

Relationship between Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2 Gene Expression Level and Lipid Profile

Seyed Reza Hosseini-Fard¹,
Asghar Mohammadi¹,
Mohammad Naiafi²,
Mohammad Shabani²,
Gholamali Javedan³

¹ MSc Student in Clinical Biochemistry, School of Medicine, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

² Associate Professor, Department of Biochemistry, Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

³ Assistant Professor, Department of Nutrition, School of Medicine, Minimally Invasive Surgery Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received July 20, 2015 ; Accepted July 18, 2016)

Abstract

Background and purpose: Atherosclerosis is a form of arteriosclerosis that is one of the main causes of death in the world. In coronary artery disease, the vessels are stenosed due to lipid aggregation and inflammation. Epidemiologic studies have shown that in addition to demographic factors such as age and sex, blood pressure, smoking, obesity diabetes and genetics are also associated with development of atherosclerosis process. The aim of this study was to examine the relationship between these factors and atherosclerosis.

Materials and methods: One hundred twenty six Iranian subjects (68 males, 58 females) were recruited based on the study's inclusion criteria. Total RNA was extracted from WBC and, the gene expression level was determined by RT-qPCR method.

Results: Significant relationship was found between sex ($P<0.018$) and LDL-C ($P<0.05$) with *Sterol regulatory element-binding protein-2* gene expression. No correlation was observed between HDL-C, total cholesterol, and age with *Sterol regulatory element-binding protein-2* gene expression ($P>0.05$).

Conclusion: We found that among factors affecting atherosclerosis, sex and LDL-C could change the *Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2* gene expression.

Keywords: atherosclerosis, lipoproteins, *Sterol regulatory element-binding protein-2*

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(140): 24-32 (Persian).

بررسی ارتباط میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول با پروفایل لیپیدی

سیدرضا حسینی فرد^۱

اصغر محمدی^۱

محمد نجفی^۲

محمد شعبانی^۲

غلامعلی جاودان^۳

چکیده

سابقه و هدف: آترواسکلروزیس نوعی بیماری قلبی-عروقی بوده که به عنوان مهم ترین عامل مرگ و میر در جهان شناخته شده است. در آترواسکلروز شریان ها به دلیل ورود لیپیدها ضخیم تر شده و دچار التهاب می شوند. مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان داده اند که علاوه بر فاکتورهای دموگرافیک سن و جنس، کلسترول، سیگار، فشارخون، چاقی، دیابت و عوامل ژنتیکی نیز با پیشرفت آترواسکلروزیس در ارتباط هستند. کلسترول جریان خون به صورت لیپو پروتئین های مختلف حمل می شود که در این میان لیوپروتئین LDL (low density lipoprotein) بیش ترین نقش را در انتقال LDL و آترواسکلروزیس دارد. مقدار افزایش یافته کلسترول LDL (LDL-C) آغاز و پیشرفت آترواسکلروزیس را تسریع می کند. بنابراین با توجه به اهمیت LDL-C در بیماری های قلبی عروقی و تنظیم هومئوستاز کلسترول توسط پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول، هدف از این مطالعه بررسی رابطه میان سطح بیان ژنی این پروتئین با پروفایل لیپیدی، سن و جنس بوده است.

مواد و روش ها: در مطالعه مقطعی حاضر که در سال ۱۳۹۳ و در مرکز تحقیقات گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شد، در مجموع ۱۲۶ نفر از جمعیت ایرانی (۶۸ مرد و ۵۸ زن) براساس معیارهای مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. RNA سلول های سفید خون جداسازی شد و میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول به روش RT-qPCR تعیین گردید.

یافته ها: بین فاکتورهای جنس ($p < 0/018$) و LDL-C ($p < 0/05$) با میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول ارتباط معناداری وجود داشت. تفاوت معناداری بین کلسترول تام، HDL-C و سن با میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول دیده نشد ($p > 0/05$).

استنتاج: نتایج نشان داد که از میان فاکتورهای موثر در آترواسکلروز، جنس و LDL بر میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول موثر هستند.

