

ارتباط پلی مورفیسم های G-308A و G-238A در پروموتور ژن TNF- α با چاقی در جمعیت ایرانی

کبری شریفی¹، دکتر فریدون عزیزی²، فاطمه رستمی³، دکتر مریم السادات دانشپور⁴، دکتر مهدی هدایتی^{5*}

- 1- کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- 2- استاد مرکز تحقیقات غدد، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- 3- کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- 4- مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
- 5- استادیار، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: بافت چربی می تواند فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا تولید نماید. سطوح افزایش یافته این سایتوکین با چاقی و مقاومت به انسولین در ارتباط است. هدف این مطالعه، بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم های G-308A و G-238A با چاقی در جمعیت ایرانی است.

مواد و روشها: افراد شرکت کننده در مطالعه قند و لیپید تهران در دو گروه سنی زیر 18 و بالای 18 سال دسته بندی شدند. افراد بالای 18 سال، بر اساس نمایه توده بدنی در سه گروه و افراد زیر 18 سال، بر اساس صدک BMI در دو گروه قرار گرفتند. در مجموع 244 نفر آنها جهت بررسی جایگاه 308- و 239 نفرشان جهت بررسی جایگاه 238- انتخاب شدند. بررسی پلی مورفیسم های مذکور با استفاده از تکنیک های PCR و RFLP انجام شد.

یافته ها: فراوانی ال های TNF- α از قانون هاردی واینبرگ تبعیت می کرد و هیچ یک از دو پلی مورفیسم مذکور، ارتباط معنی داری با نمایه توده بدنی نداشت.

نتیجه گیری: داده های این مطالعه حاکی از عدم وجود ارتباط بین پلی مورفیسم های G-308A و G-238A ژن TNF- α با چاقی بوده و بنابراین احتمالاً این پلی مورفیسم ها نقشی در افزایش خطر بروز چاقی و بیماری های مرتبط در جمعیت ایرانی ندارند.

واژگان کلیدی: چاقی، نمایه توده بدنی، پلی مورفیسم، فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا.

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Sharifi K, Azizi F, Rostami F, Daneshpour MS, Hedayati M. Association between TNF- α promoter G-308A and G-238A Polymorphisms and Obesity in Tehran Lipid Glucose Study population. *Pejouhandeh* 2011;15(6):247-56.

مقدمه

چاقی به طور چشمگیر در حال افزایش است و با بیماری هایی مانند سندروم متابولیک، دیابت نوع دو، چربی بالا و فشار خون ارتباط دارد (1). تأثیر چاقی بر ازدیاد اختلالات مرتبط با چاقی پیچیده است و احتمالاً ناشی از تعامل عوامل ارثی و اکتسابی

مانند تغذیه و فعالیت بدنی است (3 و 2). تحلیل ارتباطی در جمعیت سرخپوستان پیم، میان شاخص های نزدیک ژن فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF- α) در ناحیه 6p21 و چاقی، ارتباط بارزی را نشان داد (4). سایتوکین TNF- α ، به عنوان یک تنظیم کننده بیان ژن در سلول های چربی عمل می کند و سبب افزایش مقاومت به انسولین و چاقی می شود (5). بافت چربی یکی از منابع مهم تولید TNF- α است. بیان این سایتوکاین در بافت چربی و عضله انسانی در زمان ابتلا به چاقی افزایش می یابد (6 و 7). میان افزایش بیان TNF- α و سطح بالای انسولین و میزان دفع گلوکز در زمان استفاده از روش Glycemic clamp، ارتباط قابل ملاحظه ای گزارش شده

* نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر مهدی هدایتی؛ مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران؛ صندوق پستی: 19395-4763؛ تلفن: 21-22432500-(+98)؛ نمابر: 21-22416264-(+98).

پست الکترونیک: hedayati@endocrine.ac.ir

زن ($13/4 \pm 2/7$ ساله) و بالای 18 سال با میانگین سنی $43/1 \pm 1/6$ سال شامل 81 مرد ($45/9 \pm 16/5$ ساله) و 121 زن ($41/2 \pm 14/7$ ساله) به طور تصادفی و بر اساس معیارهای مذکور، جهت بررسی جایگاه 308- انتخاب شدند. تعداد افراد انتخاب شده در گروه جوانان به ترتیب 26 و 16، در گروه بزرگسال به ترتیب 75، 81 و 46 نفر بود. جهت بررسی جایگاه 238- نیز تعداد 239 نفر در دو گروه سنی زیر 18 سال با میانگین سنی $12/9 \pm 2/6$ سال شامل 17 مرد ($12/08 \pm 2/78$ ساله) و 24 زن ($13/85 \pm 2/66$ ساله) و بالای 18 سال با میانگین سنی $42/6 \pm 15/4$ سال شامل 78 مرد ($44/32 \pm 16$ ساله) و 120 زن ($40/91 \pm 14/81$ ساله) به طور تصادفی انتخاب شدند. تعداد افراد انتخاب شده در گروه جوانان به ترتیب 26 و 15، در گروه بزرگسال به ترتیب 80، 77 و 41 نفر بود. اطلاعات مربوط به سن، جنس، مصرف سیگار، سطح فعالیت بدنی، بیماری قلبی عروقی و وضعیت زنان از نظر بارداری و یا یائسگی به صورت پرسشنامه‌ای ثبت شد. داده‌های مربوط به قد، وزن و فشارخون اندازه گیری شدند. از کلیه افراد مراجعه‌کننده به واحد تحقیقات قند و لیپید واقع در شرق تهران، دو نمونه خون محیطی، یکی لخته و دیگری حاوی ضد انعقاد EDTA: (Ethylene diamino tetra acetic acid) گرفته شد. با استفاده از کیت‌های تجاری شرکت پارس آزمون، تهران، ایران، میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید سرم و قند خون ناشتا به روش رنگ سنجی آنزیمی و میزان HDL-C به روش رسوبی فسفوتنگستات سدیم اندازه گیری شد.

