Original Article

A Study on Mutation of the Exon 10 of the LDLR gene in Hypercholesterolemia Patients in Ardebil, Iran

Maryam Ghadiry[1], Hashem Yaghoubi[2*]

1- M.Sc., Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran
2- Assistant Professor, Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran

**Corresponding Address: Postal Code: 5615731567, Department of Biology, Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, Iran*
Email: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

Received: 06/Apr/2017, Accepted: 17/May/2017

Abstract

Objective: Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant disease mainly attributed to mutations in the low-density lipoprotein receptor gene (LDLR). This study aims to investigate molecular changes in the LDLR gene in patients with high cholesterol in individuals from Ardebil Province, Iran.

Methods: We evaluated 100 patients with suspected FH from Ardebil Province. DNA samples using primers LDLR gene and exon 10 PCR-SSCP method was tested and modified bands on gel electrophoresis detected and subsequently examined by DNA sequencing.

Results: We evaluated 100 patients with suspected FH, 43 males and 66 females. The average age of 50.68 and 281.81 had average cholesterol levels of the subjects. In this study, we identified a polymorphism 1413G>A LDLR gene. Allele G, 70% of the population studied and the A allele is 30% of the subjects to be included.

Conclusion: The findings of this study showed that polymorphism of the LDLR gene in FH 1413GA was not the main role, but could indirectly affect, and possibly other exons of the gene or other genes in the development of FH in the region have.

Keywords: Familial hypercholesterolemia, Low-density lipoprotein receptor gene, PCR-SSCP

Pathobiology Research, Vol. 20 (2017-2018), No.1, Pages: 43-51

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

مقاله اصیل

بررسی اگزون ۱۰ ژن LDLR در بیماران هیپرکلسترولمی در جمیعت استان اردبیل

مریم قدیری[۱]، هاشم یعقوبی[۲*]

۱- کارشناس ارشد، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران
۲- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران

*آدرس نویسنده مسئول: ایران، اردبیل، کدپستی: ۵۶۱۵۷۳۱۵۶۷، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، گروه زیست شناسی
Email: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

دریافت مقاله: ۹۶/۰۱/۱۷ پذیرش مقاله: ۹۶/۰۲/۲۷

چکیده

هدف: هیپرکلسترولمی فامیلی بیماری غالب اتوزومی است که اغلب به‌دلیل جهش در ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین ایجاد می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی تغییرات مولکولی در ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین در بیمارانی با کلسترول بالا در جمیعت استان اردبیل است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۱۰۰ بیمار مشکوک به هیپرکلسترولمی فامیلی از جمیعت استان اردبیل بررسی شدند. DNA نمونه‌ها با استفاده از آغازگر اگزون ۱۰ ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین و روش PCR-SSCP آزمایش شد و باندهای تغییر یافته روی ژل الکتروفورز تشخیص داده شد و متعاقباً توسط روش تعیین توالی DNA بررسی شد.

نتایج: در مجموع در مطالعه حاضر ۱۰۰ بیمار مشکوک به هیپرکلسترولمی فامیلی مطالعه شدند که از این تعداد ٤٣ نفر مرد و ٦٦ نفر زن بودند. میانگین سنی افراد ۵۰/٦٨ و میانگین کلسترول افراد مورد مطالعه ۲۸۱/۸۱ بود. در این مطالعه یک چندریختی 1413G>A ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین شناسایی شد که فراوانی آلل G، ۷۰ درصد از جمیعت مورد مطالعه و آلل A نیز ۳۰ درصد از افراد مورد مطالعه را شامل می‌شد.

نتیجه‌گیری: یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که چندریختی 1413G>A ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین در هیپرکلسترولمی فامیلی نقش اصلی ندارد ولی می‌تواند به‌طور غیر مستقیم تأثیر بگذارد و احتمالاً اگزون‌های دیگر این ژن یا ژن‌های دیگر در ایجاد هیپرکلسترولمی فامیلی در این منطقه نقش دارند.