واژه های کلیدی: آترواسکلروزیس، لیوپروتئین ها، پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول^۲

مقدمه

آترواسکلروزیس (Atherosclerosis) یک اختلال التهابی پیش رونده مزمن و شایع ترین فرآیند ایجاد کننده بیماری های قلبی عروقی است. آترواسکلروزیس نوعی بیماری قلبی عروقی بوده و به عنوان مهم ترین عامل

E-mail: asghar68m@gmail.com

مؤلف مسئول: اصغر محمدی - تهران: دانشگاه علوم پزشکی ایران

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۲. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

۳. استادیار، گروه تغذیه، مرکز تحقیقات جراحی کم تهاجمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۴/۲۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۴/۲۹ تاریخ تصویب: ۱۳۹۵/۴/۲۸

مرگ و میر در جهان شناخته شده است. در این اختلال پلاک التهابی فیروزه حاوی کلسترول استریفیه و هسته‌های نکروزه، سلول‌های ماهیچه‌ای صاف ملتهب، لیوپروتئین با چگالی پایین (LDL) تغییر یافته، سلول‌های اندوتلیال، لکوسیت‌ها و سلول‌های کفی در شریان‌های بزرگ و متوسط شکل می‌گیرند که در نهایت می‌تواند منجر به تنگی و پارگی رگ شود. با وجود این که دانش ما در مورد فرآیند آترواسکلروزیس رو به افزایش است، به طور بالقوه افراد دارای شرایط آترواسکلروزیس رو به افزایش بوده است. افزایش وزن، دیابت و فشارخون در کنار عدم تحرک و تمایل به غذاهای ناسالم، سبب شده است که آترواسکلروزیس از جنبه‌های مختلف مانند سیاسی، اقتصادی، علمی و پزشکی یک امر مهم تلقی شود. محققان تخمین زده‌اند که در دهه آینده، آترواسکلروزیس و بیماری‌های قلبی و عروقی مرتبط با آن به عنوان علت عمده مشکلات سلامت، اجتماعی و اقتصادی در سراسر جهان خواهد بود. کلسترول به دلیل خاصیت آمفی پاتیک، در ساختمان اکثر غشاهای سلولی شرکت می‌کند و پیش‌ساز اسیدهای صفراوی و هورمون‌های استروئیدی است (۱). کبد که منبع اصلی سنتز داخل سلولی کلسترول است همراه با روده نقش مرکزی در هومئوستاز کلی کلسترول بدن دارد. کلسترول در کبد به اسیدهای صفراوی تبدیل می‌شود و همراه با کلسترول آزاد به داخل صفرا ترشح می‌شود به طوری که امکان دفع کلسترول همراه با صفرا از طریق دستگاه گوارش فراهم می‌شود. بنابراین هومئوستاز کلسترول قویاً توسط تعادل بین سنتز داخل سلولی، برداشت غذایی و ترشح صفراوی تنظیم می‌شود. این تنظیم مهم است زیرا میزان زیاد کلسترول آزاد برای سلامتی می‌تواند تهدیدکننده باشد (۲). کلسترول جریان خون به صورت لیپو پروتئین‌های مختلف حمل می‌شود که در این میان لیوپروتئین LDL (low density lipoprotein) بیش‌ترین نقش را در انتقال LDL و آترواسکلروزیس دارد. بنابراین مقدار افزایش یافته کلسترول LDL (LDL-C) آغاز و پیشرفت

