

بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم D/I ژن آنزیم مبدل آنژیوتانسین با چاقی در

جمعیت استان اردبیل

فریبا اوجی، هاشم یعقوبی*

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل، ایران

چکیده

سابقه و هدف: امروزه ژن های زیادی که تأثیرهای پیچیده ای بر چاقی دارند گزارش شده است و یکی از این ژن ها آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) است که عامل مؤثر در متابولیک بافت چربی می باشد و در رشد و عملکرد سلول های آدیپوسیت درگیر می باشد. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط بین این پلی مورفیسم با چاقی در جمعیت استان اردبیل بود.

مواد و روش ها: در این بررسی ۱۷۲ نفر بر اساس شاخص توده بدنی به دو گروه افراد $BMI < 30$ و افراد چاق با $BMI \geq 30$ تقسیم شدند و DNA نمونه ها با استفاده از روش اشباع استخراج شده و ژنوتیپ افراد تعیین گردید.

یافته ها: در گروه $BMI < 30$ ، ۵۷/۵٪ مرد و ۴۲/۵٪ زن و گروه $BMI \geq 30$ ۴۲٪ مرد و ۵۸٪ زن بودند. میانگین سنی افراد $BMI < 30$ ، ۴۷/۵ سال و میانگین سنی افراد $BMI \geq 30$ ۵۲/۵ سال بود. میانگین BMI افراد $BMI < 30$ ، ۲۵/۱۹ و میانگین BMI افراد $BMI \geq 30$ ، ۳۲/۵۸ می باشد.

بحث: فراوانی ژنوتیپ DD در افراد چاق با $BMI \geq 30$ ، ۰/۸۳ و در افراد $BMI < 30$ ۰/۷۱ بود که این اختلاف از نظر آماری معنی داری می باشد (۰/۰۴۴).

نتیجه گیری: یافته های حاصل از این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ DD در ژن ACE می تواند با چاقی جمعیت استان اردبیل ارتباط داشته باشد.

واژه های کلیدی: چاقی، پلی مورفیسم ژن ACE، آنزیم مبدل آنژیوتانسینی

مقدمه

چاقی وجود دارد معیار پیشتاز در این زمینه BMI^1 است؛ واحد اندازه گیری BMI، kg/m^2 است. BMI کم-تر از ۲۵ را طبیعی و BMI بین ۲۵-۲۹/۹ را اضافه وزن و BMI بالاتر از ۳۰ را چاق می نامند چاقی عامل خطر عمده ای برای بیماری های غیرمسمری مانند: بیماری های قلبی عروقی، دیابت، اختلال های اسکلتی، فشارخون بالا، هم چنین چاقی دوران کودکی بامرگ زودرس و ناتوانی در بزرگسالی همراه است (۲).

چاقی یک اختلال چند عاملی بوده و با فاکتورهای ژنتیکی و محیطی زیادی در ارتباط است. ژن های بسیاری که تأثیرهای پیچیده ای بر چاقی دارند گزارش شده است (۱۴). یکی از ژن هایی که برای چاقی مورد توجه قرار

امروزه چاقی یکی از معضله های بهداشتی است. نزدیک به یک سوم از جمعیت جهان چاق یا دارای اضافه وزن می باشد چاقی به تجمع غیر طبیعی یا بیش از اندازه چربی بدن اطلاق می شود. معیارهای مختلفی برای سنجش

نویسنده مسئول:

گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، اردبیل،

ایران

پست الکترونیک: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۸/۱۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۴/۷

¹ Body Mass Index

گرفته ژن آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE^{2*}) است. ژن ACE بر روی کروموزوم شماره ۱۷ (۱۷ q۲۳) قرار دارد و در انسان حاوی ۲۶ اگزون است که ۲۵ اینترون آنها را از یکدیگر جدا می کند و طول تقریبی این ژن ۲۱ کیلو باز است. ۱۳ نوع مختلف پلی مورفیسم ACE گزارش شده است یک نمونه آن پلی مورفیسم D/I^3 است این پلی مورفیسم به علت وجود یا فقدان یک قطعه ۲۸۷ جفت بازی در اینترون ۱۶ ژن ACE می باشد. این پلی مورفیسم عامل تعیین کننده (ACE) پلاسما است و افرادی که دارای آلل D هموزیگوس هستند بالاترین مقدار آنزیم مبدل آنژیوتانسین در پلاسما، حالت هموزیگوس برای آلل I کم ترین میزان و حالت هتروزیگوس ID مقادیر متوسطی را نشان می دهد (۴).