کلید واژگان: هیپرکلسترولمی فامیلی، ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگالی پایین، PCR-SSCP

پژوهش‌های آسیب شناسی زیستی، دوره ۲۰، شماره ۱، بهار ۱۳۹۶، صفحات: ۱-۹

مقدمه

هیپرکلسترولمی فامیلی (Familial Hypercholesterolemia: FH) با افزایش غلظت پلاسمایی کلسترول و لیپوپروتئین با چگالی پایین (Low-density lipoprotein: LDL) مشخص می شود، فنوتیپ بالینی این بیماری همراه با افزایش خطر بیماری‌های قلبی-عروقی و مرگ زودهنگام است [۱]. بیش از ده میلیون نفر در سراسر جهان از این بیماری رنج می‌برند [۲].

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

FH یک بیماری ژنتیکی غالب اتوزومی است کـه در اثـر جهش در یکی از سه ژن گیرنده لیپوپروتئین با چگـالی پـایین (Low Density Lipoprotein Receptor: LDLR)، آپـــوپروتئین B (Apolipoprotein B :APOB) و PCSK9 (Proprotein convertase subtilisin/kexin type 9) رخ می‌دهد [۳، ٤]. FH اغلب به‌دلیل جهـش در ژن گیرنـده LDL ایجاد می‌شود [۵].

شایع‌ترین علت ژنتیکی FH، جهش‌های ژن کدکننده گیرنده LDL است. این ژن با اندازه تقریبی ٤۵ کیلوباز متشـکل از ۱۸ اگـــزون و ۱۷ اینتـــرون روی بـــازوی کوتـــاه کرومـــوزوم ۱۹ (19p3.13) واقع شده است. این ژن شـش ناحیـه عملکـردی مربوط به پروتئین گیرنده LDL را کد می‌کند که متشکل از ۸٦۰ اسید آمینه است [۵]. کاهش در فعالیت گیرنده LDL منجر بـه کـاهش کاتابولیســم کلســترول LDL (LDL-C) و در نتیجـه افزایش سطح کلسترول خون می‌شود [٦]. تاکنون بیش از ٦۰۰ جهش، شامل جایگزینی، حذف‌های کوچک و درج نوکلئوتیدی در ژن گیرنده LDL گزارش شده است. جهـش‌هـای بـدمعنی (Missense) در ناحیه پیوندی گیرنده LDL به‌وسـیله FH و بیماری عروق کرونر نا به‌هنگام مشخص شده‌است و حدود ۰/۲ درصد از جمعیت کل جهان (بیشـتر از ۱۰ میلیـون) از لحـاظ ژنتیکی مستعد ابتلا به این بیماری هستند [۷].

تحقیقات متعدد و گسترده‌ای برای شناسایی علل مولکولی و ژنتیکی افزایش کلسترول خون انسان در جمعیت‌های مختلف دنیا صورت گرفته است؛ این در حالی است که در کشور ایران تعداد و نوع این تحقیقات بسیار اندک و محدود است [۲].

بررسی‌ها نشان داد که تاکنون مطالعـه روی هـیچ‌کـدام از اگزون‌هـای ژن LDL روی جمعیـت اسـتان اردبیـل صـورت نگرفته است و همچنین از بین ۱۸ اگزون ژن LDL تحقیقـات خیلی کم در مورد اگزون۱۰ژن گیرنده LDL صـورت گرفتـه اسـت. از ایـن رو در ایـن مطالعـه هـدف بررسـی فراوانـی جهش‌های اگزون ۱۰ ژن گیرنده LDL در استان اردبیل است تا شاید نتایج آن در بهبود پیش‌آگهی و اطلاع‌رسانی زودهنگام در راستای کاهش مرگ و میر ناشی از ضایعات قلبی-عروقی و افزایش شاخص امید به زندگی مؤثر باشد.