آترواسکلروزیس را تسریع می‌کند (۳،۱). از طرفی کاهش LDL-C خطر بیماری قلبی - عروقی را کاهش می‌دهد (۴). LDL-C عمدتاً به تعداد گیرنده‌های کبدی LDL (LDL Receptors (LDL-Rs)) بستگی دارد. تعداد زیاد LDL-Rs منجر به برداشت بیش تر ذرات LDL شده و غلظت LDL-C را پایین می‌آورد. LDL-Rs معمولاً روی تمامی سلول‌های پستانداران وجود دارند ولی کبد بیش‌ترین تعداد LDL-Rs را دارد (۵،۶). جهش‌ها در ژن LDL-R سبب کاتابولیسم ناقص LDL شده و به همین دلیل، جهش در این ژن از دلایل مهم بیماری نسبتاً شایع هیپرکلسترولمی خانوادگی محسوب می‌شود (۷). ژن کدکننده LDL-R روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد و به لحاظ رونویسی توسط پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول تنظیم می‌شود (۸). زمانی که کلسترول داخل سلولی کاهش می‌یابد پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول فعال می‌شود. مطالعات نشان داده است که درمان با استاتین منجر به رونویسی بیش‌تر ژن LDL-R شده و به دنبال آن سطح LDL-R بالا رفته و در نتیجه کلیرانس LDL-C افزایش می‌یابد. تغییرات سطح کلسترول داخل سلولی می‌تواند LDL-R را در سطح رونویسی توسط پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول تنظیم نماید (۹،۱۰). بیان LDL-R توسط عوامل هورمونی، تغذیه‌ای و دارویی نیز تنظیم می‌شود ولی مکانیسم‌های دقیق آن کم‌تر شناخته شده است (۱۰).

سیستم تنظیمی پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول در غشای آندوپلاسمی قرار گرفته و برای حفظ هومئوستاز کلسترول مهم است. این سیستم تنظیمی زمانی که مقادیر کلسترول داخل سلولی کاهش می‌یابد سبب افزایش سنتز و برداشت بیش‌تر کلسترول شده و زمانی که کلسترول زیاد است، منجر به کاهش تنظیم این فرآیندها می‌شود (۱۱). ارتباط مثبتی بین پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و HMG-CoA ردوکتاز، آنزیم محدودکننده سرعت سنتز کلسترول و سطح بیان LDL-MRNA در کبد انسان، مشاهده شده

است (۱۲). زمانی که محتوای کلسترول پایین است، پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول فعال شده و منجر به افزایش بیان HMG-CoA ردوکتاز و LDL-R می شود (۱۱-۱۷). بنابراین با توجه به اهمیت LDL-C در بیماری های قلبی عروقی و تنظیم هومئوستاز کلسترول توسط پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول، هدف از این مطالعه بررسی رابطه میان سطح بیان ژنی این پروتئین با پروفایل لیپیدی، سن و جنس بوده است.

مواد و روش ها

مطالعه حاضر به صورت مقطعی (Cross Sectional) در سال ۱۳۹۳ و در مرکز تحقیقات گروه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی ایران روی ۱۲۶ نفر انجام شد. تمام افرادی که در این مطالعه قرار گرفتند رضایت نامه کتبی را مطالعه و داوطلبانه امضاء نمودند. معیار ورود به مطالعه برای افراد شامل تعیین پروفایل لیپید، فقدان هرگونه بیماری متابولیک ژنتیکی مثل دیابت، سکته قلبی، بیماری های کبدی و بیماری های التهابی (لوپوس) بود.

نمونه گیری و تعیین پروفایل لیپید

به منظور بررسی سطح بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول از تمامی افراد ۱۰ میلی لیتر خون محیطی در حالت ناشتا گرفته شد. ۵ میلی لیتر آن به لوله های حاوی ضد انعقاد EDTA جهت جداسازی بافی کوت و ۵ میلی لیتر دیگر به لوله های فاقد ضد انعقاد جهت اندازه گیری پروفایل لیپیدی سرم منتقل شد. سپس نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۵۰۰ سانتریفیوژ شد. پس از جداسازی سرم، پلاسما و بافی کوت هر کدام به میکروتیوب های جداگانه منتقل گردید و تا زمان انجام آزمایش در ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. غلظت سرمی LDL-C، HDL-C، تری گلیسیرید (TG) و کلسترول تام (TC) با استفاده از کیت آزمایشگاهی (پارس آزمون، ایران) به روش دستی و با استفاده از اسپکتروفتومتر که اساس

آن رنگ سنجی است، اندازه گیری شد. پس از تعیین پروفایل لیپید با روش ذکر شده، افراد برحسب LDL-C به چهار گروه شامل گروه ۱ ($\leq 100 \text{ mg/dl}$)، گروه ۲ ($100-129 \text{ mg/dl}$)، گروه ۳ ($130-159 \text{ mg/dl}$) و گروه ۴ ($160-200 \text{ mg/dl}$) و بر حسب کلسترول تام به ۳ گروه شامل گروه ۱ ($\leq 200 \text{ mg/dl}$)، گروه ۲ ($200-239 \text{ mg/dl}$) و گروه ۳ ($\geq 240 \text{ mg/dl}$) دسته بندی شدند و سپس آنالیز داده ها بر اساس این دو گروه صورت گرفت. این معیار طبقه بندی برحسب بیوشیمی بالینی تیتز بود (۱۸).

