررسی**

در این مطالعه توصیفی - تحلیلی، از بین بیماران مراجعه کننده به متخصصین داخلی درمانگاه بیمارستان فاطمیه (س) سمنان، که سطح تری‌گلیسرید و کلسترول تام سرم آن‌ها به‌ترتیب بیش از ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود، ۷۶ نفر با استفاده از روش نمونه‌گیری متوالی انتخاب گردیدند. افراد با بیماری تیروئید، دیابت قندی، نارسایی کلیوی، بیماری کبدی، پرفشاری خون، بیماران مصرف‌کننده داروهای مؤثر بر سطح پلاسمایی لیپیدها و خانم‌های حامله از مطالعه خارج گردیدند. همچنین ۷۵ فرد سالم و با سطح پلاسمایی TG <150 mg/dl و TC < 200 mg/dl که از نظر سن و جنس با گروه هیپر لیپیدمیک مشابه‌سازی شدند، به‌عنوان گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات لازم در مورد تحقیق به کلیه افراد داده شد و رضایت نامه کتبی در هنگام نمونه‌گیری دریافت گردید.

از افراد ۱۰ میلی‌لیتر خون وریدی بعد از ۱۲ ساعت ناشتا تهیه گردید. برای اندازه‌گیری غلظت TG و TC از روش آنزیمی و جهت تعیین مقدار LDL-c و HDL-c از روش ایمونوتوربیدومتری با دستگاه اتوآنالیزور COBAS MIRA استفاده گردید. کلیه کیت‌ها از شرکت پارس آزمون تهیه گردید.

DNA ژنومی گلبول‌های سفید خون محیطی با روش salting out استخراج گردید (۱۷) و قطعه‌ای از DNA حاوی موقعیت ۴۸۱ به طول ۱۲۵۰ جفت باز در اینترون ۸ ژن LPL با استفاده از پرایمرهای زیر (شرکتِ DNA Technology A/s دانمارک) و به کمک ترموسایکلر CORBETT Research تکثیر گردید (۱۸):

F: 5' - TTT AGG CCT GAA GTT TCC AC -3'

R: 5' - CCC AGA ATG CTC ACC AGC -3'

تکثیر قطعه فوق درحجم‌های ۲۵ میکرولیتری دارای حدود ۵۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۱۰۰ پیکومول از هر پرایمر، ۲/۵ میکرولیتر بافر 10x، MgC l2 (2mM)، dNTP (0.1mM) و یک واحد آنزیم Taq پلیمراز انجام گردید.

شرایط تکثیر DNA در ترموسایکلر ۹۵°C چهار دقیقه، سپس ۳۳ بار در ۹۴°C یک دقیقه، ۶۸°C یک دقیقه، ۷۲°C نود ثانیه و نهایتاً ۷۲°C پنج دقیقه بود.

برای اطمینان محصول PCR تمام نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۱ درصد و بافر TBE با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردیدند.

۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۵ واحد آنزیم Hind III (شرکت Roche) و ۲/۵ میکرولیتر بافر مربوطه با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به مدت ۴ ساعت در دمای ۳۷°C هضم گردید. محصول هضم آنزیمی بر روی آگاروز ۱/۵ درصد و با رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید.

بر اساس بررسی مطالعات انجام شده در کشورهای آسیایی و بااستفاده از مقدار α برابر ۰/۰۵ و β برابر ۰/۲ (توان ۸۰٪) حداقل نمونه مورد نیاز ۷۰ مورد محاسبه گردید.

محاسبات آماری توسط نرم‌افزار SPSS10/win انجام و تفاوت‌های آماری بین پارامترهای پلاسمای خون با استفاده از آزمون t-student محاسبه شد. از آزمون Chi-square برای محاسبه فراوانی ژنوتیپ‌های Hind III و برای مقایسه میانگین غلظت لیپیدها و آپولیپوپروتئین‌ها در میان ژنوتیپ‌های مختلف از آنالیز واریانس (ANOVA) و Tukey test استفاده شد. تعادل هاردی- وینبرگ (Hardy-Weinberg) با $\chi^2$ test تعیین گردید. نتایج تمام آزمایشات به‌صورت Mean ± S.E.M گزارش شده و با شرط P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار منظور گردیده است.