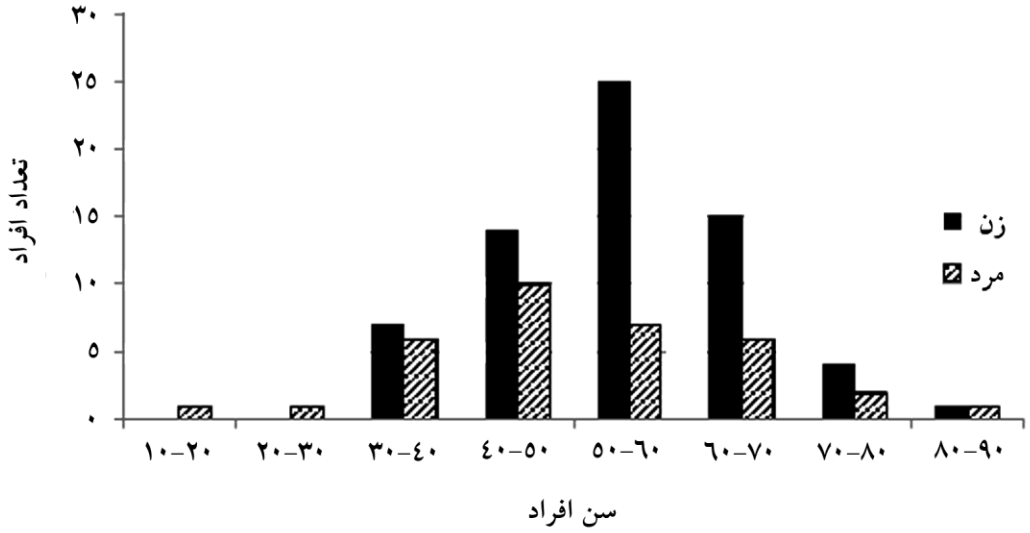
مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر یک پژوهش توصیفی-آزمایشگاهی است که در سال ۱۳۹۳ روی ۱۰۰ نفر از بیماران مشـکوک بـه FH کـه دارای سابقه فامیلی بودند و همچنین دارای کلسترول بـیش از ۲٤۰ میلی‌گرم/دسی‌لیتر بودند، انجام شد. این مطالعه طی نامـه به شماره ۵/۹۳/۱۷۳۷/ب مورخ ۹۳/۷/۵ به تأیید کمیته اخـلاق پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل رسیده و بـا کسـب رضایت‌نامه شخصی، این افـراد وارد مطالعـه شـدند. بیمـاران شامل ٦٦ زن و ۳٤ مرد با میانگین سنی۵۰/۷ سال بودند (جدول ۱). پراکندگی سنی بیماران در شکل ۱ آورده شده است.

جدول ۱ ویژگی‌های بیوشیمیایی و بالینی افراد مورد مطالعه

پارامتر	بیمار	مرد	زن	مقادیر استاندارد
تعداد	۱۰۰	۳٤	٦٦	
سن	۵۰/۷	۵۱/۵	۵۰	
کلسترول کل(میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۲۸۱/۸	۲۸۱/۳	۲۸۲/۳	طبیعی <۲۰۰ بالا >۲٤۰
تری گلیسرید (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۲۷۰	۲۸۷/٦	۲۵۲/٤	٤۰-۱٦۰
LDL (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۱٦۹/۸	۱٦٦/٦	۱۷۳	۳۵-۵۰
HDL (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	٤۹/۷	٤٤/٦	۵٤/۸	طبیعی <۱۰۰ بالا >۱۳۰

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]



شکل ۱ نمودار میله‌ای سن افراد

از کلیه بیماران با کسب رضایت میزان ۵ میلی‌لیتر خون در لوله آزمایش محتوی اتیلن دی آمین ترا استیک اسید (EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid) ۰/۵ مولار برای آزمایش‌های مولکولی گرفته شد و میزان کلسترول و تری گلیسرید و LDL و HDL با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر bT3000 اندازه‌گیری شد.

برای آزمایش‌های مولکولی، DNA کلیه نمونه‌های خون با استفاده از روش پروتئیناز K استخراج شد. اگزون ۱۰ ژن LDLR به‌وسیله آغازگرهای اختصاصی (جدول۲) طراحی شده با برنامه الیگو ۷ و با روش PCR تکثیر داده شد و با استفاده از روش SSCP ارزیابی شد و نمونه‌هایی که دارای الگوی متفاوتی از افراد نرمال بودند، برای تعیین توالی انتخاب شدند.