استخراج RNA

تمام نمونه های بافی کوت با حفظ شرایط دمایی ۴ درجه سانتی گراد و هم چنین فراهم نمودن سایر شرایط محیطی، با استفاده از کیت (پارس طوس، ایران) و طبق پروتکل آن استخراج شد. جذب آن با اسپکتروفتومتری در طول موج ۲۶۰ نانومتر اندازه گیری شد و نسبت A_{260}/A_{280} جهت بررسی خلوص RNA جدا شده محاسبه گردید که اگر این نسبت در محدوده ۱/۸ تا ۲ بود، نشان دهنده خلوص مناسب RNA جدا شده بود. جهت اطمینان از درستی روش انجام کار و خلوص RNA، ۱۰ میکرولیتر از محلول حاوی RNA روی ژل آگارز ۲ درصد حاوی DNA Green Viewer (Bioran, Germany) و TBE 1X (PH=8 Tris Boric Acid) به مدت ۴۰ دقیقه در ولتاژ ثابت ۱۲۰ ولت الکتروفورز گردید و در دستگاه Gel doc مشاهده شد.

سنتز cDNA

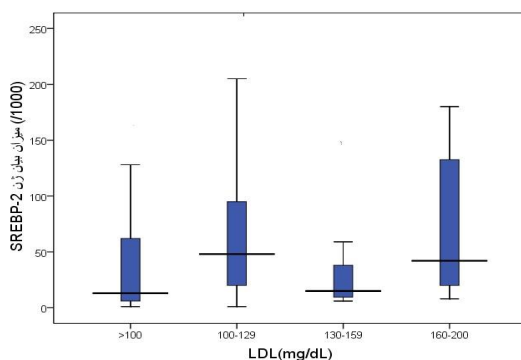
cDNA طبق پروتکل کیت سنتز cDNA (Takara, Japan) ساخته شد. در یک واکنش ۱۰ میکرولیتری، $6/5 \mu\text{L}$ از RNA توتال با غلظت حداکثر ۵۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر ($500 \text{ ngr}/\mu\text{L}$)، $2 \mu\text{L}$ بافر و از هر کدام از معرف های RT، Primer Oligo dT و Random Primer hexamer به مقدار $0/5 \mu\text{L}$ در یک میکروتیوب ریخته شد و مخلوط گردید. واکنش گرما

یافته ها

اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. نتایج نشان داد که بین بیان ژن مورد مطالعه و LDL-C ارتباط معنی دار وجود دارد ($p < 0/05$) به طوری که با بررسی بیش تر مشاهده شد که گروه های ۱ و ۴ ($p < 0/03$)، ۱ و ۲ ($p < 0/009$) و ۲ و ۴ ($p < 0/01$) از نظر میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول اختلاف معنی دار داشتند ولی تفاوت معنی داری بین گروه های ۱ و ۳ وجود نداشت ($p = 0/41$) (نمودار شماره ۱). از طرفی بین جنس و میزان بیان ژن ارتباط معنی دار وجود داشت ($p < 0/018$) به طوری که میزان بیان ژن در مردان بیش تر از زنان بود (نمودار شماره ۲). با وجود این که ارتباط معنی داری بین سطح بیان ژن و میزان کلسترول تام مشاهده نشد ($p = 0/62$) ولی بررسی های بیش تر نشان داد که با افزایش میزان کلسترول تام سطح بیان ژن نیز افزایش یافت (نمودار شماره ۳). با این حال میان سن و بیان ژن ($p = 0/18$) و هم چنین HDL با بیان ژن ($p = 0/58$) رابطه معنی داری حاصل نشد.