## نتایج

خصوصیات بالینی و بیوشیمیایی دو گروه شاهد و هیپرلیپیدمیک در جدول ۱ نشان داده شده است. دو گروه از نظر سن و جنس اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند. در گروه هیپرلیپیدمیک غلظت پلاسمایی TC, TG و LDL-c نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار (P<۰/۰۰۰۱) و غلظت HDL-c کاهش معنی‌دار (P<۰/۰۰۰۱) نشان می‌دهد.

**جدول ۱.** *خصوصیات دموگرافی و غلظت لیپیدهای سرم (mg/dl) گروه‌های مورد مطالعه*

| خصوصیات | گروه شاهد n=۷۵ | گروه هیپرلیپیدمیک n=۷۶ |
|---|---|---|
| سن (سال) | ۴۵/۳ ± ۱/۴ | ۴۶/۱ ± ۱/۲۱ |
| جنس (زن/مرد) | ۳۵/۴۰ | ۳۴/۴۲ |
| نمای توده بدنی (kg/m2) | ۲۴/۷ ± ۰/۳۸ | *۲۶/۹ ± ۰/۴۳ |
| کلسترول توتال | ۱۳۱ ± ۱۵ | *۲۹۸ ± ۲۶ |
| تری‌گلیسرید | ۱۴۶ ± ۱۳ | *۴۳۰ ± ۱۹ |
| LDL-c | ۶۸ ± ۸ | *۱۵۴ ± ۱۵ |
| HDL-c | ۴۵ /۴ ± ۳/۸ | *۳۵ /۷ ± ۲ /۸ |

* P<۰/۰۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل

مقادیر به صورت Mean ± S.E.M گزارش شده است.

الگوی الکتروفورزی ژنوتیپ‌های هوموزیگوت و هتروزیگوت در شکل ۱ نشان داده شده است. الل $H^+$ مکان پلی‌مورفیک Hind III دارای جایگاه اثر آنزیم Hind III است، لذا قطعه ۱۲۵۰ جفت بازی، توسط آنزیم محدودگر Hind III

به دو قطعه با اندازه تقریباً مساوی (حدود ۶۲۵ جفت باز) تبدیل شد، ولی الل $H^-$ (G)، به‌علت تبدیل T به G در مکان پلی‌مورفیک Hind III، محل اثر آنزیم محدودگر Hind III از بین رفته و توسط آنزیم Hind III بریده نشد.

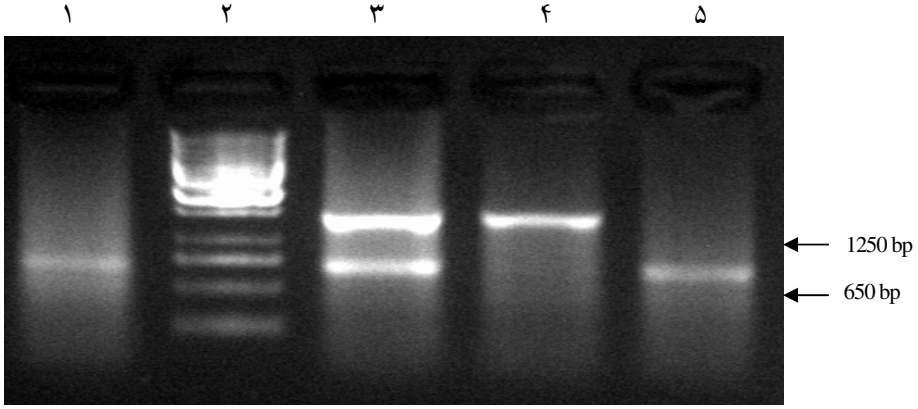
فراوانی اللی و توزیع ژنوتیپی مکان پلی‌مورفیک Hind III در جدول ۲ نشان داده شده است. فراوانی سه ژنوتیپ پلی‌مورفیسم Hind III بین گروه کنترل و هیپرلیپیدمیک اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$، df=۲، $\chi^2=6/18$) فراوانی الل $H^-$ در گروه هیپرلیپیدمیک نسبت به گروه کنترل اختلاف معنی‌داری داشت ($P<0/01$).