استخراج DNA از نمونه خون حاوی ماده ضد انعقاد به روش نمک زنی، پروتئیناز کا انجام گرفت. نمونه‌های DNA حاصل در 20- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از بررسی کمی و کیفی DNA استخراج شده با اسپکتروفتومتر و الکتروفورز، برای بررسی جایگاه 308-، تکثیر قطعه 107 جفت بازی ژن TNF- α ، با استفاده از تکنیک PCR انجام شد. حجم هر مخلوط PCR 16 میکرولیتر، شامل بافر 10X PCR ($1/5$ میکرولیتر)؛ $MgCl_2$ 1.5 mmol/l (0/45 میکرولیتر)؛ 0/2 mmol/l از dNTPs (di Nucleotid Tri Phosphate) (0/3 میکرولیتر)؛ Taq DNA Polymerase (0/2 میکرولیتر) و 1/2 میکرولیتر از جفت پرایمرهای رفت و برگشت (تهیه شده از شرکت سیناژن) با توالیهای ذیل بود:

5'- AGGCAATAGTTTTGAGGGCCAT-3'
5'- TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3'

به هر میکروتیوب، 2 میکرولیتر از DNA استخراج شده اضافه شد و این لوله‌ها پس از افزودن روغن معدنی استریل به نمونه‌ها، سانتریفوژ شدند و سپس به دستگاه ترموسایکلر

است (7 و 8). یکی از پلی مورفیسیم‌های شناخته شده در ژن TNF- α واقع بر بازوی کوتاه کروموزوم 6، جایجایی گوانین به آدنین در جایگاه 308- بالادست پروموتور ژن مذکور است (9 و 10). درخصوص ارتباط پلی مورفیسیم 308- ژن TNF- α با چاقی، نمایه توده بدنی، سطح لیپتین و مقاومت به انسولین، ارتباط معنی‌داری گزارش شده و در بررسی میزان توده چربی بدن به روش بیومپدانس الکتریکی، ارتباط معنی‌داری میان پلی مورفیسیم 308- ژن مذکور با درصد توده چربی بدن، مشاهده شده است (11). در زنان سوئدی نیز، ارتباط معنی‌دار میان افزایش نمایه توده بدنی با پلی مورفیسیم مذکور گزارش شده است (12).

یکی دیگر از پلی مورفیسیم‌های شناخته شده ژن TNF- α که بر بازوی کوتاه کروموزوم 6 قرار دارد، جایجایی نوکلوتید G با نوکلوتید A در جایگاه 238- ژن مذکور است. این پلی مورفیسیم در ناحیه جعبه Y (یک ناحیه تنظیمی پروموتور ژن‌های کمپلکس سازگاری نسجی کلاس 2 Major histocompatibility complex: MHCII) واقع شده است (13). تاکنون در محیط آزمایشگاهی، مطالعات بیان ژن برای سنجش ارتباط عملی این پلی مورفیسیم انجام نگرفته است. با توجه به تفاوت ذخیره ژنتیکی جمعیت‌های مختلف و گزارش نشدن ارتباط پلی مورفیسیم‌های 308- و 238- ژن TNF- α با چاقی در جمعیت ایرانی، هدف این مطالعه تعیین ارتباط پلی مورفیسیم‌های مذکور با چاقی بود.

مواد و روشها

جامعه مورد بررسی از میان شرکت‌کنندگان مطالعه قند و لیپید تهران انتخاب شد. مطالعه قند و لیپید تهران بررسی آینده نگری بود که جهت بررسی عوامل خطر ساز بیماریهای غیرواگیر در 15005 نفر از جمعیت تهران انجام شد. ابتدا کل افراد شرکت‌کننده در مطالعه قند و لیپید تهران براساس نمایه توده بدنی (حاصل تقسیم وزن بر حسب کیلوگرم بر مجذور قد بر حسب متر) به 3 گروه تقسیم شدند. در تقسیم بندی مذکور، افراد با BMI کمتر از 25 کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد معمولی، بین 25 تا 29/9 کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد دارای اضافه وزن و مساوی یا بیشتر از 30 کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد چاق در نظر گرفته شدند. در جمعیت مذکور، معیارهای ورود به مطالعه برای سن بالای 18 سال، شامل تری‌گلیسرید کمتر از 400 میلی‌گرم در دسی‌لیتر، عدم مصرف دارو و فقدان بیماری قلبی عروقی و فشار خون، بود. تعداد 244 نفر در دو گروه سنی زیر 18 سال با میانگین سنی $12/7 \pm 2/7$ سال، شامل 21 مرد ($12/1 \pm 2/7$ ساله) و 21

(4) مرحله طویل سازی (Extension) 60 ثانیه در دمای 72 درجه سانتیگراد (مراحل 2 تا 35.4 سیکل تکرار شد)
(5) مرحله Extension نهایی 10 دقیقه در دمای 72 درجه سانتیگراد (یک سیکل).