جدول شماره ۱: اطلاعات دموگرافیک افراد مورد مطالعه

پارامتر	انحراف معیار $\pm$ میانگین (n)
جنس (زن/مرد)	۶۸/۵۸
سن (سال)	۴۴ $\pm$ ۱۱
LDL-C (mg/dL)	۱۲۰ $\pm$ ۲۷
HDL-C (mg/dL)	۵۴ $\pm$ ۱۰
کلسترول تام (mg/dL)	۱۸۳ $\pm$ ۵۲
تری گلیسرید (mg/dL)	۲۰۰ $\pm$ ۱۲۲
شاخص توده بدن (متر/کیلوگرم)	۳۰ $\pm$ ۴



نمودار شماره ۱: رابطه میان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و LDL-C سرم

به مدت ۱۵ دقیقه در انکوباتور ۳۷ درجه سانتی گراد گذاشته شدند و سپس به مدت ۵ ثانیه در بن ماری ۸۰ درجه سانتی گراد قرار گرفتند.

Real Time qPCR

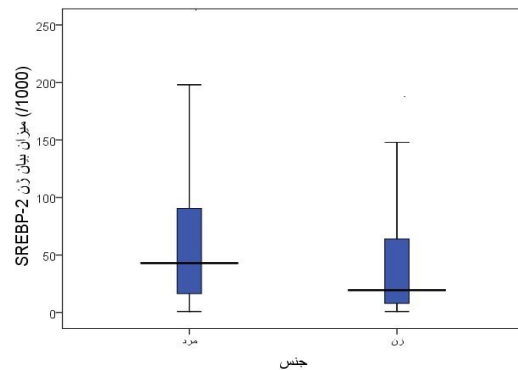
بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و ژن housekeeping بتا-اکتین (β -Actin) به روش RealTime qPCR و بر اساس اتصال رنگ آزاد سایر گرین به DNA دو رشته ای و با استفاده از پرایمرهای بالا دست و پایین دست انجام شد. ژن بتا-اکتین به عنوان ژن housekeeping استفاده شد. پرایمرهای ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و ژن بتا-اکتین از شرکت فزایوتک ایران تهیه شدند. سپس طبق پروتکل کیت سنتز cDNA (Qiagen)، cDNA با حجم نهایی ۲۰ μ L در میکروتیوب های جداگانه برای هر ژن به شکل زیر ساخته شد: ۵ μ L از مسترمیکس، ۲ μ L از پرایمرهای بالا دست و پایین دست از هر دو ژن، ۲ μ L از cDNA و ۱۲/۶ μ L آب RNase free در میکروتیوب ریخته و مخلوط شد. واکنش گرما در ترموسایکلر (RG-6000 Rotor-Gene-Corbett) RT-PCR در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه حرارت داده شدند. سپس تعداد ۳۵ سیکل با برنامه ۱۰ ثانیه ۹۵ درجه سانتی گراد، ۳۰ ثانیه ۶۳ درجه سانتی گراد انجام شد. تمام آزمایشات RT-PCR به صورت Triplicate انجام شد.

محاسبات آماری

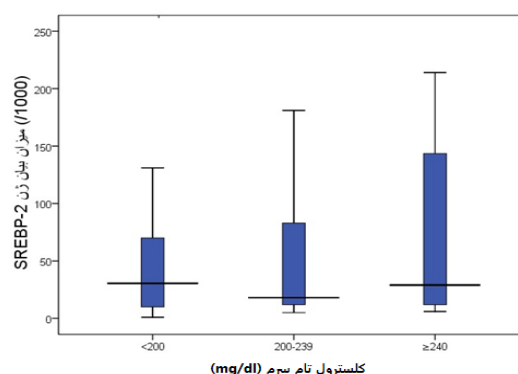
آنالیز آماری با استفاده از SPSS16 انجام شد. از آزمون One sample Kolmogorov Smirnov جهت نرمال یا غیر نرمال بودن توزیع داده ها استفاده شد. در این آنالیز هم چنین از آزمون های Kruskal Wallis، Mann-Whitney و رگرسیون خطی جهت بررسی روابط میان متغیرها استفاده شد. میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول به صورت نسبی و به روش $\Delta\Delta CT$ تجزیه و تحلیل شد.