جدول ۲ توالی آغازگر اگزون ۱۰ ژن LDLR و اندازه محصول PCR

اگزون	توالی	T_m	اندازه
۱۰	3′-GAGAATGATCTGCAGGTGAG-F :5′	۶۰	۳۹۲ (جفت باز)
	3′-GTTCCTGAAGCTCCTTCCTG-R :5′	۶۲	

برای مطالعه جهش‌های مربوط به ژن LDLR هر نمونه واکنش PCR شامل ۱ میکرولیتر از آغازگر F، ۱ میکرولیتر از آغازگر R، ۱/۸ میکرولیتر $MgCl_2$، ۲/۵ میکرولیتر Buffer (۱۰x)، ۰/۵ میکرولیتر dNTP و یک واحد Taq DNA polymerase، ۳ میکرولیتر DNA را در میکروتیوپ ریخته و با آب مقطر دیونیزه (ddH_2O) به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. میکروتیوپ‌ها سپس تحت شرایط دمایی واسرشت اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲ دقیقه و سپس ۳۱ چرخه شامل واسرشت (Denaturation) در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه، اتصال (Annealing) در ۵۶ درجه سانتی‌گراد

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

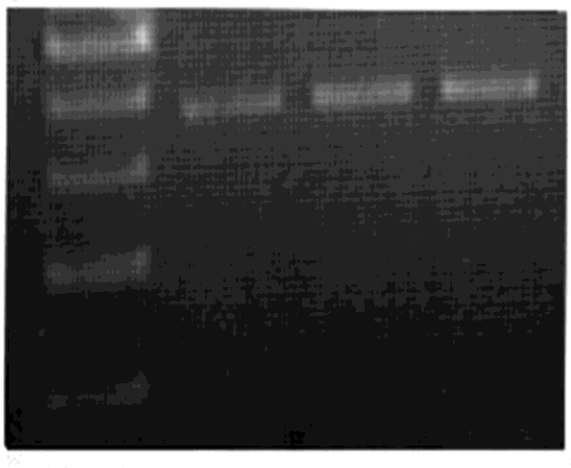
به‌مدت ۱۵ ثانیه، طویل شدن (Extension) در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ ثانیه و سپس ۱ چرخه طویل‌سازی نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳ دقیقه با استفاده از دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت و توالی‌های مورد نظر تکثیر شد. محصولات PCR به‌دست آمده روی ژل آگارز ۲ درصد و تحت ولتاژ ۱۰۰ ولت به‌مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز شد و سپس توسط رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید (Ethidium bromide) و عکس‌برداری از ژل مشاهده شد.

سپس محصول PCR با استفاده از روش PCR-SSCP (polymerase chain reaction/single-strand conformation polymorphism) بررسی شد. برای هر نمونه ۲/۵ میکرولیتر از محصول PCR را با ۵ میکرولیتر از لودینگ بافر مخصوص SSCP در یک میکروتیوپ مخلوط شد، سپس میکروتیوپ‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹٤ درجه سانتی‌گراد در ترموسایکلر قرار داده شد تا دو رشته DNA از هم جدا شوند، سپس بلافاصله میکروتیوپ‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه روی یخ قرار داده شد.

ژل پلی‌آکریل آمید مربوط به SSCP از بیس آکریل آمید/آکریل آمید تهیه شد و در تانک الکتروفورز عمودی قرار گرفت. سپس محصول PCR آماده شده برای SSCP به داخل چاهک‌های ژل ریخته شدند. و ولتاژ 100V به‌مدت ۱۵ ساعت اعمال شد. پس از اتمام الکتروفورز ژل پلی‌آکریل آمید با استفاده از نیترات نقره رنگ‌آمیزی و باندهای تشکیل شده بررسی شد.