صحت تکثیر PCR با استفاده از کنترل‌های مثبت و منفی بررسی شد. صحت تکثیر قطعه مورد نظر بر روی ژل آگارز 2% بررسی شد و نمونه‌های تکثیر شده جهت برش با آنزیم محدودالایر آماده شدند. 10 میکرولیتر از محصولات PCR تحت اثر هضم آنزیم MspI (شرکت Fermentas) انکوبه شدند. نتیجه الکتروفورز محصولات RFLP بر روی ژل آگارز 3% پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید توسط دستگاه Transilluminator مشاهده شد.

داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. متغیرهای کمی با میانگین $\pm$ انحراف معیار و متغیرهای کیفی به صورت درصد بیان شدند. از آزمون Kruskal-Wallis و در مورد مقادیر با توزیع نرمال، از آزمون ANOVA استفاده شد. برای مقایسه یافته‌های آزمایشگاهی سه گروه BMI استفاده شد. سطح معنی‌دار آماری، 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه جهت بررسی جایگاه 308-، 244 نفر شامل 102 مرد (21 نفر زیر 18 سال و 81 نفر بالای 18 سال) و 142 نفر زن (21 نفر زیر 18 سال و 121 نفر بالای 18 سال) از مطالعه قند و لیپید تهران انتخاب شدند.

فراوانی ال‌های جایگاه 308- TNF- α در جمعیت مورد مطالعه، از قانون هاردی واینبرگ تبعیت می‌کرد. فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه جوانان عبارت بود از: GG (81)؛ GA (16/6)؛ AA (2/4). 34 نفر دارای ژنوتیپ GG، 7 نفر واجد ژنوتیپ GA و 1 نفر دارای ژنوتیپ AA بودند. در گروه بزرگسالان نیز فراوانی ژنوتیپ‌ها به این شرح بود: GG (86/6)؛ GA (12/4) و AA (1). 175 نفر ژنوتیپ GG، 25 نفر ژنوتیپ GA و 2 نفر ژنوتیپ AA داشتند. در جدول 1 متغیرهای بالینی، تن سنجی و بیوشیمیایی به تفکیک سن در سه گروه پلی مورفیسم جایگاه 308- بررسی شده است. در جدول 3 متغیرهای بالینی و بیوشیمیایی در افراد مورد مطالعه برای پلی مورفیسم جایگاه 308- بر اساس نمایه توده بدنی در گروه سنی زیر 18 سال (نوجوانان) در دو گروه براساس صدک BMI گروه اول صدک کمتر از 85 و گروه دوم صدک بالاتر از 85 و در بزرگسالان در سه گروه نمایه توده بدنی گروه اول BMI < 25 و گروه دوم BMI < 30 و 25 ≤ BMI و گروه سوم BMI ≥ 30

ساخت کارخانه Corbett استرالیا منتقل شدند. شرایط ترموسایکلر پس از بهینه سازی، شامل موارد ذیل بود:

(1) مرحله واسرشت (Denaturation) ابتدایی 10 دقیقه در دمای 94 درجه سانتیگراد (یک سیکل)
(2) مرحله واسرشت 1 دقیقه‌ای در دمای 94 درجه سانتیگراد
(3) مرحله اتصال (Annealing): 30 ثانیه در دمای 60 درجه سانتیگراد
(4) مرحله طویل سازی (Extension) 60 ثانیه در دمای 72 درجه سانتیگراد (مراحل 2 تا 35.4 سیکل تکرار شد)
(5) مرحله Extension نهایی 10 دقیقه در دمای 72 درجه سانتیگراد (یک سیکل).

صحت تکثیر PCR با استفاده از کنترل‌های مثبت و منفی بررسی شد. صحت تکثیر قطعه مورد نظر بر روی ژل آگارز 2% بررسی شد و نمونه‌های تکثیر شده برای برش با آنزیم محدودالایر آماده شدند. 10 میکرولیتر از محصولات PCR تحت اثر هضم آنزیم NcoI (شرکت Fermentas) انکوبه شدند. نتیجه الکتروفورز محصولات RFLP (Restricted fragment length polymorphism) بر روی ژل آگارز 3%، پس از رنگ آمیزی با اتیدیوم برماید، توسط دستگاه Transilluminator مشاهده شد.

برای بررسی جایگاه 238-، قطعه 152 جفت بازی از ژن TNF- α با استفاده از تکنیک PCR تکثیر شد. هر مخلوط PCR به حجم 16 میکرولیتر، شامل 1/5 میکرولیتر از بافر 10X PCR؛ 0/55 میکرولیتر از $MgCl_2$ (1/5 mmol/l)؛ 0/3 میکرولیتر از dNTPs (di Nucleotid Tri Phosphate) (0/2؛ 0/2 mmol/l)؛ 1/2 میکرولیتر از Taq DNA Polymerase و جفت پرایمرهای رفت و برگشت (تهیه شده از شرکت سیناژن) با توالیهای ذیل بود:

5'- ATCTGGAGGAAGCGGTAGTG-3'

5'- AGAAGACCCCCCTCGGAACC-3'

به هر لوله 2 میکرولیتر از DNA استخراج شده اضافه شد و پس از افزودن روغن معدنی استریل به نمونه‌ها، این لوله‌ها سانتریفوژ شدند و سپس به دستگاه ترموسایکلر ساخت کارخانه Corbett استرالیا منتقل شدند. شرایط ترموسایکلر پس از بهینه سازی شرایط، شامل موارد ذیل بود:

(1) مرحله واسرشت (Denaturation) ابتدایی 10 دقیقه در دمای 94 درجه سانتیگراد (یک سیکل)
(2) مرحله واسرشت 1 دقیقه در دمای 94 درجه سانتیگراد
(3) مرحله اتصال (Annealing): 30 ثانیه در دمای 62/1 درجه سانتیگراد

قرار گرفتند. در گروه نوجوانان میانگین نمایه توده بدن، نسبت دور کمر به دور باسن در گروه دوم به طور معنی داری بیشتر از

جدول 1- متغیرهای بالینی، تن سنجی و بیوشیمیایی در سه گروه پلی مورفیزم جایگاه 308-

تعداد فرکانس الی گروه سنی بالای 18 سال				تعداد فرکانس الی در گروه سنی زیر 18 سال				متغیر (واحد)
P	AA(2)	GA (25)	GG (175)	P	AA(1)	GA (7)	GG (34)	
0/591	51/25±1/76	40/96±16/04	43/34±15/62	0/240	10/5	14/21±2/25	12/51±2/80	سن (سال)
0/426	131/25±22/27	16/50±11/02	114/50±17/26	0/579	97	104/21±5/12	101/31±8/46	فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)
0/303	83±16/26	75/34±8/98	74/36±8/09	0/059	57/5	71/21±4/87	67/22±5/85	فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)
0/344	0/95±0/06	0/86±0/09	0/87±0/08	0/053	0/98	0/82±0/07	0/83±0/05	نسبت دور کمر به دور باسن
0/196	32/18±2/7	27/33±4/82	26/65±4/55	0/179	26/71	19/91±2/07	19/73±3/84	نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)
0/865	87/5±7/07	90/50±8/66	89/00±22/18	0/088	73/5	87/35±6/51	86/45±5/62	قند ناشتا (میلی گرم در دسی لیتر)
0/925	208/75±44/90	97/00±47/91	196/57±42/73	0/421	178	169/79±22/38	158/57±2/44	کلسترول تام (میلی گرم در دسی لیتر)
0/053	241/25±44/19	42/50±154/54	128/50±81/07	0/074	178/50	85/85±21/80	94/44±39/00	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)
0/295	31/75±13/78	42/76±9/20	42/26±9/63	0/208	29	43±7/34	44/30±8/60	HDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/723	128/75±40/09	18/52±43/83	124/53±3/46	0/241	113/40	109/69±22/87	95/96±20/75	LDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/683	10/15±0/02	12/36±8/83	12/13±281/39	0/889	12/15	9/45±2/87	10/1±5/80	شاخص HOMA

238- انتخاب شدند.

فراوانی الیهای 238- TNF- α در جمعیت مورد مطالعه از قانون هاردی واینبرگ تبعیت می کرد. فراوانی ژنوتیپها در گروه نوجوانان عبارت بود از GG (80/5)؛ GA (19/5)؛ AA (0). 33 نفر دارای ژنوتیپ GG، 8 نفر واجد ژنوتیپ GA بودند، اما کسی ژنوتیپ AA نداشت. در گروه بزرگسالان فراوانی ژنوتیپها به این شرح بود: GG (79/3)؛ GA (19/2)؛ AA (1/5). 157 نفر ژنوتیپ GG، 38 نفر ژنوتیپ GA و 3 نفر ژنوتیپ AA داشتند. در جدول 2 متغیرهای بالینی، تن سنجی و بیوشیمیایی به تفکیک سن در سه گروه پلی مورفیزم جایگاه 238- بررسی شده است. در جدول 4 متغیرهای بالینی و بیوشیمیایی در افراد مورد مطالعه برای پلی مورفیزم جایگاه 238- بر اساس نمایه توده بدنی در نوجوانان در دو گروه براساس صدک BMI گروه اول صدک کمتر از 85 و گروه دوم صدک بالاتر از 85 و در بزرگسالان در سه گروه نمایه ی توده بدنی گروه اول BMI<25 و گروه دوم BMI<30 و 25≤ BMI و گروه سوم BMI≥ 30 قرار گرفتند.

همانطور که مشاهده شد در گروه سنی بالای 18 سال (بزرگسالان)، سن، فشارخون سیستولی، فشار خون دیاستولی، نسبت دور کمر به دور باسن، نمایه توده بدن، قند خون ناشتا، کلسترول، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C، تفاوت معنی داری داشت تفاوت معنی داری داشت. بر طبق آزمون توکی، میانگین قند خون ناشتا در گروه یک با دو و دو با سه همگن بود و در یک گروه قرار می گیرند. همینطور سن، فشار خون سیستولی، فشارخون دیاستولی، کلسترول تام، نسبت دور کمر به دور باسن، در گروه دو و سه همگن بوده و در یک گروه قرار می گیرند ولی در گروه یک با دو گروه دیگر همگن نبوده و در دسته جداگانه ای قرار می گیرد. میانگین HDL-C گروه دو با یک در یک دسته و یک با سه در دسته دیگر قرار می گیرد. میانگین تری گلیسرید گروه یک با سه و سه با دو همگن است. میزان LDL-C گروه یک با دو و دو با سه همگن است.

