پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال پانزدهم، شماره 6، پی در پی 78، صفحات 247 تا 256
بهمن و اسفند 1389

تاریخ دریافت مقاله: 1389/2/20
تاریخ پذیرش مقاله: 1389/7/7

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

کبری شریفی[1]، دکتر فریدون عزیزی[2]، فاطمه رستمی[3]،دکتر مریم السادات دانشپور[4]، دکتر مهدی هدایتی[5*]

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

چکیده

سابقه و هدف: بافت چربی می‌تواند 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 پلی‌مورفیسم‌های G-308A وG-238A با چاقی در جمعیت ایرانی است.

مواد و روشها: افراد شرکت‌کننده در مطالعه قند و لپید تهران در دو گروه سنی زیر 18 و بالای 18 سال دسته بندی شدند. افراد بالای 18سال، بر اساس نمایه توده بدنی در سه گروه و افراد زیر 18سال، براساس صدک BMI در دو گروه قرار گرفتند. در مجموع244 نفر آنها جهت بررسی جایگاه 308- و 239 نفرشان جهت بررسی جایگاه 238- انتخاب شدند. بررسی پلی مرفیسم‌های مذکور با استفاده از تکنیک‌های PCR و RFLP انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی اللهای TNF-α از قانون هاردی واینبرگ تبعیت می‌کرد و هیچ‌یک از دو پلی‌مورفیسم مذکور، ارتباط معنی‌داری با نمایه توده بدنی نداشت.

نتیجه‌گیری: داده‌های این مطالعه حاکی از عدم وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های G-308A و G-238A ژن TNF-α با چاقی بوده و بنابراین احتمالاً این پلی‌مورفیسم‌ها نقشی در افزایش خطر بروز چاقی و بیماریهای مرتبط در جمعیت ایرانی ندارند.

واژگان کلیدی: چاقی، نمایه توده بدنی، پلی‌مورفیسم، 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 به‌طور چشمگیر در حال افزایش است و با بیماریهایی 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 (3و 2). تحلیل ارتباطی در جمعیت سرخپوستان پیما، میان شاخصهای نزدیک ژن فاکتور نکروزدهنده توموری آلفا (TNF-α) در ناحیه 6p21 و چاقی، ارتباط بارزی را نشان داد (4). سایتوکین TNF-α، به‌عنوان یک تنظیم‌کننده بیان ژن در سلول‌های چربی عمل می‌کند و سبب افزایش مقاومت به انسولین و چاقی می‌شود (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 می‌یابد (6و7). میان افزایش بیان TNF-α، و سطح بالای انسولین و میزان دفع گلوکز در زمان استفاده از روش Glycemic clamp، ارتباط قابل ملاحظه‌ای 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: 4763-19395؛ تلفن: 22432500-21-(98+)، نمابر: 22416264-21-(98+)،
پست الکترونیک: hedayati@endocrine.ac.ir

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

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

یکی دیگر از پلی‌مورفیسم‌های شناخته شده ژن TNF-α که بر بازوی کوتاه کروموزم 6 قرار دارد، جابجایی نوکلوتید G با نوکلوتیدA در جایگاه 238- ژن مذکور است .این پلی‌مورفیسم در ناحیه جعبه Y (یک ناحیه تنظیمی پروموتر 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 پلی‌مورفیسم انجام نگرفته است. با توجه به تفاوت ذخیره ژنتیکی جمعیتهای مختلف و گزارش نشدن ارتباط پلی‌مورفیسم‌های308- و 238- ژن TNF-α با چاقی در جمعیت ایرانی، هدف این مطالعه تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم‌های مذکور با چاقی بود.

مواد و روشها

جامعه مورد بررسی از میان شرکت‌کنندگان مطالعه قند و لپید تهران انتخاب شد. مطالعه قند و لیپید تهران بررسی آینده نگری بود که جهت بررسی عوامل خطرساز 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 25کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد معمولی، بین 25 تا 29/9 کیلوگرم برمترمربع 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 سنی12/7±2/7سال، شامل 21 مرد (12/1±2/7 ساله) و 21 زن (13/4±2/7ساله) و بالای 18 سال با میانگین سنی43/1±1/6سال شامل 81 مرد (45/9±16/5 ساله) و 121 زن (41/2±14/7ساله) به‌طور 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 ترتیب75، 81 و 46 نفر بود. جهت بررسی جایگاه 238- نیز تعداد 239 نفر در دو گروه سنی زیر 18سال با میانگین سنی12/9±2/6سال شامل 17مرد (12/08±2/78 ساله) و 24 زن (13/85±2/66ساله) و بالای 18سال با میانگین سنی42/6±15/4 سال شامل 78 مرد (44/32±16 ساله) و 120 زن (40/91±14/81ساله) به‌طور 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 ضدانعقاد 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. نمونه‌هایDNA حاصل در20- 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(1/5میکرولیتر)؛ $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 ازجفت پرایمرهای رفت و برگشت (تهیه شده از شرکت سیناژن) با توالیهای ذیل بود:

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

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

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

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 دمای72 درجه سانتیگراد (مراحل 2 تا 35،4 سیکل تکرار شد)
5) مرحله Extension نهایی 10 دقیقه در دمای 72 درجه سانتیگراد (یک سیکل).
صحت تکثیرPCR 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 محدودالاثر 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 مخلوطPCR به حجم 16میکرولیتر، 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 mmol/l)؛ 0/2 میکرولیتر از Taq DNA Polymerase و 1/2 میکرولیتر از 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 ازDNA 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) ابتدایی10دقیقه در دمای 94 درجه سانتیگراد (یک سیکل)
2) مرحله واسرشت1دقیقه در دمای 94 درجه سانتیگراد
3) مرحله اتصال (Annealing): 30 ثانیه در دمای 62/1 درجه سانتیگراد
4) مرحله طویل سازی(Extension) 60 ثانیه در دمای72 درجه سانتیگراد (مراحل 2 تا 35،4 سیکل تکرار شد)
5) مرحله Extension نهایی 10 دقیقه در دمای 72 درجه سانتیگراد (یک سیکل).
صحت تکثیرPCR 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 محدودالاثر آماده شدند. 10 میکرولیتر از محصولات PCR تحت اثر هضم آنزیم MspI (شرکت Fermentas) انکوبه شدند. نتیجه الکتروفورز محصولات RFLP برروی ژل آگارز 3%، پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم برماید توسط دستگاه Transilluminator مشاهده شد.
داده‌ها به وسیله نرم افزارSPSS تجزیه و تحلیل شدند. متغیرهای کمی با میانگین± 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 102مرد (21 نفر زیر 18 سال و81 نفر بالای 18 سال) و 142 نفر زن (21نفر زیر 18 سال و 121 نفر بالای 18 سال) ازمطالعه قند و لپید تهران انتخاب شدند.
فراوانی الل‌های 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. درگروه 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 پلی‌مورفیسم جایگاه 308- بر اساس نمایه توده بدنی در گروه سنی زیر 18 سال (نوجوانان) در دوگروه 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 30>BMI≥25و گروه سوم BMI≥30

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

قرار گرفتند .در گروه نوجوانان میانگین نمایه توده بدن، نسبت دور کمر به دور باسن در گروه دوم به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه اول بود.

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

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

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، تری‌گلیسرید، HDL-C، LDL-C، تفاوت معنی داری داشت تفاوت معنی‌داری داشت. بر طبق آزمون توکی، میانگین قند خون ناشتا درگروه یک با دو و دو با سه همگن بود و در یک گروه قرار می‌گیرند. همینطور سن، فشار خون سیستولی، فشارخون دیاستولی، کلسترول تام، نسبت دور کمر به دور باسن، درگروه دو و سه همگن بوده و در یک گروه قرار می‌گیرند ولی در گروه یک با دو گروه دیگر همگن نبوده و در دسته جداگانه‌ای قرار می‌گیرد. میانگین HDL-C گروه دو با یک در یک دسته و یک با سه در دسته دیگر قرارمی‌گیرد. میانگین تری‌گلیسرید 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 و78 نفر بالای 18 سال) و144نفر زن (24 نفر زیر 18 سال و120 نفر بالای 18 سال) ازمطالعه قند و لپید تهران جهت بررسی جایگاه 238- انتخاب شدند.

فراوانی اللهای 238- TNF-α در جمعیت مورد مطالعه از قانون هاردی واینبرگ تبعیت می‌کرد. 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. درگروه بزرگسالان فراوانی ژنوتیپ ها 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 مورفیسم جایگاه 238- بررسی شده است. در جدول 4 متغیرهای بالینی و بیوشیمیایی در افراد مورد مطالعه برای پلی‌مورفیسم جایگاه 238- بر اساس نمایه توده بدنی در نوجوانان در دوگروه 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 25≤BMI<30و گروه سوم BMI≥ 30 قرار گرفتند.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