به مقادیر کلسترول داخل سلولی و در سطح رونویسی عمل می‌کند به طوری که به هنگام کاهش کلسترول داخل سلولی میزان بیان ژن افزایش یافته و این به نوبه خود سبب افزایش بیان سه ژن HMG-CoA ، LDL-R و PCSK-9 می‌شود (۱۵-۱۱). افزایش بیان LDL-R سبب برداشت بیش تر کلسترول پلاسما شده و در نتیجه کلیرانس LDL-C را افزایش می‌دهد و بیان بیش تر HMG-CoA ردوکتاز سبب افزایش سنتز کلسترول داخل سلولی می‌شود ولی افزایش سنتز PCSK-9 سبب تجزیه LDL-R و در نتیجه کاهش کلیرانس LDL-C و افزایش LDL-C می‌شود (۱۰، ۱۳، ۱۶). عمل اخیر با دو مکانیسم بالایی در تضاد است به طوری که عملکرد PCSK-9 بر عملکرد LDL-R فایده‌مند شده و در کل سبب افزایش LDL-C می‌شود. این موضوع را می‌توان با آزمایشاتی که با استاتین به عنوان داروهای کاهنده کلسترول صورت گرفته است، نشان داد. این مکانیسم توضیح می‌دهد که چرا بسیاری از بیماران قلبی - عروقی با مقادیر بالای LDL-C ، تنها با درمان دارویی استاتین به اهداف درمانی نمی‌رسند (۲۴). بنابراین با توجه به مطالب فوق‌الذکر می‌توان گفت که افزایش بیان پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول در نهایت منجر به افزایش LDL-C می‌شود. مطالعات Bin Dong و همکارانش در سال ۲۰۱۰ نشان داد که درمان با دوز بالای استاتین منجر به افزایش بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول، LDL-R و PCSK-9 شده و بین افزایش بیان ژن و کلسترول تام ارتباط معنی‌دار وجود داشت. در این مطالعه گرچه ارتباطی بین ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و LDL-C مشاهده نشد ولی با افزایش ۱۸ درصدی LDL-C همراه بود اما برخلاف کلسترول تام و LDL-C ، تری‌گلیسرید شدیداً کاهش یافت در حالی که تغییری در میزان HDL حاصل نشد (۲۵).

در راستای مطالعات قبلی صورت گرفته نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز نشان داد که بین بیان ژن



نمودار شماره ۲: رابطه میان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و جنس



نمودار شماره ۳: رابطه میان سطح بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و کلسترول تام سرم

بحث

آترواسکروزیس یک اختلال التهابی پیش‌رونده مزمن و شایع‌ترین فرآیند ایجادکننده بیماری‌های قلبی و عروقی (CVD) است. این بیماری می‌تواند حاصل ریسک فاکتورهای محیطی، ژنتیکی یا برهمکنشی از آن‌ها می‌باشد (۱۹، ۲۰). سن، جنسیت، چاقی، افزایش میزان کلسترول و چربی خون، افزایش فشار خون، دیابت، سابقه فامیلی و مصرف سیگار از عوامل ایجادکننده آن می‌باشند. از میان این‌ها نقش LDL نسبت به سایر موارد برجسته‌تر جلوه داده شده است (۲۱). امروزه تمرکز اصلی وعده برای درمان بیماری آترواسکروزیس و بیماری‌های قلبی روی متابولیسم کلسترول می‌باشد (۲۲، ۲۳).