239 نفر شامل 95مرد (17 نفر زیر 18 سال و 78 نفر بالای 18 سال) و 144نفر زن (24 نفر زیر 18 سال و 120 نفر بالای 18 سال) از مطالعه قند و لپید تهران جهت بررسی جایگاه

جدول 2- متغیرهای بالینی، تن سنجی و بیوشیمیایی در سه گروه پلی مورفسم جایگاه 238-

تعداد فرکانس الی در گروه سنی زیر 18 سال				تعداد فرکانس الی گروه سنی بالای 18 سال				متغیر (واحد)
P	AA(3)	GA (38)	GG (157)	P	AA(0)	GA (8)	GG (33)	
0/585	42/50±21/07	39/93±16/50	42/18±15/01	0/585	-	12/62±2/21	13/24±2/96	سن (سال)
0/757	103±21/65	115/86±115/14	115/14±15/20	0/217	-	104/56±7/72	100/42±8/51	فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)
0/407	70/83±6/65	75/46±7/71	73/88±7/80	0/082	-	70/12±6/28	66/33±5/17	فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)
0/780	0/83±0/11	0/87±0/1	0/87±0/08	0/451	-	0/8±0/11	0/82±0/04	نسبت دور کمر به دور باسن
0/415	23/37±3/12	26/84±4/71	26/40±4/37	0/454	-	19/08±2/88	20/12±3/58	نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)
0/766	89±13/47	87/25±23/13	89±41/62	0/218	-	84/50±6/83	87/63±6/24	قند ناشتا (میلی گرم در دسی لیتر)
0/090	14/17±92/59	183/78±37/69	199/08±40/46	0/110	-	146/38±26/83	162/18±23/99	کلسترول تام (میلی گرم در دسی لیتر)
0/519	103/50±56/73	145/25±57/70	123±97/55	0/328	-	80±30/23	94/30±37/85	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)
0/904	41/66±4/19	42/18±10/25	42/85±9/03	0/816	-	43/12±7/80	43/83±7/62	HDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/052	148/07±83/89	112/62±32/22	125/92±34/11	0/134	-	87/30±27/62	100/08±19/52	LDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/158	10/19±1/04	10/15±9/18	12/13±8/85	0/828	-	10/28±3/03	10/79±6/42	شاخص HOMA

در گروه دو و سه همگن بوده و در یک گروه قرار می گیرند ولی در گروه یک با دو گروه دیگر همگن نبوده و در دسته جداگانه ای قرار می گیرد. میانگین کلسترول، در گروه یک و دو با هم و گروه دو و سه با هم در یک دسته قرار می گیرند میانگین تری گلیسرید در گروه یک و سه با هم و گروه دو و سه با هم در یک دسته قرار می گیرد. میانگین HDL-C گروه دو با یک در یک دسته و یک با سه در دسته دیگر قرار می گیرد. میانگین قند خون ناشتا در هر سه گروه با هم همگن بوده و در یک دسته قرار می گیرد و میانگین نمایه توده بدنی هریک در دسته های جداگانه قرار می گیرند.

در گروه نوجوانان میانگین نمایه توده بدن و نسبت دور کمر به دور باسن در گروه دوم به طور معنی داری بیشتر از گروه اول بود. همان طور که مشاهده می گردد در گروه بزرگسالان فشارخون سیستولی، فشار خون دیاستولی، نسبت دور کمر به دور باسن، نمایه توده بدن، قند خون ناشتا، کلسترول، تری گلیسرید و HDL-C، تفاوت معنی داری دارد. بر طبق آزمون توکی میانگین سن، فشار خون سیستولی، فشار خون دیاستولی در گروه یک و دو همگن بوده و در یک دسته قرار می گیرد ولی میانگین سن، فشار خون سیستولی، فشار خون دیاستولی در گروه سه با دو گروه دیگر همگن نبوده و در دسته جداگانه ای قرار می گیرد. همین طور نسبت دور کمر به دور

جدول 3- متغیرهای بالینی، بیوشیمیایی و فراوانی پلی مورفیسیم ژن TNF- α در افراد مورد مطالعه براساس گروههای نمایه توده بدن جایگاه 308-

بالای 18 سال				زیر 18 سال			
p	گروه 3	گروه 2	گروه 1	p	گروه دوم	گروه اول	متغیر (واحد)
	BMI≥30 (n=46)	25≤BMI<30 (n=81)	BMI<25 (n=75)		صدک بزرگتر مساوی 85 (n=16)	صدک کوچکتر از 85 (n=26)	
-	37(%80/4)	71(%87/7)	67(%89/3)	-	(%)81/2)13	(%)80/8)21	GG
-	7(%15/2)	10(%12/3)	8(%10/7)	-	(%)12/5)2	(%)19/2)5	GA
-	2(%4/3)	-	-	-	(%)6/2)1	-	AA
0/000	49/85±11/46	45/56±14/36	36/37±16/65	0/692	12/53±2/81	12/88±2/76	سن (سال)
0/000	119±17/75	116±18	111/50±.11/78	0/355	103/15±7/65	100/78±8/14	فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)
0/000	77/79±8/69	75/51±8/11	71/57±7/23	0/854	67/87±5/52	67/51±6/36	فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)
0/000	0/90±0/07	0/89±0/08	0/83±0/07	0/008	0/86±0/06	0/81±0/05	نسبت دور کمر به دور باسن
0/000	32/90±3/37	27/49±1/42	22/27±1/93	0/000	23/63±2/60	17/64±2/03	نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)
0/001	91/50±26/02	91±16/66	87±21/07	0/948	86/21±5/80	86/34±6/21	قند ناشتا (میلی گرم در دسی لیتر)
0/000	213/51±36/66	201/32±43/50	181/50±42/11	0/086	169/03±25/49	155/90±22/13	کلسترول تام (میلی گرم در دسی لیتر)
0/000	135/25±70/22	154/50±117/21	108±67/10	0/077	108/37±49/33	86/78±27/92	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)
0/005	45/62±11/34	36/98±8/37	42/53±9/18	0/612	44/59±9/93	43/19±7/74	HDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/002	136/71±32/79	125/82±34/53	113/77±36/47	0/332	102/79±23/82	96/12±19/71	LDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/071	10/31±5/78	12/47±413/40	12/34±10/18	0/870	10/22±6/27	9/94±4/80	شاخص HOMA