جدول2- متغیرهای بالینی، تن سنجی و بیوشیمیایی در سه گروه پلی‌مورفیسم جایگاه 238-

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

در گروه نوجوانان میانگین نمایه توده بدن و نسبت دور کمر به دور باسن در گروه دوم به طور معنی‌داری بیشتر از گروه اول بود. همان‌طورکه مشاهده می‌گردد در گروه بزرگسالان فشارخون سیستولی، فشار خون دیاستولی، نسبت دور کمر به دور باسن، نمایه توده بدن، قند خون ناشتا، کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL-C، تفاوت معنی‌داری دارد. بر طبق آزمون توکی میانگین سن، فشار خون سیستولی، فشار خون دیاستولی درگروه یک و دو همگن بوده و در یک دسته قرار می‌گیرد ولی میانگین سن، فشار خون سیستولی، فشار خون دیاستولی در گروه سه با دوگروه دیگر همگن نبوده و در دسته جداگانه‌ای قرار می‌گیرد. همین‌طور نسبت دور کمر به دور درگروه دو و سه همگن بوده و در یک گروه قرار می‌گیرد ولی در گروه یک با دو گروه دیگر همگن نبوده و در دسته جداگانه‌ای قرار می‌گیرد. میانگین کلسترول، در گروه یک و دو با هم و گروه دو و سه با هم در یک دسته قرار می‌گیرند میانگین تری‌گلیسرید در گروه یک و سه با هم و گروه دو و سه با هم در یک دسته قرار می‌گیرد. میانگین HDL-C گروه دو با یک در یک دسته و یک با سه در دسته دیگر قرار می‌گیرد. میانگین قند خون ناشتا در هر سه گروه با هم همگن بوده و در یک دسته قرار می‌گیرد و میانگین نمایه توده بدنی هریک در دسته‌های جداگانه قرار می‌گیرند.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

جدول3- متغیرهای بالینی، بیوشیمیایی و فراوانی پلی‌مورفیسم ژن TNF-α در افراد مورد مطالعه براساس گروههای نمایه توده بدن جایگاه 308-

متغییر(واحد)	زیر18 سال		p	بالای 18 سال			p
	گروه اول	گروه دوم		گروه1	گروه2	گروه3	
	صدک کوچکتراز85 (n=26)	صدک بزرگترمساوی 85 (n=16)		BMI<25 (n=75)	25≤BMI<30 (n=81)	BMI≥30 (n=46)	
GG	(%80/8)21	(%81/2)13	-	67(%89/3)	71(%87/7)	37(%80/4)	-
GA	(%19/2)5	(%12/5)2	-	8(%10/7)	10(%12/3)	7(%15/2)	-
AA	-	(%6/2)1	-	-	-	2(%4/3)	-
سن (سال)	12/88±2/76	12/53±2/81	0/692	36/37±16/65	45/56±14/36	49/85±11/46	0/000
فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)	100/78±8/14	103/15±7/65	0/355	111/50±.11/78	116±18	119±17/75	0/000
فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)	67/51±6/36	67/87±5/52	0/854	71/57±7/23	75/51±8/11	77/79±8/69	0/000
نسبت دور کمر به دور باسن	0/81±0/05	0/86±0/06	0/008	0/83±0/07	0/89±0/08	0/90±0/07	0/000
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	17/64±2/03	23/63±2/60	0/000	22/27±1/93	27/49±1/42	32/90±3/37	0/000
قند ناشتا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	86/34±6/21	86/21±5/80	0/948	87±21/07	91±16/66	91/50±26/02	0/001
کلسترول تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	155/90±22/13	169/03±25/49	0/086	181/50±42/11	201/32±43/50	213/51±36/66	0/000
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	86/78±27/92	108/37±49/33	0/077	108±67/10	154/50±117/21	135/25±70/22	0/000
HDL-C (میلی گرم در دسی‌لیتر)	43/19±7/74	44/59±9/93	0/612	42/53±9/18	36/98±8/37	45/62±11/34	0/005
LDL-C (میلی‌گرم در دسی لیتر)	96/12±19/71	102/79±23/82	0/332	113/77±36/47	125/82±34/53	136/71±32/79	0/002
شاخص HOMA	9/94±4/80	10/22±6/27	0/870	12/34±10/18	12/47±413/40	10/31±5/78	0/071

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

جدول4- متغیرهای بالینی، بیوشیمیایی و فراوانی پلی‌مورفیسم ژن TNF-α در افراد مورد مطالعه براساس گروههای نمایه توده بدن جایگاه 238-