سیستم تنظیمی سطح کلسترول خون در غشاء شبکه آندوپلاسمی قرار گرفته که برای حفظ هومئوستاز کلسترول مهم است. در واقع این سیستم تنظیمی در پاسخ

پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و LDL-C رابطه معنی دار وجود داشت به طوری که با افزایش بیان ژن مقدار LDL-C نیز افزایش یافت. این درحالی است که ارتباط معنی داری بین بیان ژن و کلسترول حاصل نشد ولی با افزایش میزان کلسترول بیان ژن نیز افزایش یافت. بدین ترتیب می توان گفت که به نوعی یافته های مطالعه حاضر در رابطه با کلسترول و LDL-C با نتایج مطالعات Bin Dong و همکارانش (۲۵) مطابقت داشت. ولی با این وجود تفاوت هایی هم حاصل شد از جمله این که در مطالعه Bin Dong و همکاران (۲۵) رابطه معنی دار بیش تر در مقدار کلسترول تام بود درحالی که در مطالعه حاضر این رابطه بیش تر در مقدار عامل اصلی آترواسکلروزیس یعنی LDL-C حاصل شد که شاید این تفاوت مربوط به نمونه های مورد مطالعه، عوامل تغذیه ای، هورمونی و دارویی باشد چرا که مطالعه Bin Dong و همکاران (۲۵) درموش و تحت شرایط مصرف دارو صورت گرفته است ولی مطالعه حاضر در نمونه های انسانی و بدون هیچ گونه مداخله دارویی انجام شد.

در حالی که سن به عنوان ریسک فاکتور آترواسکلروزیس شناخته شده است به طوری که هم در انسان و هم در موش با افزایش سن میزان LDL-C افزایش و HDL-C کاهش می یابد (۲۴)، در مطالعه حاضر رابطه معنی داری بین افزایش بیان ژن و افزایش سن

مشاهده نشد. جنس نیز به عنوان ریسک فاکتور آترواسکلروزیس مطرح است که در این رابطه معمولاً مردان LDL-C بالاتر و HDL-C پایین تری نسبت به زنان دارند (۲۶). نتایج مطالعه حاضر نیز هم سو با این واقعیت بود به طوری که بین بیان ژن و جنس رابطه معناداری حاصل شد به این صورت که در مردان افزایش بیان ژن بیش تر از زنان بود که به نظر می رسد عوامل هورمونی نقش به سزایی در تغییرات مقدار کلسترول بین دو جنس داشته باشند. از طرفی همانند مطالعه Bin Dong و همکاران (۲۵) هیچ رابطه معناداری بین بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و مقدار HDL-C مشاهده نشد. شاید این نتایج گویای این مطلب است که تغییرات HDL-C تاثیری بر میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول و در نتیجه مقدار LDL-C ندارد. با این وجود مطالعات مختلف در رابطه با آترواسکلروزیس نشان داده است که افراد دارای مقادیر HDL-C پایین در معرض خطر بیماری های قلبی - عروقی قرار دارند (۲۸،۲۷).

در پایان می توان نتیجه گیری کرد که در جمعیت مورد مطالعه ایرانی از میان ریسک فاکتورهای مورد مطالعه در آترواسکلروزیس، LDL-C سرم و جنس بیش ترین نقش را در تغییرات میزان بیان ژن پروتئین متصل شونده به عنصر تنظیمی استرول داشته است.

References

1. Ibsen H. DSAM's clinical guidelines for prevention of ischemic heart disease 2007. Ugeskr Laeger 2007; 169(21): 2039.
2. Maeba R, Shimasaki H. Cholesterol (free cholesterol, esterified cholesterol). Nihon Rinsho 2001; 59(Suppl 2): 14-20.
3. Davis NE. Atherosclerosis an inflammatory process. J Insur Med 2005; 37(1): 72-75.
4. Duncan EM, Edward R. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001; 285(19): 2486-2497.
5. Auger A, Truong TQ, Rhainds D, Lapointe J, Letarte F, Brissette L. Low and high density lipoprotein metabolism in primary cultures of