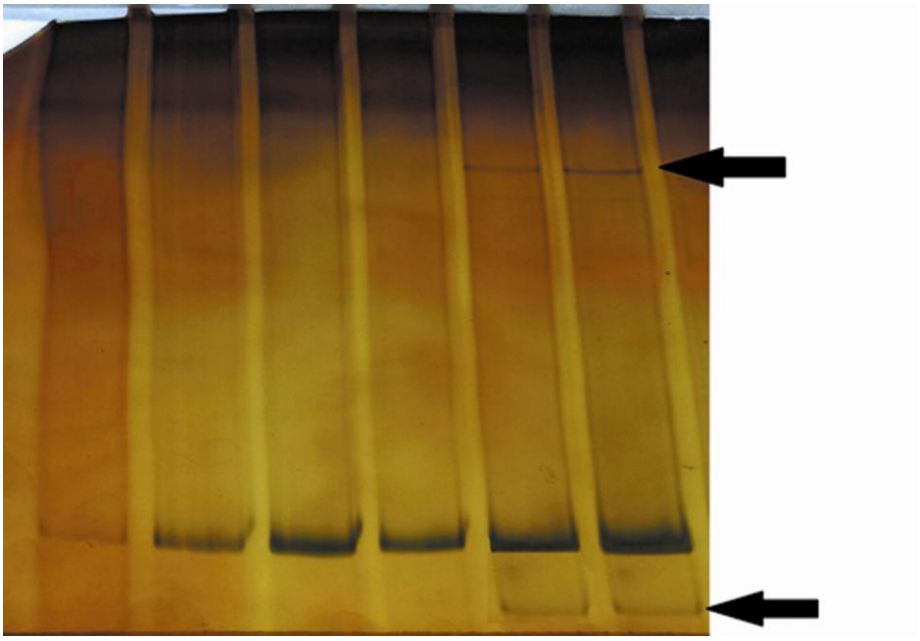
نتایج

همه نمونه‌ها با استفاده از آغازگر اگزون ۱۰ ژن LDLR به‌وسیله PCR تکثیر شد و وجود باند مورد نظر برای آن‌ها با الکتروفورز تأیید شد (شکل ۲). سپس محصولات PCR مربوط به اگزون مورد نظر با استفاده از روش SSCP روی ژل پلی‌آکریل آمید بررسی شد و با توجه به اختلاف در الگوی باندهای پدید آمده روی ژل، مواردی که تغییراتی در آن‌ها مشاهده شده بود برای تعیین توالی انتخاب شد (شکل ۳) که در این مطالعه چندریختی (Polymorphism) 1413G>A در ۳۰ درصد افراد مورد مطالعه شناسایی شد (شکل ٤). این جهش یک چندریختی است که در سطح پروتئین اسیدآمینه آرژنین را به کدون دیگر آرژنین تبدیل می‌کند.