متغیر(واحد)	زیر18 سال		p	بالای 18 سال			p
	گروه اول	گروه دوم		گروه1	گروه2	گروه3	
	صدک کوچکتر از 85 (n=26)	صدک بزرگتر-مساوی 85 (n=15)		BMI<25 (n=80)	25≤BMI<30 (n=77)	BMI≥30 (n=41)	
GG	21 (%80/8)	13 (%80)	-	65(%81/2)	60(%77/9)	32(%78)	-
GA	5 (%19/2)	2 (%20)	-	13(%16/2)	16(%20/8)	9(%22)	-
AA	0	0	-	2(%2/5)	1(%1/3)	0	-
سن (سال)	13/50±2/75	12/46±2/90	0/264	38±16/61	42/42±13/85	50/24±12/16	0/000
فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)	99/40±8/42	104/40±7/71	0/067	111/75±12/67	115±14/84	118/50±17/34	0/001
فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)	66/94±5/68	67/30±5/45	0/845	72/11±7/22	74/13±7/54	78/09±7/87	0/000
نسب دور کمر به دور باسن	0/80±0/06	0/85±0/05	0/012	0/83±0/08	0/89±0/08	0/89±0/08	0/000
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	18/05±2/28	23/15±2/63	0/000	22/27±1/89	27/50±1/43	32/57±3/18	0/000
قند ناشتا (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	86/86±7/21	87/30±4/88	0/837	87±54	89±26/03	92±15/04	0/011
کلسترول تام (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	154/36±22/76	167/30±27/41	0/112	186/30±41/59	200/50±42/15	208/26±34/04	0/011
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	87/80±29/78	97/93±46/60	0/4	110/50±69/11	144/50±111/46	135±69/81	0/000
HDL-C (میلی‌گرم در سی‌لیتر)	42/19±6/31	46/30±8/99	0/094	43/35±8/46	40/66±8/26	45/30±11/39	0/023
LDL-C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	95/35±19/41	101/44±25/09	0/391	117/18±36/66	126/27±34/73	131/60±30/38	0/071
شاخص HOMA	10/97±5/69	10/21±6/39	0/696	11/32±8/92	12/14±9/73	10/44±6/73	0/385

بحث

هدف این مطالعه تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم‌های جایگاه G-308A و G-238A ژن TNF-α 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-α یکی از سایتوکاین‌های مهم مترشحه از بافت چربی در چاقی است، ژن آن می‌تواند یکی از ژن‌های انتخابی جهت بررسی چاقی و بیماریهای مرتبط با آن باشد. چاقی یک نارسایی 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-α 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-α و انباشتگی چربی در زنان ارتباطی گزارش شده است (15). به‌علاوه نقشی بالقوه برای ژن TNF-α در چاقی توسط مطالعه وابستگی تأیید شده که در آنها ارتباط بین جایگاه ژن TNF-α و اندازه‌های کلی و متفاوت چاقی در سرخپوستان پیما (Pima Indians) و اروپاییان سفیدپوست (European Caucasians) را گزارش کرده‌اند (4و11).

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

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

(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 منجرمی‌شود (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 (6و8). 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 الل 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 تایید 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). درواقع ترکیب TNF-α می‌تواند در ازدیاد فشار خون بالا سهیم باشد. به‌طور مثال معلوم شده که محرک تولید منقبض کننده قوی عروقی، اندوتلین 1، در سلول‌های عضله صاف است (22). همین‌طور تولید سوبسترای رنین انژیوتنسینوژن 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 اندازه گیری 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 برروی Caucasians و افراد آمریکایی- آفریقایی انجام شده، هیچ ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم و شاخصهای مربوط به چاقی و مقاومت به انسولین یافت نشده است (26).

نتایج، حاکی ازعدم وجود ارتباط معنی‌داری میان افزایش نمایه توده بدنی با حضور الل A بود، هر چند که در گروه دوم جوانان و گروه سوم بزرگسالان با نمایه توده بدنی بالا که نماینده افرادچاق است، فراوانی ژنوتیپ AA افزایش پیدا نموده یافت، اما این افزایش معنی‌دار نبود (جدول 3 و4). متوسط نمایه توده بدنی افراد با ژنوتیپ AA، از متوسط نمایه توده بدنی ژنوتیپ-های دیگر بیشتر بود (جدول 1 و2). 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 ویژه‌ایی 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 الل‌ها با بروز بیماری، می‌توان ار طریق تشخیص پلی‌مورفیسم‌های 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 پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم 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 پلی‌مورفیسم 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.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

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 humanTumor 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.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]

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.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2024-08-09]