چاقی به تجمع زیاد یا غیرطبیعی چربی بدن که اختصاص به کل یا قسمت های خاصی از بدن دارد اطلاق می شود و مانند بسیاری از وضعیت های پزشکی، نتیجه تعامل بین عوامل ژنتیکی و محیطی باشد (۴). آنزیم (ACE) یک پپتیدیل دی پپتیدهدیرولاز است که ۲ اسید آمینه انتهایی کربوکسیلی (His-Leu) را از آنژیوتانسین I که یک دکاپپتید است جدا کرده و آنژیوتانسین II را تولید می کند. آنژیوتانسین II باعث افزایش فشار خون و منقبض کننده عروق خون است. آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین در رشد و عملکرد سلول های آدیپوسیت درگیر بوده و آنژیوتانسین II نیز از تمایز آدیپوسیت ها جلوگیری می کند. پلی مورفیسمی در اینترون می تواند صورت گیرد که یک توالی ۲۸۷ جفت بازی در این منطقه می تواند در جمعیت حضور داشته باشد (درج یا I) و وجود نداشته باشد (حذف یا D) (۱۱). آلل D به بالارفتن سطح آنزیم ACE در گردش خون منجر می شود علاوه بر این، بر میزان فعال کننده پلاسمینوژن بر سامانه فیبرلیتیک تأثیرگذار است (۹).

هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین این پلی مورفیسم با چاقی جمعیت استان اردبیل است.

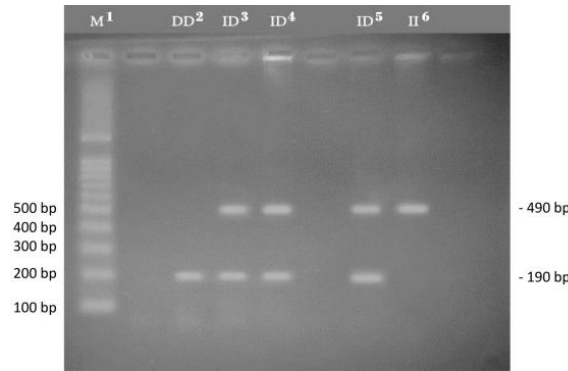
مواد و روش ها

2. Angiotensin-converting Enzyme
3. Deletion / Insertion

مطالعه حاضر یک پژوهش توصیفی -آزمایشگاهی است که در سال ۱۳۹۴ بر روی ۱۷۲ نفر از افراد مراجعه کننده به بیمارستان استان اردبیل انجام شد. در مرحله جمع آوری نمونه با گرفتن رضایت نامه و اطلاعات مربوط به وزن و قد از ۱۷۲ نفر از افراد مراجعه کننده به میزان ۵ میلی-لیتر خون جهت آزمایش های مولکولی گرفته شد. با استفاده از میزان وزن و قد شاخص توده بدن (BMI) افراد مشخص شده و آن ها به دو گروه تقسیم شدند. گروه دارای $BMI < 30$ که تعداد آن ها ۱۰۱ نفر و گروه $BMI \geq 30$ که تعداد آن ها ۷۱ نفر بود.

جهت آزمایش های مولکولی، DNA نمونه های خون با استفاده از روش نمک اشباع استخراج شد و با واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) و الکتروفورز ژنوتیپ افراد شناسایی شد (شکل ۱).

برای بررسی این پلی مورفیسم بخشی از ژن ACE به طول bp278 تکثیر شد. توالی پرایمر مورد نظر برای تکثیر به صورت زیر می باشد (شکل ۲).



شکل ۱- تصویر ژل تهیه شده از الکتروفورز PCR

۱- لدر 100bp ، ۲- ژنوتیپ DD دارای باند 190bp ، ۳ و ۴ و ۵- ژنوتیپ ID دارای باندهای 190 bp ، 490 ، ۶- ژنوتیپ II دارای باند 490bp

3' CTG GAG ACC ACT CCC ATC CTT TCT ACEF:5'
ACER: 5'- GAT GTG GCC ATC ACA ATC GTC AGA T-3'

و ۴۳ زن) و ۷۱ نفر دارای $BMI \geq 30$ (۳۰ مرد و ۴۱ زن) بودند. جدول ۱ توزیع جنسیتی افراد مورد مطالعه و شکل ۳ نمودار میله‌ای مربوطه را نشان می‌دهد. جدول ۲ فراوانی ژنوتیپی و توزیع جنسی افراد مورد مطالعه را نشان می‌دهد که در جمعیت مورد مطالعه شیوع چاقی در بین زنان بیش‌تر از مردان بوده است (۵۷٪ در مقابل ۴۳٪).

جدول ۱- توزیع جنسی افراد مورد مطالعه

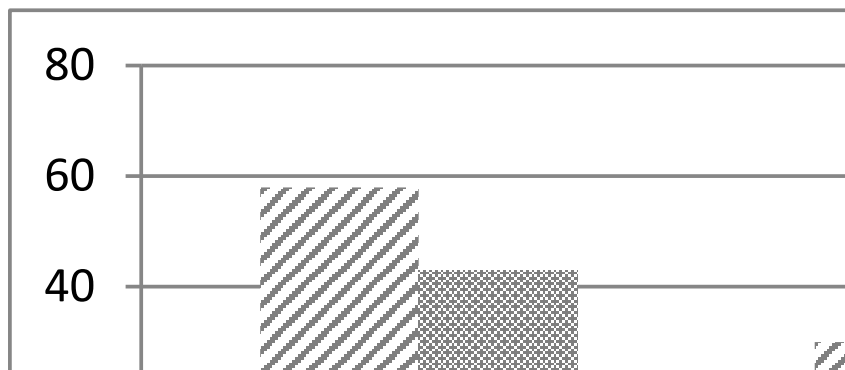
مجموع	افراد با		گروه جنسیت
	$BMI \geq 30$	$BMI < 30$	
۸۸	۳۰	۵۸	مرد
۸۴	۴۱	۴۳	زن
۱۷۲	۷۱	۱۰۱	مجموع