اثر پلی‌مورفیسم Hind III بر غلظت لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم گروه هیپرلیپیدمیک در جدول ۳ نشان داده شده است. غلظت TC و LDL-C بین ژنوتیپ‌های مختلف در گروه هیپرلیپیدمیک اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$)، به‌طوری که افراد حامل الل $H^+$ دارای سطح سرمی LDL-C و TC بالاتری نسبت به افراد با ژنوتیپ $H^-H^-$ بودند. غلظت TG نیز در افراد حامل $H^+$ بیشتر از افراد با ژنوتیپ $H^-H^-$ بود ولی اختلاف معنی‌داری نداشت.

اثر ژنوتیپ‌های Hind III بر غلظت لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم گروه شاهد نیز بررسی گردید، که تنها غلظت LDL-C اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P<0/05$)؛ به‌طوری که افراد حامل الل $H^+$ نسبت به افراد با ژنوتیپ $H^-H^-$ افزایش LDL-c نشان دادند. در مورد سایر لیپیدها، اختلاف معنی‌دار نبود (نتایج گروه شاهد در جدول نشان داده نشده است).

آنالیز عامل خطر ژنوتیپ $H^+H^+$ برای ابتلا به هیپرلیپیدمی، ارتباط معنی‌داری را نشان داد (C.I=-۴/۰۹، P=۰/۰۲۶ ، df=۱ ، $\chi^2$ =۴/۹) ژنوتیپ $H^+H^+$ در مقایسه با ژنوتیپ‌های $H^+H^-$ + $H^-H^-$، دارای Odds ratio برابر ۲/۱ (C.I: Confidence Interval =-۴/۰۹) بود.

توزیع ژنوتیپ‌های مکان پلی‌مورفیک Hind III در جمعیت مورد مطالعه، مطابق با نسبت‌های معادله هاردی ـ وینبرگ بود.




**شکل ۱.** *الگوی الکتروفورز محصول PCR مکان پلی‌مورفیک Hind III بعد از هضم توسط آنزیم Hind III*

ستون‌های ۱ و ۵ مربوط به دو نمونه با ژنوتیپ $H^+H^+$، ستون ۳ مربوط به نمونه هتروزیگوت و ستون ۴ مربوط به نمونه با ژنوتیپ $H^-H^-$ می‌باشد. ستون ۲ سایز مارکر 1kb را نشان می‌دهد. (آگاروز ۱/۵٪، بافر TBE، رنگ‌آمیزی اتیدیوم بروماید)

**جدول ۲.** *توزیع ژنوتیپ و فراوانی اللی پلی‌مورفیسم Hind III ژن LPL در گروه‌های مورد مطالعه*

| توزیع تعداد (درصد) / پلی‌مورفیسم Hind III | گروه شاهد (n=۷۵) | گروه هیپرلیپیدمیک (n= ۷۶) |
|---|---|---|
| ژنوتیپ* | تعداد (درصد) | تعداد (درصد) |
| $H^+H^+$ | ۳۸ (۵۰/۷) | ۵۲ (۶۸/۴) |
| $H^+H^-$ | ۳۰ (۴۰) | ۲۲ (۲۹) |
| $H^-H^-$ | ۷ (۹/۳) | ۲ (۲/۶) |
| فراوانی اللی** | | |
| $H^+$ | ۰/۷ | ۰/۸۳ |
| $H^-$ | ۰/۳ | ۰/۱۷ |

