

**ASSOCIATIONS BETWEEN eNOS AND AGT GENE  
POLYMORPHISMS WITH PRIMARY  
HYPERCHOLESTEROLEMIA AND CORONARY  
ARTERY DISEASE**

**TANAPORN PUNKRU**

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENTS FOR  
THE DRGREE OF MASTER OF SCIENCE  
(BIOCHEMISTRY)  
FACULTY OF GRADUATE STUDIES  
MAHIDOL UNIVERSITY  
2007**

**COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY**

ความสัมพันธ์ของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน อีโนส และเอจีที ในผู้ที่มีไขมันในเลือดสูงแบบปฐมภูมิ และโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน

(ASSOCIATIONS BETWEEN eNOS AND AGT GENE POLYMORPHISMS WITH PRIMARY HYPERCHOLESTEROLEMIA AND CORONARY ARTERY DISEASE)

ธนาพร พันธุ์ครู 4837670 SIBC/M

วท.ม.(ชีวเคมี)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์: อธิป ลิขิตลิลิต, M.Sc., ชาญ ศรีรัตนสถาวร, M.D.

#### บทคัดย่อ

โรคหลอดเลือดหัวใจเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยทางพันธุกรรมหลายชนิดโดยลักษณะที่แสดงออกมานั้นขึ้นกับความสัมพันธ์ของพันธุกรรมร่วมกับปัจจัยของสิ่งแวดล้อม จากการศึกษาพันธุกรรมหรือยีนที่เกี่ยวข้องกับเอ็นโอทีเอสไนตริกออกไซด์ซินเทส (eNOS) และแองจิโอเทนซิโนเจน (AGT) ซึ่งเป็นปัจจัยที่น่าสนใจในการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนทั้งสองต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ ความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิดการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนจากกลูตามัทเป็นแอสพาเรท ที่ตำแหน่ง 298 ของยีน eNOS และความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิดการเปลี่ยนเมไทโอนีนเป็นทรีโอนีนที่ตำแหน่ง 235 และเปลี่ยนทรีโอนีนเป็นเมไทโอนีน ที่ตำแหน่ง 174 ของยีน AGT ได้ถูกศึกษาและบ่งชี้ว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ แต่อย่างไรก็ตามปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจเนื่องจากความหลากหลายทางพันธุกรรมเหล่านี้ยังเป็นที่ถกเถียงกันอยู่ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนทั้งสองกับผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง และผู้ป่วยหลอดเลือดหัวใจกับเปรียบเทียบกับผู้ที่มีไขมันในเลือดปกติ (กลุ่มควบคุม) โดยมีกลุ่มผู้ที่มีไขมันในเลือดปกติ 105 คน, ผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง 103 คน และผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ 106 คน การศึกษาลักษณะจีโนไทป์ทำโดยวิธีการเพิ่มชิ้นส่วนพันธุกรรมที่เรียกว่า PCR-RFLP ในส่วนของยีน eNOS พบว่าความถี่ของจีโนไทป์ DD ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจ เท่ากับ 2.8% ซึ่งไม่พบจีโนไทป์ DD ในกลุ่มไขมันในเลือดปกติและกลุ่มผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง แต่อย่างไรก็ตามก็พบว่าความหลากหลายของยีน eNOS ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทั้งสามกลุ่ม ในส่วนของยีน AGT พบว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของจีโนไทป์ 235MT และอัลลีล M มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในกลุ่มผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูงเมื่อเทียบกับกลุ่มไขมันในเลือดปกติ ( $p=0.0003$ ,  $p=0.0200$ , respectively) จากค่า odds ratio พบว่าจีโนไทป์ MT และ อัลลีล M มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูง [(OR=3.0306, 95%CI: 1.6965-5.4139) และ (OR=1.774, 95% CI: 1.115-2.822) ตามลำดับ] แต่ไม่พบความสัมพันธ์นี้กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ สำหรับความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด T174M นั้น ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ต่อการเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อภาวะไขมันในเลือดสูงและโรคหลอดเลือดหัวใจเมื่อเทียบกับกลุ่มผู้ที่มีไขมันในเลือดปกติ นอกจากนี้ความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน eNOS E298D, AGT M235T และ AGT T174M ก็ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์ในระหว่างเพศและความดันโลหิตสูง จากการศึกษาปฏิกิริยาร่วมของยีน (synergistic effect) พบว่าผู้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน AGT ชนิด AGT 235 non-TT + eNOS EE (OR=2.675, 95%CI: 1.399 - 5.115,  $p=0.004$ ) และ AGT 235 non-TT + AGT 174 TT (OR=2.544, 95%CI: 1.363 - 4.750,  $p=0.003$ ) มีความสัมพันธ์ต่อการเป็นปัจจัยเสี่ยงสำหรับผู้ที่มีภาวะไขมันในเลือดสูง เมื่อศึกษาปฏิกิริยาร่วมของความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีน eNOS E298D, AGT M235T และ AGT T174M ต่อการเป็นปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจก็ไม่พบว่ามีผลต่อการเกิดโรคนี จากผลการศึกษาที่สรุปได้ว่าอัลลีล M และ จีโนไทป์ MT ของความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด M235T ของยีน AGT มีความสัมพันธ์กับภาวะไขมันในเลือดสูงในกลุ่มประชากรที่ศึกษานี้ โดยที่ความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด E298D ของยีน eNOS และความหลากหลายทางพันธุกรรมชนิด M235T และ T174M ของยีน AGT ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ

**ASSOCIATIONS BETWEEN eNOS AND AGT GENE POLYMORPHISMS WITH PRIMARY HYPERCHOLESTEROLEMIA AND CORONARY ARTERY DISEASE**

TANAPORN PUNKRU 4837670 SIBC/M

M.Sc. (BIOCHEMISTRY)

THESIS ADVISORS: ATIP LIKIDLILID, M.Sc. (BIOCHEMISTRY), CHARN SRIRATANASATHAVORN, M.D. (CARDIOLOGY)

**ABSTRACT**

Coronary artery disease (CAD) is a complex, multifunctional condition that results from interactions among various genetic and environmental influences. The genes coding for endothelial nitric oxide (eNOS) and angiotensinogen (AGT) have been shown as potential factors in the prognosis of CAD. E298D polymorphism of the eNOS gene, M235T and T174M polymorphisms of AGT gene have been defined as CAD risk factors. However, the polymorphisms of eNOS and AGT genes as risk factors for CAD are controversial. The aim of this present study was to investigate the association between primary hyperlipidemia, CAD and the polymorphisms of eNOS (E298D) and AGT (M235T and T174M) compared with healthy normolipidemia. The study included 105 unrelated healthy normolipidemic subjects, 103 hyperlipidemic subjects and 106 CAD patients. gDNA was extracted from leukocyte by Guanidine-HCl methods. eNOS E298D, AGT M235T and AGT T174M gene polymorphisms were analyzed by polymerase chain reaction (PCR) and restriction fragment length polymorphism (RFLP). For eNOS E298D polymorphism, the frequency of 298DD homozygous genotype was found 2.8% in CAD, but not found in hyperlipidemic and healthy normolipidemic subjects. However, the DD variant and D allele distribution frequencies among the three groups showed no significant differences. For AGT M235T polymorphism, it was found that the increase risk of hyperlipidemia is associated with higher frequencies of the AGT 235MT genotype (OR=3.0306, 95% CI: 1.6965-5.4139, p=0.0003) and AGT 235M allele [OR=1.774, 95% CI: 1.115-2.822, p=0.020]. AGT M235T variants did not show any association with risk of CAD. The AGT T174M polymorphism also showed no association with risk of hyperlipidemia and CAD compared with healthy normolipidemia. All polymorphisms (eNOS E298D, AGT M235T and AGT T174M) showed no significant difference between male and female, and hypertensive and normotensive in both healthy normolipidemic subjects and hyperlipidemic subjects. Carriers of AGT 235 non-TT + eNOS EE (OR=2.675, 95%CI: 1.399 - 5.115, p=0.004) and AGT 235 non-TT + AGT 174 TT (OR=2.544, 95%CI: 1.363 - 4.750, p=0.003) genotypes were significantly associated with the risk of hyperlipidemia. There were no synergistic effects of eNOS E298D gene polymorphism and both polymorphisms (M235T and T174M) of AGT gene on CAD. In conclusion, the present study provides evidence that M allele and MT genotype of AGT M235T gene polymorphism is associated with hyperlipidemia in this studied population. There were no correlation of eNOS E298D, AGT M235T and AGT T174M genetic variants on CAD and hypertension in this study.

**KEY WORDS:** ENDOTHELIAL NITRIC OXIDE SYNTHASE /  
ANGIOTENSINOGEN / HYPERCHOLESTEROLEMIA /  
CORONARY ARTERY DISEASE

159 pp.