جدول 4- متغیرهای بالینی، بیوشیمیایی و فراوانی پلی‌مورفیسم ژن $TNF-\alpha$ در افراد مورد مطالعه براساس گروههای نمایه توده بدن جایگاه 238-

بالای 18 سال				زیر 18 سال			
P	گروه 3	گروه 2	گروه 1	P	گروه دوم	گروه اول	متغیر (واحد)
	BMI≥30	25≤BMI<30	BMI<25		صدک	صدک کوچکتر از	
	(n=41)	(n=77)	(n=80)		بزرگتر-مساوی 85	85	
					(n=15)	(n=26)	
-	(%78)32	(%77/9)60	(%81/2)65	-	(%80) 13	(%80/8) 21	GG
-	(%22)9	(%20/8)16	(%16/2)13	-	(%20) 2	(%19/2) 5	GA
-	0	(%1/3)1	(%2/5)2	-	0	0	AA
0/000	50/24±12/16	42/42±13/85	38±16/61	0/264	12/46±2/90	13/50±2/75	سن (سال)
0/001	118/50±17/34	115±14/84	111/75±12/67	0/067	104/40±7/71	99/40±8/42	فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)
0/000	78/09±7/87	74/13±7/54	72/11±7/22	0/845	67/30±5/45	66/94±5/68	فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)
0/000	0/89±0/08	0/89±0/08	0/83±0/08	0/012	0/85±0/05	0/80±0/06	نسب دور کمر به دور باسن
0/000	32/57±3/18	27/50±1/43	22/27±1/89	0/000	23/15±2/63	18/05±2/28	نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)
0/011	92±15/04	89±26/03	87±54	0/837	87/30±4/88	86/86±7/21	قند ناشتا (میلی گرم در دسی لیتر)
0/011	208/26±34/04	200/50±42/15	186/30±41/59	0/112	167/30±27/41	154/36±22/76	کلسترول تام (میلی گرم در دسی لیتر)
0/000	135±69/81	144/50±111/46	110/50±69/11	0/4	97/93±46/60	87/80±29/78	تری گلیسرید (میلی گرم در دسی لیتر)
0/023	45/30±11/39	40/66±8/26	43/35±8/46	0/094	46/30±8/99	42/19±6/31	HDL-C (میلی گرم در سی لیتر)
0/071	131/60±30/38	126/27±34/73	117/18±36/66	0/391	101/44±25/09	95/35±19/41	LDL-C (میلی گرم در دسی لیتر)
0/385	10/44±6/73	12/14±9/73	11/32±8/92	0/696	10/21±6/39	10/97±5/69	شاخص HOMA

بحث

هدف این مطالعه تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم‌های جایگاه G-308A و G-238A ژن $TNF-\alpha$ با چاقی و پارامترهای تن‌سنجی در جمعیت قند و لیپید تهران بود. یافته‌ها، بین پلی‌مورفیسم مذکور و افزایش نمایه توده بدنی در افراد مورد مطالعه، ارتباطی نشان ندادند. از آنجا که $TNF-\alpha$ یکی از سایتوکاین‌های مهم مترشح از بافت چربی در چاقی است، ژن آن می‌تواند یکی از ژن‌های انتخابی جهت بررسی چاقی و بیماری‌های مرتبط با آن باشد. چاقی یک نارسای متابولیک پیچیده با اجزا ژنتیکی قوی می‌باشد و ژن‌های داوطلب زیادی برای چاقی و فنوتیپ‌های مرتبطش وجود دارد. اکثر این ژن‌ها به این دلیل داوطلب انتخاب شده‌اند که موتاسیون در آنها ندرتاً منجر به بروز سندروم‌های ژنتیکی تأثیرگذار بر تمایز سلول‌های چربی

می‌شود (14). مطالعات اخیر در مورد نقش ژن $TNF-\alpha$ در مقاومت به انسولین و چاقی متمرکز شده، اما در این مطالعه ارتباط بین این پلی‌مورفیسم‌ها و چاقی بدون بیماری متابولیک بررسی شده است. اخیراً بین پلی‌مورفیسم جایگاه G-308A $TNF-\alpha$ و انباشتگی چربی در زنان ارتباطی گزارش شده است (15). به علاوه نقشی بالقوه برای ژن $TNF-\alpha$ در چاقی توسط مطالعه وابستگی تأیید شده که در آنها ارتباط بین جایگاه ژن $TNF-\alpha$ و اندازه‌های کلی و متفاوت چاقی در سرخپوستان پیم (Pima Indians) و اروپاییان سفیدپوست (European Caucasians) را گزارش کرده‌اند (4 و 11).