* P<۰/۰۵ ،** P<۰/۰۱

**جدول ۳.** *اثر ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم Hind III بر وضعیت لیپید سرم (mg/dl) در گروه هیپرلیپیدمیک.*

| ژنوتیپ / متغیر | $H^+H^+$ (n = ۵۲) | $H^+H^-$ (n = ۲۲) | $H^-H^-$ ( n = ۲) |
|---|---|---|---|
| سن (سال) | ۴۶ ± ۱/۴۶ | ۴۵ ± ۱/۵۶ | ۴۵ ± ۲/۵ |
| جنس | ۲۲/۳۰ | ۹/۱۳ | ۲/۰ |
| نمای توده بدنی (kg/m2) | ۲۷/۲±۰/۵۴ | ۲۵/۹ ± ۰/۷۲ | ۲۸ ± ۰/۷ |
| *کلسترول توتال | ۳۰۳ ± ۷ | ۲۶۵ ± ۸ | ۲۱۶ ± ۶ |
| تری‌گلیسرید | ۴۳۷ ± ۲۵ | ۴۲۵ ± ۳۱ | ۴۱۵ ± ۲۶ |
| LDL-c* | ۱۷۴ ± ۶ | ۱۴۷ ± ۹ | ۱۳۶ ± ۴ |
| HDL-c | ۸/۳۵ ± ۳/۱ | ۳۶/۳ ± ۳/۵ | ۳۵/۲ ± ۲/۷ |

P<۰/۰۵ * ژنوتیپ $H^+H^+$ در مقایسه با ژنوتیپ‌های $H^+H^-$ و $H^-H^-$ مقادیر به صورت Mean ± S.E.M گزارش شده است.

## بحث

در ژن LPL تعداد زیادی پلی‌مورفیسم مورد شناسایی قرار گرفته است که در بعضی از مطالعات ارتباط برخی از این پلی‌مورفیسم‌ها با دیس لیپیدمی نشان داده شده است (۱۴). در حالی که چنین ارتباطی در برخی از بررسی‌ها تأیید نگردیده است (۹).

در این مطالعه مکان پلی‌مورفیک Hind III واقع در ژن LPL به این دلیل انتخاب شد که تغییرات آن در بسیاری از مطالعات در دیس لیپیدمی مؤثر گزارش شده است.

در مطالعه حاضر، فراوانی الل نادر $H^-$ به‌ترتیب ۱۷ و ۳۰ درصد بود که مشابه نتایج به‌دست آمده از مطالعات انجام شده در چین بر روی بیماران مبتلا به

هیپرتری‌گلیسریدمی (۱۵) و در فرانسه بر روی افراد چاق می‌باشد (۱۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که افراد حامل الل $H^+$ دارای TC، LDL-c و TG بیشتری نسبت به حاملین الل $H^-$ نادر می‌باشند. به‌طوری که افراد هموزیگوت ($H^+H^+$) نسبت به هتروزیگوت‌ها ($H^+H^-$) و هتروزیگوت‌ها نسبت به هموزیگوت‌ها ($H^-H^-$) از TC، LDL-c و TG بالاتری برخوردارند که نشان دهنده ارتباط الل +H با دیس لیپیدمی می‌باشد، ولی در مورد TG این اختلاف معنی‌دار نبود. این اثر الل +H در گروه شاهد نیز مشاهده می‌شود، هر چند که فقط در مورد LDL-c معنی‌دار می‌باشد. در بعضی از مطالعات نتایج مشابهی در ارتباط با پلی‌مورفیسم Hind III و لیپیدهای سرم نشان داده شده است (۲۳-۲۰)، از جمله مطالعه Larson و همکاران در کالیفرنیا نشان داد که حضور الل $H^+$ در زنان با افزایش TC و LDL-c همراه می‌باشد، ولی این ارتباط در مردان مشاهده نگردید (۲۴). همچنین مواردی از نتایج متناقض، نیز گزارش گردیده است به‌طوری که در یک مطالعه روی افراد مبتلا به دیس لیپیدمی، الل نادر $H^-$ با افزایش LDL-c همراه بوده است (۲۵) و یا در بعضی از مطالعات هیچ‌گونه ارتباطی بین پلی‌مورفیسم Hind III و غلظت لیپیدها و لیپوپروتئین‌های سرم وجود نداشته است (۹،۲۶،۲۷).