- hepatic cells from normal and apolipoprotein E knockout mice. *Eur J Biochem* 2001; 268(8): 2322-2330.
6. Gwynne JT, Strauss JF. The role of lipoproteins in steroidogenesis and cholesterol metabolism in steroidogenic glands. *Endocr Rev* 1982; 3(3): 299-329.
 7. Guardamagna O, Restagno G, Rolfo E, Pederiva C, Martini S, Abello F, et al. The type of LDLR gene mutation predicts cardiovascular risk in children with familial hypercholesterolemia. *J Pediatr* 2009; 155(2): 199-204.e2.
 8. Field FJ, Born E, Murthy S, Mathur SN. Gene expression of sterol regulatory element-binding proteins in hamster small intestine. *J Lipid Res* 2001; 42(1): 1-8.
 9. Zhang L, Reue K, Fong LG, Young SG, Tontonoz P. Feedback regulation of cholesterol uptake by the LXR-IDOL-LDLR axis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2012; 32(11): 2541-2546.
 10. Scotti E, Hong C, Yoshinaga Y, Zelcer N, Boyadjian R, de Jong PJ, et al. Targeted disruption of the idol gene alters cellular regulation of the low-density lipoprotein receptor by sterols and liver x receptor agonists. *Mol Cell Biol* 2011; 31(9): 1885-1893.
 11. Hampton RY. Proteolysis and sterol regulation. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2002; 18: 345-378.
 12. Chan JC, Piper DE, Cao Q, Liu D, King C, Wang W, et al. A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106(24): 9820-9825.
 13. Horton JD, Shah NA, Warrington JA, Anderson NN, Park SW, Brown MS, Goldstein JL. Combined analysis of oligonucleotide microarray data from transgenic and knockout mice identifies direct SREBP target genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100(21): 12027-12032.
 14. Maxwell KN, Soccio RE, Duncan EM, Sehayek E, Breslow JL. Novel putative SREBP and LXR target genes identified by microarray analysis in liver of cholesterol-fed mice. *J Lipid Res* 2003; 44(11): 2109-2119.
 15. Sato R. Sterol metabolism and SREBP activation. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501(2): 177-181.
 16. McPherson R, Gauthier A. Molecular regulation of SREBP function: the Insig-SCAP connection and isoform-specific modulation of lipid synthesis. *Biochem Cell Biol* 2004; 82(1): 201-211.
 17. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest* 2002; 109(9): 1125-1131.
 18. Burtis CA, Ashwood ER, Brunz DE. Lipids, Apolipoproteins and other risk factors for cardiovascular. In: Barbara G. Sawyer, editor. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. 6th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2014; 565-568.
 19. Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 165-197.
 20. Goldstein LB. Primary prevention of ischemic stroke: a guideline from the American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council: cosponsored by the Atherosclerotic Peripheral Vascular Disease Interdisciplinary Working Group; Cardiovascular Nursing Council; Clinical Cardiology Council; Nutrition, Physical Activity, and Metabolism Council; and the Quality of Care and Outcomes Research Interdisciplinary Working Group.

- Circulation 2006; 113(24): 873-923.
21. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97(18): 1837-1847.
 22. Vasan RS, Sullivan LM, Wilson PW, Sempos CT, Sundström J, Kannel WB, et al. Relative importance of borderline and elevated levels of coronary heart disease risk factors. *Ann Intern Med* 2005; 142(6): 393-402.
 23. Castanho VS, Oliveira LS, Pinheiro HP, Oliveira HC, de Faria EC. Sex differences in risk factors for coronary heart disease: a study in a Brazilian population. *BMC Public Health* 2001; 110(9): 663-666.
 24. Jung D, Kullak-Ublick GA. Hepatocyte nuclear factor 1 alpha: a key mediator of the effect of bile acids on gene expression. *Hepatology* 2003; 37(3): 622-631.
 25. Bin Dong, Minhao Wu, Hai Li, Fredric B. Kraemer, Khosrow Adeli, Nabil G. Strong induction of PCSK9 gene expression through HNF1 α and SREBP2: mechanism for the resistance to LDL-cholesterol lowering effect of statins in dyslipidemic hamsters. *J Lipid Res* 2010; 51(6): 1486-1495.
 26. Corpas E, Harman SM, Blackman MR. Human growth hormone and human aging. *Endocrine Reviews* 1993; 14(1): 20-39.
 27. Cameron SJ, Morrell CN, Bao C, Swaim AF, Rodriguez A, Lowenstein CJ. A Novel Anti-Inflammatory Effect for High Density Lipoprotein. *PLoS One* 2015; 10(12): e0144372.
 28. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *Circulation* 2002; 106(25): 3143-3421.