نقش عملی پلی‌مورفیسم G-308A $TNF-\alpha$ تاکنون مشخص نشده است. این پلی‌مورفیسم در بین توالی موافق برای فاکتور نسخه‌برداری AP-2 در ناحیه پروموتور ژن واقع شده است

و گروه سوم بزرگسالان با نمایه توده بدنی بالا که نماینده افراد چاق است، فراوانی ژنوتیپ AA افزایش پیدا نموده یافت، اما این افزایش معنی دار نبود (جدول 3 و 4). متوسط نمایه توده بدنی افراد با ژنوتیپ AA، از متوسط نمایه توده بدنی ژنوتیپ-های دیگر بیشتر بود (جدول 1 و 2). از آنجا که چاقی از زمان برگزاری کنگره توسط National Institute of Health consensus در سال 1985 به عنوان یک بیماری مزمن شناخته شده است، تحقیقات در خصوص عوامل مؤثر در بروز چاقی و راهکارهای پیشگیری و درمان آن از اهمیت ویژه‌ای برخوردار هستند. بیماری چاقی معمولاً با اختلالات گسترده و بیماریهای مختلف همراه است که مسلماً این اختلالات، اثرات سویی بر عملکرد افراد در جامعه خواهد داشت.

با بررسیهای ژنتیکی و تعیین ارتباط ال‌ها با بروز بیماری، می‌توان از طریق تشخیص پلی مورفیسیم‌های مرتبط، این عارضه را از بدو تولد و یا حتی قبل از تولد تشخیص داد و برای پیشگیری از بروز بیماری اقدام نمود، تقدم پیشگیری بر درمان می‌تواند صرفه‌جویی در هزینه‌های مادی و معنوی را به دنبال داشته باشد. نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر یکی از دلایل احتمالی ژنتیکی مؤثر در بروز بیماری چاقی در جمعیت ایرانی است و می‌تواند راهی مطمئن برای تشخیص زود هنگام و بررسی زمینه‌های ژنتیکی در بروز این بیماری باشد.

اما با توجه به اینکه چاقی، مجموعه پیچیده‌ای از فاکتورهای متفاوت با قابلیت انتقال ارثی است و ژن‌های متعددی در بروز آن دخیل هستند بررسی پلی مورفیسیم یک ژن و ارتباط آن با چاقی کافی به نظر نمی‌رسد؛ لذا بررسی سایر ژن‌های دخیل در چاقی در تحقیقات بعدی ضروری قلمداد می‌شود.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه ارتباط معنی‌داری میان پلی مورفیسیم G-238A و TNF- α G-308A و افزایش نمایه توده بدنی در افراد مورد مطالعه نشان نداد. لذا با توجه به دخیل بودن عوامل ژنتیکی متعدد در چاقی، نیاز به بررسی سایر ژن‌های مؤثر در چاقی در کنار این پلی مورفیسیم در افراد ایرانی وجود دارد.

تشکر و قدردانی

از مدیریت محترم و کارکنان پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم بویژه آزمایشگاه بیولوژی سرکار خانم آذر دلبرپور برای همکاری در اجرای طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

(10). موتاسیون G-308A در ناحیه پروموتور ژن TNF- α در شرایط *in vitro* به‌عنوان فاکتور نسخه‌برداری قویتری در مقایسه با نوع وحشی عمل می‌کند. لذا پیشنهاد شده که فعالیت نسخه‌برداری، بیشتر به افزایش غلظت TNF- α و متعاقباً کاهش حساسیت به انسولین منجر می‌شود (16). در نتیجه این متغیر می‌تواند نقشی را در پیشرفت چاقی و فنوتیپ‌های مرتبط بازی کند (17).

جالب اینکه چاقی به‌عنوان حالتی همراه با سطوح افزایش یافته TNF- α mRNA و پروتئین در بافت چربی در انسانها و جوندگان چاق ژنتیکی و جوندگان دیابتی شناخته می‌شود (6 و 8). علاوه بر این در تحقیقی نشان داده شده است که سطح TNF- α mRNA در بافت چربی به‌طور آشکاری با درصد چربی بدن افراد چاق در ارتباط است (18). طبق یک گزارش جدید، ارتباطی مهم بین ال TNF- α G-308A و سطوح لپتین پلاسما وجود دارد (11). مطالعه‌ای دیگر حاکی از بیان و ترشح لپتین توسط TNF- α ، در سلول‌های چربی کشت داده شده است (19). اخیراً در مطالعه‌ای ضمن تأیید ارتباط ژن TNF- α با چاقی در خانواده‌های فرانسوی-کانادایی، ارتباط مهمی بین این جایگاه ژنی و فشار خون بالا یافت شده است (20). ضمناً ارتباط مثبت مهمی بین غلظت سطح سرمی TNF- α و فشار خون سیستولی در افرادی که از جمعیت صرفاً کانادایی هستند در طیف وسیعی از چاقی مشاهده شده است (21). در واقع ترکیب TNF- α می‌تواند در ازدیاد فشار خون بالا سهمیم باشد، به‌طور مثال معلوم شده که محرک تولید منقبض کننده قوی عروقی، اندوتلین 1، در سلول‌های عضله صاف است (22). همین‌طور تولید سوبسترای رنین آنژیوتنسی‌نوژن در بافت چربی را تحریک می‌کند (23).

در مورد جایگاه 238- نتایج مطالعات در تأیید یکدیگر نبوده است. در مطالعه‌ای در کشور انگلستان بین بستگان غیردیابتی و گروه کنترل صورت گرفت، این متغیر با افزایش حساسیت به انسولین که توسط دو روش مستقل اندازه‌گیری شد ارتباط داشت (24)، درحالی‌که در مطالعه‌ای که در نیوانگلند انجام شده، این متغیر هیچ ارتباطی با دیابت نوع دو نشان نداد (25). در مطالعه‌ای که بر روی Caucasians و افراد آمریکایی-آفریقایی انجام شده، هیچ ارتباطی بین این پلی مورفیسیم و شاخصهای مربوط به چاقی و مقاومت به انسولین یافت نشده است (26).