در ارتباط با نتایج متفاوت و گاه کاملاً متضاد در مطالعات مختلف، می‌توان علت آن را مربوط به اثر سایر جهش‌های عملکردی (Functional) مؤثر بر بیان ژن LPL و همراهی آن‌ها با پلی‌مورفیسم Hind III دانست. با توجه به اینکه پلی‌مورفیسم Hind III در ناحیه غیرکدکننده (اینترون ۸) قرار دارد، پس تغییر آن به تنهایی نمی‌تواند عملکردی باشد. در برخی مطالعات، با استفاده از آزمون پیوستگی نامتعادل (disequlibrium Linkage) ارتباط پلی‌مورفیسم Hind III با واریانت S477X و اثر آن‌ها بر غلظت لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها گزارش شده است (۲۸،۲۹).

همچنین تعدادی عناصر تنظیمی مهم در اینترون ۸ شناسایی شده‌اند که در بیان ژن LPL دخالت دارند (۳۰). یکی از این عناصر تنظیمی، توالی حفاظت شده TATA است که تحت تأثیر پلی‌مورفیسم Hind III قرار می‌گیرد به‌طوریکه تبدیل T به G (یعنی حضور الل نادر $H^-$) منجر به کاهش میل ترکیبی یک فاکتور رونویسی به نام پروتئین متصل شونده به TATA (TATA Binding Protein, TBP) می‌شود (۱۴). تصور بر این است که حضور الل نادر $H^-$ منجر به کاهش رونویسی از ژن LPL و لذا کاهش فعالیت آنزیم LPL می‌گردد، پس باید به دلیل کاهش کاتابولیسم لیپوپروتئین‌های غنی از TG، غلظت TG و LDL-c افزایش یابد در حالیکه در بعضی از مطالعات و ازجمله نتایج مطالعه حاضر، الل نادر $H^-$ همراه با افزایش TG و LDL-c نبوده است (۱۴،۲۴).

حتی در برخی از مطالعات حضور الل نادر، باعث محافظت از خطر بیماری‌های عروق کرونرشده (۳۱،۳۲) و در مطالعات دیگری فراوانی الل نادر در افراد با بیماری عروق کرونر تفاوتی با گروه شاهد نداشته است (۳۳،۳۴). پس می‌توان نتیجه گرفت که پلی‌مورفیسم Hind III، عامل تغییر در غلظت لیپیدها و لیپوپروئین‌ها نیست و نمی‌توان اثر سایر جهش‌ها و همچنین فاکتورهای محیطی مانند رژیم

غذایی، روش زندگی و فعالیت فیزیکی بر آن را نادیده گرفت.

## نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم Hind III در گروه بیمار و شاهد اختلاف معنی‌داری دارند، و همچنین ارتباط معنی‌داری بین حضور الل $H^+$ و غلظت TC و LDL-c وجود دارد. ولی از آنجا که در این مطالعه تنها یک مکان پلی‌مورفیک در ژن LPL مورد بررسی قرار گرفته است، نمی‌توان ادعا کرد که مکان‌های دیگر در ژن LPL با هیپرلیپیدمی در ارتباط نیستند. بنابراین پیشنهاد می‌گردد سایر پلی‌مورفیسم‌های شایع در ژن LPL نیز در جمعیت ایرانی بررسی گردد تا بتوان تفسیر دقیق‌تری از ارتباط این پلی‌مورفیسم با دیس لیپیدمی‌ها انجام داد.

## سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی سمنان به دلیل حمایت مالی این پژوهش و همچنین از زحمات پرسنل محترم گروه بیوشیمی و آزمایشگاه تشخیص طبی دانشکده پزشکی سمنان تشکر و قدردانی می‌گردد.

## References

1. Lim WY, Chia YY, Liong SY, Ton SH, Kadir KA, Husain SN. Lipoprotein lipase expression, serum lipid and tissue lipid deposition in orally-administered glycyrrhizic acid-treated rats. *Lipids Health Dis* 2009; 8:31.
2. Merkel M, Eckel RH, Goldberg IJ. Lipoprotein lipase: genetics, lipid uptake, and regulation. *J Lipid Res* 2002; 43(12): 1997–2006.
3. Ukkola O, Tremblay A, Bouchard C. Lipoprotein lipase polymorphisms and responses to long-term overfeeding. *J Intern Med* 2002; 251(5): 429-36.
4. Neveen Salah El Din Hemimi, Mona Mohamed Abd El Salam, Mahmoud M Abd Elwahab. The lipoprotein lipase HindIII polymorphism and the susceptibility to hypertension. *FASEB J* 2008; 29; 22:237.
5. Anderson JL, King GJ, Bair TL, Elmer SP, Muhlestein JB, Habashi J, et al. Association of Lipoprotein Lipase Gene Polymorphisms With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* 1999; 15; 33(4): 1013-20.
6. Tsutsumi K. Lipoprotein Lipase and Atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1(1): 11-7.
7. Nicklas BJ, Ferrell RE, Rogus EM, Berman DM, Ryan AS, Dennis KE, et al. Lipoprotein lipase gene variation is associated with adipose tissue lipoprotein lipase activity, and lipoprotein lipid and glucose concentrations in overweight postmenopausal women. *Hum Genet* 2000; 106(4): 420-4.
8. Radha V, Mohan V, Vidya R, Ashok AK, Deepa R, Mathias RA. Association of Lipoprotein Lipase Hind III and Ser 447 Ter Polymorphisms With Dyslipidemia in Asian Indians. *Am J Cardiol* 2006; 97(9): 1337-42.
9. Araújo LM, Cendoroglo MS, Gigek CO, Chen ES, Smith Mde A. Association of lipase lipoprotein polymorphisms with high-density lipoprotein and triglycerides in elderly men. *Genet Mol Res* 2010; 9(1):86-96.

10. Morabia A, Cayanis E, Costanza MC, Ross BM, Bernstein MS, Flaherty MS, et al. Association between lipoprotein lipase (LPL) gene and blood lipids: a common variant for a common trait? *Genet Epidemiol* 2003; 24(4): 309–21.

11. Vohl MC, Lamarche B, Moorjani S, Prud'homme D, Nadeau A, Bouchard C, et al. The lipoprotein lipase Hind III polymorphism modulates plasma triglyceride levels in visceral obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15(5): 714–20.

12. Mattu RK, Needham EW, Morgan R, Rees A, Hackshaw AK, Stocks J, et al. DNA variants at the LPL gene locus associate with angiographically defined severity of atherosclerosis and serum lipoprotein levels in a Welsh population. *Arterioscler Thromb* 1994; 14(7): 1090 –7.

13. Chen Q, Razzaghi H, Demirci FY, Kamboh MI. Functional Significance of Lipoprotein Lipase HindIII Polymorphism Associated with the Risk of Coronary Artery Disease. *Atherosclerosis* 2008; 200(1):102-8.

14. Gerdes C, Gerdes LU, Hansen PS, Faergeman O. Polymorphisms in the lipoprotein lipase gene and their associations with plasma lipid concentrations in 40-year-old Danish men. *Circulation* 1995; 92(7): 1765 –9.