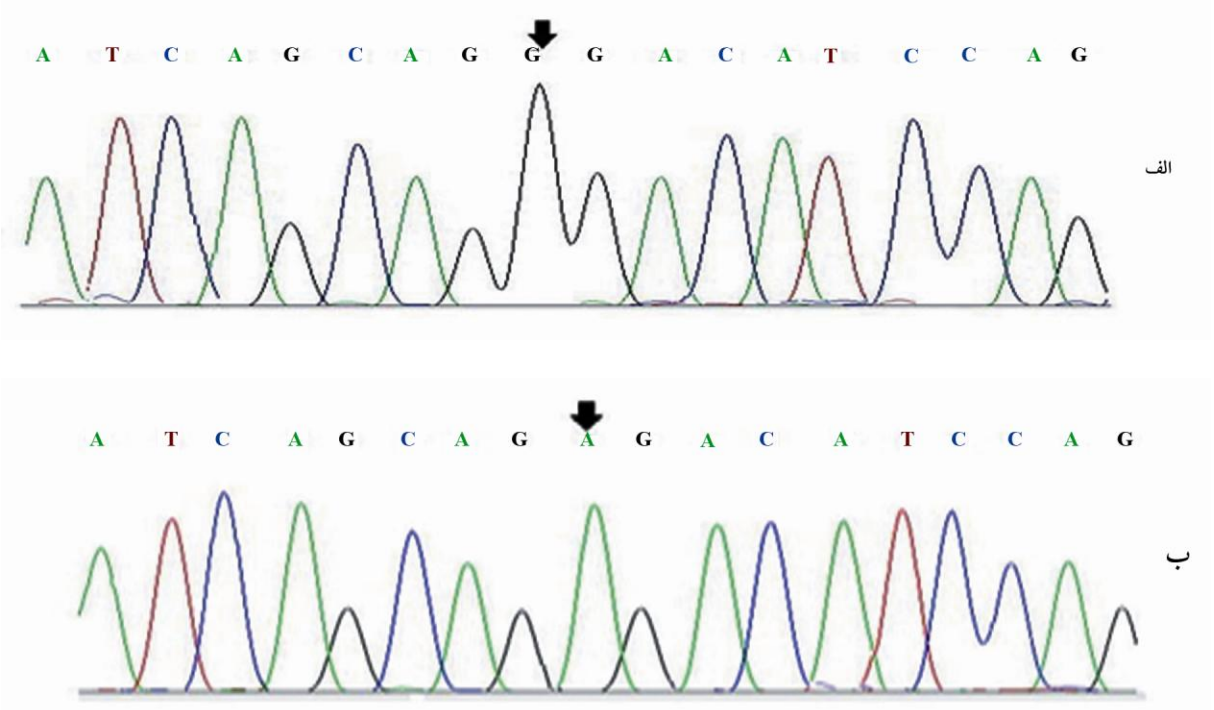


شکل ۲ الکتروفورز محصول PCR ژن LDLR

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]



شکل ۳ الکتروفورز محصولات PCR اگزون ۱۰ با استفاده از روش SSCP



شکل ٤ نتایج حاصل از روش توالی‌یابی DNA؛ الف) توالی فرد سالم، ب) توالی حاوی چندریختی 1413G>A

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

بحث

ژن گیرنـده LDL دارای ۱۸ اگـزون و ۱۷ اینتـرون روی بازوی کوتاه کروموزوم ۱۹ انسان واقـع شـده و بـیش از ٦۰۰ جهش تاکنون در ژن گیرنده LDL گزارش شده است که ایـن جهش‌ها در جمعیت‌های مختلف متنوع هستند [۸].

در این مطالعه بـه بررسـی جهـش اگـزون ۱۰ ژن LDLR پرداخته شد و اینکه آیا جهـش اگـزون ۱۰ ژن LDLR نقشـی در ایجاد هیپرکلسترولمی دارد کـه پـس از انجـام روش‌هـای SSCP و سـپس تعیـین تـوالی یـک مـورد پلـی‌مورفیسـم 1413G>A تشخیص داده شد.

در جوامع مختلف گزارش‌های متفاوتی از فراوانی و انواع جهش ها در ژن مزبـور ارایـه شـده اسـت کـه بیشـترین ایـن جهش‌ها از نوع جابه‌جایی بوده است.

مطالعات وسـیعی در بسـیاری از منـاطق ازجملـه اروپـا، آمریکا، شمال آفریقا و نواحی از آسیا صـورت گرفتـه اسـت. نتـایج نقـص در عملکـرد و سـاختمان ژن LDLR بـا ایجـاد فنوتیپ FH را تأیید می‌کند [۹]. در نـواحی غـرب و جنـوب آسیا، جمیعت های خاصی از ساکنین ترکیه، عربستان، سـوریه، قبرس، کویت و ایران مطالعاتی صورت گرفته است، اما نتایجی پراکنده و اطلاعات بسیار محدودی به‌دست آمده است [۱۰].