نتایج، حاکی از عدم وجود ارتباط معنی‌داری میان افزایش نمایه توده بدنی با حضور ال A بود، هر چند که در گروه دوم جوانان

REFERENCES

1. Hart CL, Hole DJ, Lawlor DA, Smith GD. Obesity and use of acute hospital services in participants of the Renfrew/Paisley study. *J Public Health (Oxf)* 2007 29:53-6.
2. Shuldiner AR. Obesity Genes and Gene-Environment-Behavior Interactions: Recommendations for a Way forward. *Obesity* (Silver Spring). *Obesity* 2008;16 Suppl 3:S79-81.
3. Pomp D, Mohlke KL. Obesity genes: so close and yet so far. *J Biol* 2008;7(9):36.
4. Norman RA, Bogardus C, Ravussin E: Linkage between obesity and marker near the tumor necrosis factor-alpha locus in Pima Indians. *J Clin Invest* 1995;96(1):158-62.
5. Hotamisligil GS and Spiegelman BM (1994) Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994;43(11):1271-8.
6. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin. Invest* 1995 May;95(5):2409-15.
7. Saghizadeh M, Ong JM, Garvey WT, Henry RR, Kern PA. The expression of TNF alpha by human muscle. Relationship to insulin resistance. *J Clin Invest* 1996;97(4):1111-6.
8. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 1993;259(5091):87-91
9. Nedwin GE, Naylor SL, Sakaguchi AY, Smith, D, Jarrett-Nedwin, J, Pennica, D, et al. Human lymphotoxin and tumor necrosis factor genes: structure, homology and chromosomal localization. *Nucleic Acids Res* 1985;13(17):6361-73.
10. Wilson AG, di Giovine FS, Blakemore, AI, Duff GW. Single base polymorphism in the human tumour necrosis factor α (TNF α) gene detectable by NcoI restriction of PCR product. *Hum. Mol. Genet* 1992;1(5):353.
11. Fernandez-Real JM, Gutierrez C, Ricart W, Casamitjana R, Fernandez-Castaner M, Vendrell J, et al. The TNF- α gene NCO I polymorphism influences the relationship among insulin resistance, percent body fat, and increased serum leptin levels. *Diabetes* 1997;46(9):1468-72.
12. Hoffstedt J, Eriksson P, Hellstrom L, Rossner S, Ryden M, Arner P. Excessive fat accumulation is associated with the TNF-alpha-308 G/A promoter polymorphism in women but not in men. *Diabetologia* 2000;43(1):117-20.
13. D'Alfonso S, Richiardi PM. 1994 .A polymorphic variation in a putative regulation box of the TNFA promoter region. *Immunogenetics* 1994;39(2):150-4.
14. Bouchard C, Perusse L, Leblac C, Tremblay A, and Theriault G. Inheritance of the amount and distribution of human body fat. *Int J Obesity* 1988;12(3):205-15.
15. Hoffstedt J, Eriksson P, HellstroÈm L, RoÈssner S, RydeÂn M, Arner P. Excessive fat accumulation is associated with the TNFa308 G-A promoter polymorphism in women but not in men. *Diabetologia* 2000;43(1):117-20.
16. Wilson AG, Simons JA, McDowell TL, McDevitt HO: Effects of polymorphism of the human Tumor Necrosis Factor α promoter on trascriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94(7):3195-9.
17. Hotamisligil GS, Spiegelman BM. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes* 1994 Nov;43(11):1271-8.
18. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB. The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J Clin Invest* 1995;95(5):2111-9.
19. Kirchgessner TG, Uysal K, Wiesbrock SM, Marino MW, Hotamisligil GS. Tumor necrosis factor- α contributes to obesity-related hyperleptinemia by regulating leptin release from adipocytes. *J Clin Invest* 1997;100(11):2777-82.
20. Pausova Z, Deslauriers B, Gaudet D, Tremblay J, Kotchen TA, Larochelle P, et al. Role of tumor necrosis factoralpha gene locus in obesity and obesity-associated hypertension in French Canadians. *Hypertension* 2000;36(1):14-9.

21. Zinman B, Hanley AJ, Harris SB, Kwan J, Fantus IG. Circulating tumor necrosis factor-alpha concentrations in a native Canadian population with high rates of type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84(1):272-8.
22. Kahaleh MB, Fan PS. Effect of cytokines on the production of endothelin by endothelial cells. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15(2):163-7.
23. Nyui N, Tamura K, Yamaguchi S, Nakamaru M, Ishigami T, Yabana M, et al. Tissue angiotensinogen gene expression induced by Lipopolysaccharide in hypertensive rats. *Hypertension* 1997;30:859-67.
24. Day CP, Grove J, Daly AK, Stewart MW, Avery PJ, Walker M. Tumour necrosis factor-a gene promoter polymorphism and decreased insulin resistance. *Diabetologia* 1998; 41(4):430-4.
25. Hamann A, Mantzoros C, Vidal-Puig A, Flier JS. Genetic variability in the TNF-a promoter is not associated with type II diabetes mellitus (NIDDM). *Biochem Biophys Res Commun* 1995;211:833-839.
26. Walston J, Seibert M, Yen C, Cheskin LJ, Andersen RE. Tumor necrosis factor-a-238 and -308 polymorphisms do not associate with traits related to obesity and insulin resistance. *Diabetes* 1999;48(10):2096-8.