15. Ko YL, Ko YS, Wu SM, Teng MS, Chen FR, Hsu TS, et al. Interaction between obesity and genetic polymorphisms in the apolipoprotein CIII gene and lipoprotein lipase gene on the risk of hypertriglyceridemia in Chinese. *Hum Genet* 1997; 100(3-4): 327–33

16. Azizi F, Rahmani M, Ghanbarian A, Emami H, Salehi P, Mirmiran P, et al. Serum lipid levels in an Iranian adult population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Eur J Epidemiol* 2003; 18(4): 311-9.

17. Miller SA, Dykes DD and Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleotid cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16(3): 1215.

18. Peacock RE, Hamsten A, Nilsson – Ehle P and Humphries SE. Associations between lipoprotein Lipase gene polymorphisms and plasma correlations of lipids, lipoprotenis and lipase activities in young myocardial infarction survivors and age-matched healthy individuals from Sweden. *Atherosclerosis* 1992; 97(2-3): 171-85.

19. Jemaa R, Tuzet S, Portos C, Betoulle D, Apfelhaum M, Fumeron F. Lipopratein Lipase gene polymorphisms: associations with hypertriglyceridemia and body mass index in obese people. *Int J obese Relat Metab Disord* 1995; 19(4): 270-4.

20. Jemaa R, Fumeron F, Poirier O, Lecerf L, Evans A, Arveiler D, et al. Lipoprotein lipase gene polymorphisms: associations with myocardial infarction and lipoprotein levels, the ECTIM study. *J Lipid Res* 1995; 36(10): 2141-6.

21. Jemaa R, Tuzet S, Portos C, Betoulle D, Apfelbaum M, Fumeron F. Lipoprotein lipase gene polymorphisms: associations with hypertriglyceridemia and body mass index in obese people. *Int J Obes Relat Metab Disord* 1995; 19(4): 270-4.

22. Mattu RK, Needham EWA, Morgan R, Rees A, Hackshaw AK, Stocks J, et al. DNA variants at the LPL gene locus associate with angiographically defined severity of atherosclerosis and serum-lipoprotein levels in a Welsh population. *Arterioscler Thromb* 1994; 14(7): 1090-7.

23. Javorský M, Gasperíková D, Ukropec J, Sedláková B, Riecanský I, Krizanová O, et al. Lipoprotein lipase HindIII polymorphism influences HDL-cholesterol levels in statin-treated patients with coronary artery disease. *Wien Klin Wochenschr* 2007; 119(15-16): 476-82.

24. Larson L, Hoffmann MM, Ordovas JM, Schaefer EJ, Marz W, Kreuzer J. The lipoprotein lipase Hind III polymorphism: Association with total cholestrol and LDL-c, but not with HDL and Triglycerides in 342 females. *Clin Chem* 1999; 45(7): 963-8.

25. Stancáková A, Baldaufová L, Javorský M, Kozárová M, Salagovic J, Tkác I. Effect of Gene Polymorphisms on Lipoprotein Levels in Patients with Dyslipidemia of Metabolic Syndrome. *Physiol Res* 2006; 55(5):483-90.

26. Georges JL, Régis-Bailly A, Salah D, Rakotovao R, Siest G, Visvikis S, et al. Family study of lipoprotein lipase gene polymorphisms and plasma triglyceride levels. *Genet Epidemiol* 1996; 13(2): 179-92.

27. Vohl MC, Lamarche B, Moorjani S, Prud'homme D, Nadeau A, Bouchard C, et al. The lipoprotein lipase Hind III polymorphism modulates plasma triglyceride levels in visceral obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15(5): 714-20.

28. Ukkola O, Garenc C, Perusse L, Bergeron J, Despres JP, Rao DC, et al. Genetic Variation at the lipoprotion lipase locus and plasma lipoprotein and insulin levels in the Quebec Family study. *Atherosclerosis* 2001; 158(1): 199-206.

29. Razzaghi H, Aston CE, Hamman RF, Kamboh MI. Genetic screening of the lipoprotein lipase gene for mutations associated with high triglyceride/low HDL-cholesterol levels. *Hum Genet* 2000; 107(3): 257-67.