در مطالعه‌ای در کشور ژاپن بروی کلیه اگزون‌ها و ناحیـه پروموتر انجام گرفته در ٦۲/۵ درصـد بیمـاران مـورد مطالعـه جهش های متفاوت این ژن گزارش شده است. در این مطالعـه جهش های نقطه‌ای جدید در هر خانواده شناخته شد. ۱)تبدیل C به A در نوکلئوتید ۲۸۵، باعث جهش بی معنـی در کـدون ۷٤ در ۸ نفـر از اعضـای خـانواده A، ۲)تبـدیل G بـه A در نوکلئوتید ۱۱۳٦، باعث جـایگزینی تیـروزین بـا سیسـتئین در کدون ۳۵۸ در ٦ نفر از اعضای خانواده B، ۳)تبـدیل C بـه T در نوکلئوتید ۱۸۲۲، باعـث جـایگزینی سـرین بـا پـرولین در کدون ۵۸۷ در ۵ نفر از اعضای خانواده C، ٤)اضافه شدن یک تـک بـاز G در نوکلئوتیـد ۱۷۷٤-۱۷۷۸ (کـدون ۵۷۱-۵۷۲) موجب تغییر چارچوب در ٦ نفر از اعضای خـانواده D و ۵) حذف تک بـاز T در نوکلئوتیـد ۱۹٦۳-۱۹٦٤ (کـدون ٦۳٤)، ایجـاد تغییـر چـارچوب در ۳ نفـر از اعضـای خـانواده E تشخیص داده شد.از طریق روش ژنتیک مولکولی در مجمـوع ۲۸ نفر در این خـانواده‌هـا بـه جهـش LDLR هتروزیگـوت تشخیص داده شد [۱۱].

در مطالعه‌ای که در مراکش روی بیماران هیپرکلسـترولمی انجـام گرفـت، سـه جهـش جدیـد C25x، 1vs3+5G>T، D558A و دو جهشی که قـبلاً شـناخته شـده بـود (D151N، A480E) تشخیص داده شد [٤].

مطالعه‌ای که در هان چین انجام گرفت، در مجمـوع ۱٤۳ جهـش مختلـف در ژن LDLR مشـخص شـد کـه از جملـه شـایع‌تـرین آن‌هـا شـامل 986G>A، 1747C>T، 1879G>A، 268G>A است، بسـیاری از ایـن جهـش‌هـا در چـین، هنـگ کنگ و تایوان گزارش شده است [۱۲].

در مطالعه‌ای دیگر که روی بیماران FH در اسرائیل انجـام گرفت، دو جهش جدیـد P(E140A) و دیگـری در پرومـوتر C_191C>A شناخته شده اسـت. جهـش‌هـای C.2479G>A و P(V827I) در اگـــزون ۱۷ از ژن LDLR در ۸ بیمـــار تشخیص داده شد [۱۳].

در ایران در مورد جهش‌های ژن LDLR، ۲ مطالعه انجـام شده است. در یک بررسی بین ۳۰ بیمار مورد مطالعه در ایـران یک مورد تغییر ژنی(445G>A) گـزارش شـده اسـت و ادعـا شده که این تغییر ژنی احتمالاً بیماری‌زا است [۲].

در مطالعه دیگر در استان چهار محال و بختیاری روی ۱۸ اگـزون ژن LDLR انجـام شـد، در مجمـوع ۵ چنـدریختی مختلـــف در بیمـــاران تشـــخیص داده شـــد، 1413G>A، 1725C>T، 1773C>T، 2140+5G>A و 1959T>C و یک جهش هتروزیگوت 238T>A شناسایی کردند و بـه ایـن نتیجه رسیدند که نقش ژن LDLR در ایجاد FH در جمیعـت مورد مطالعه ضـعیف اسـت و احتمـالاً ژن یـا لوکـوس‌هـای دیگری در ایجاد FH نقش دارند [۱٤].

به‌نظر می رسد در جمیعـت اسـتان اردبیـل نیـز نقـش ژن

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

LDLR ضعیف باشد البته بایستی اگزون‌های دیگر این ژن و همچنین سایر ژن‌های مرتبط با FH نیز مطالعه شوند.

در هر حال آزمایش‌های ژنتیکی برای جهش‌های FH در LDLR می‌تواند به تشخیص FH کمک کند. از این رو وجود یک برنامه غربال‌گری پیشرفته می‌تواند برای تشخیص زودهنگام این بیماری کمک‌کننده باشد.