30. Enerbäck S, Ohlsson BG, Samuelsson L, Bjursell G. Characterization of the human lipoprotein lipase (LPL) promoter: evidence of two cis-regulatory regions, LP-alpha and LP-beta, of importance for the differentiation-linked induction of the LPL gene during adipogenesis. *Mol Cell Biol* 1992; 12(10): 4622 –33.

31. Anderson JL, King GJ, Bair TL, Elmer SD, Muhlestein JB, Habashi J, et al. Association of lipoprotein lipase gene polymorphisms with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33(4): 1013-20.

32. Shimo-Nakanishi Y, Urabe T, Hattori N, Watanabe Y, Nagao T, Yokochi M, et al. Polymorphism of the lipoprotein lipase gene and risk of atherothrombotic cerebral infarction in the Japanese. *Stroke* 2001; 32(7): 1481-6.

33. Abu-Amero KK, Wyngaard CA, Al-Boudari OM, Kambouris M, Dzimiri N. Lack of Association of Lipoprotein Lipase gene polymorphisms with coronary artery disease in the Saudi Arab population, *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127(5): 597-600.

34. Rios DL, Vargas AF, Ewald GM, Torres MR, Zago AJ, Callegari-Jacques SM, et al. Common variants in the lipoprotein lipase gene in Brazil: association with lipids and angiographically assessed coronary atherosclerosis. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41(10): 1351-6.

# Association between Lipoprotein Lipase Hind III Polymorphism and Serum Levels of Lipids in Semnan City

**Bandegi A.R., Ph.D[1*]., Firoozray M., Ph.D[2]., Akbari Eydgahi M.R., Ph.D[3].**

1. Assistant Professor of Clinical Biochemistry, School of Medicine, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran
2. Professor of Biochemistry, School of Basic Sciences, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Assistant Professor of Biotechnology, Biotechnology Research Center, Semnan University of Medical Sciences, Semnan, Iran

* Corresponding author; e-mail: arbandegi@yahoo.com

(Received: 28 Feb. 2011 Accepted: 13 Dec. 2011)

## Abstract

**Background & Aims:** Lipoprotein lipase (LPL) is one of the key enzymes regulating the metabolism of triglycerides (TG) and HDL cholesterol. The lipoprotein lipase (LPL) gene polymorphisms are possibly involved in the pathophysiology of dyslipidemia. Hind III polymorphism is one of the most common polymorphisms in LPL gene. In some studies, association of Hind III polymorphism with dyslipidemia has been reported. Due to the high incidence of dyslipidemia in Iranian adults, this study was designed to investigate the frequency of rare allele ($H^-$) LPL gene Hind III polymorphism and its association with serum lipids levels in an Iranian population,

**Methods:** Total genomic DNA was prepared from 76 Iranian patients with hyperlipidemia [ Total cholesterol (TC) > 200 mg/dl, Triglyceride (TG) > 150 mg/dl] and 75 healthy subjects (TC < 200 mg/dl, TG < 150). The Hind III polymorphism was analyzed by polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism.

**Results:** The frequencies of the Hind III polymorphism minor allele ($H^-$) were 17 and 30 in the case and control groups respectively ($P<0.01$). In the case group, patients with $H^+H^+$ genotype had significantly higher mean total cholesterol (TC) and low density lipoprotein (LDL), compared to those with $H^+H^-$ and $H^-H^-$ genotypes ($P< 0.05$).

**Conclusion:** The presence of rare $H^+$ allele was associated with increased TC and LDL-c levels in the studied population. The association between the LPL gene Hind III polymorphism and dyslipidemia is quite complicated and genotyping of LPL Hind III polymorphism in a larger-scale screening and with other polymorphisms is necessary and justifiable.

**Keywords:** Lipoprotein Lipase, Hind III Polymorphism; Hyperlipidemias

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2012; 19(3): 233-242