در این تحقیق یک اگزون از ۱۸ اگزون ژن LDLR بررسی شد، یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که چندریختی 1413G>A ژن LDLR در FH نقش اصلی ندارد ولی می‌تواند به‌طور غیر مستقیم تأثیر بگذارد. این چندریختی از انواع شایع است که از این چندریختی می‌توان در ردیابی جهش‌های مختلف استفاده کرد.

با توجه به‌وجود جهش‌های مختلف و پراکنده در اگزون‌های مختلف ژن LDLR و نیز در ژن‌های دیگر مانند APOB و PCSK9 شناسایی جهش‌ها نیاز به بررسی‌های گسترده در سایر اگزون‌ها و ژن‌ها دارد که در این تحقیق اگزون ۱۰ از ژن LDLR برای اولین بار در جمعیت استان اردبیل بررسی شد.

تشکر و قدر دانی

این مقاله نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد است. بدینوسیله از کلیه بیماران که در این مطالعه شرکت نمودند صمیمانه تشکر می‌نماییم.

منابع

[1] De Castro-Oros I, Pocovi M, Civeira F. The genetic basis of familia hypercholesterolemia: inheritance, linkage, and mutation. Appl Cilin Genet 2010; 3: 53-64.

[2] Fard Esfahani P, Zeinali C, Rouhi Dehboneh S, Taghikhani M, Khatami S. A novel mutation in exon 4 of the Low dencity lipoprotein receptor gene in an Iranian familial hypercholesterolemia patient. IBJ 2005; 9(3): 139-42.

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

[4] Chater R, Aït Chihab K, Rabès JP, Varret M, Chabraoui L, El Jahiri Y, Adlouni A, Boileau C, Kettani A, El Messal M. Mutational heterogeneity in low-density lipoprotein receptor gene related to familial hypercholesterolemia in Morocco. Clinica Chemica Acta 2006; 373(1-2): 62-9.

[5] Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. Science 1986; 232(4746): 34-47.

[6] Lombardi MP, Redeker EJ, Defesche JC, Kamerling SW, Trip MD, Mannens MM, Havekes LM, Kastelein JJ. Molocular genetic testing for familial hypercholesterolemia: spectrum of LDL receptor gene mutations in the Netherlands. Clin Genet 2000; 57(2): 116-24.

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

[8] Hobbs HH, Brown MS, Goldstein JL. Molecular genetics of the LDL receptor gene in familial hypercholesterolemia. Hum Mutat 1992; 1(6): 445-66.

[9] Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]

heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. J Clin Invest 1973; 52(7): 1544-68.

[10] Varret M, Rabes JP, Saint-Jore B, Cenarro A, Marinoni JC, Civeira F, Devillers M, Krempf M, Coulon M, Thiart R, Kotze MJ, Schmidt H, Buzzi JC, Kostner GM, Bertolini S, Pocovi M, Rosa A, Farnier M, Martines M, Junien C, Boileau C. A third major locus for autosomal dominant hypercholesterolemia maps to 1p32. 1-p32. Am J Hum Genet 1999; 64(5): 1378-87.

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

[12] Chiou KR, Charng MJ. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia in Han Chinese. J Clin Lipidol 2016; 10(3): 490-6.

[13] Durst R, Ibe UK, Shpitzen S, Schurr D, Eliav O, Futema M, Whittall R, Szalat A, Meiner V, Knobler H, Gavish D, Henkin Y, Ellis A, Rubinstein A, Harats D, Bitzur R, Hershkovitz B, Humphries SE, Leitersdorf E. Molecular genetics of familial hypercholesterolemia in Israel–revisited. Atherosclerosis 2017; 257: 55-63.

[14] Shayesteh F, Farrokhi E, Shirani M, Modarresi M, Roghani F, Hashemzadeh M. The study mutations of the 9 exons of LDLR gene in patients with familial hypercholesterolemia in Cheharmahal Bakhtiari province. AMUJ 2011; 13(4): 30-37. (Persian)

[Downloaded from mjms.modares.ac.ir on 2025-01-16]