بررسی آماری در این مطالعه سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. به عبارتی $P\text{-value} < 0/05$ بیان‌کننده این است که اختلاف بین افراد با $BMI < 30$ و افراد با $BMI \geq 30$ معنادار است. ولی $P\text{-value} > 0/05$ بیان‌کننده این است که هیچ اختلاف معناداری بین افراد دو گروه وجود ندارد. در این مطالعه از نرم افزار spss نسخه ۱۰ برای تجزیه و تحلیل داده‌ها استفاده شد.

نتایج

توزیع جنسی افراد مورد مطالعه

در مجموع در مطالعه حاضر ۱۷۲ نفر مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد ۱۰۱ نفر با $BMI < 30$ (۵۸ مرد



شکل ۳- نمودار میله‌ای توزیع جنسی افراد مورد مطالعه

جدول ۲- فراوانی ژنوتیپی و توزیع جنسی افراد مورد مطالعه

ژنوتیپ	مرد	زن
ژنوتیپ DD	۰/۷۶	۰/۷۷
ژنوتیپ ID	۰/۱۷	۰/۱۸
ژنوتیپ II	۰/۰۷	۰/۰۵
مجموع	۱۰۰	۱۰۰

ژنوتیپ	مرد	زن	مجموع
آلل D	۰/۸۲	۰/۸۹	۰/۱۵۹
آلل I	۰/۱۸	۰/۱۱	۰/۱۵۹
مجموع	۱۰۰	۱۰۰	

* $p\text{-value} < 0.05$ از نظر آماری معنی دار می باشد.

همان طور که از این جدول مشاهده می شود، فراوانی ژنوتیپ DD در افراد با $BMI \geq 30$ بیش تر (۸۳ درصد در مقابل ۷۱ درصد) که نشان دهنده اختلاف معنی دار دو گروه در حالت ژنوتیپ DD می باشد. همچنین فراوانی آلل D در گروه $BMI \geq 30$ بیش تر از گروه $BMI < 30$ بود (۸۲ درصد در مقابل ۸۹ درصد).

بحث

در ایران یک بررسی در مورد پلی مورفیسم ACED/I به عنوان عامل ایجادکننده بیماری های قلبی-عروقی انجام شده که نتایج آن نشان می دهد آلل D با فراوانی ۶۲٪ در گروه مورد مطالعه بوده که با مقادیر گزارش شده از جمعیت مدیترانه شرقی برابری می کند (۹).

یافته های این مطالعه نشان داد که فراوانی ژنوتیپ DD در افراد با $BMI \geq 30$ بیش تر از فراوانی ژنوتیپ DD در افراد گروه $BMI < 30$ بود (۸۳ درصد در مقابل ۷۱ درصد). همچنین فراوانی آلل D هم در گروه $BMI \geq 30$ نسبت به گروه $BMI < 30$ بیش تر می باشد. (۸۹ درصد در مقابل ۸۲ درصد) همچنین یافته ها نشان می دهد که ژنوتیپ DD با خطر ابتلا به چاقی را افزایش می دهد.

مطالعه بیتگن و همکاران در جمعیت ترکیه نشان داد که یک رابطه معناداری بین BMI و ژنوتیپ DD وجود دارد و شیوع بیماری چاقی در بین افراد دارای ژنوتیپ DD بیش تر است (۳). مطالعه زی و همکاران نشان داد که آلل D به سطوح بالای آنژیوتانسوزن مربوط می شود که با

میانگین سنی افراد مورد مطالعه

از مجموع ۱۷۲ فرد مورد مطالعه در این تحقیق، میانگین سنی افراد با $BMI < 30$ ، ۴۷/۵ سال و میانگین سنی افراد با $BMI \geq 30$ ، ۵۲/۵ سال بود.

جدول ۳- میانگین سنی افراد مورد مطالعه در دو گروه

$BMI < 30$ و $BMI \geq 30$

گروه	افراد با	افراد با
سن (سال)	$BMI \geq 30$	$BMI < 30$
میانگین	۵۲/۵	۴۷/۵

میانگین BMI افراد مورد مطالعه

از مجموع ۱۷۲ فرد مورد مطالعه در این تحقیق ۱۰۱ نفر افراد با $BMI < 30$ و ۷۱ نفر افراد با $BMI \geq 30$ بودند که میانگین BMI گروه اول ۲۵/۱۹ و میانگین BMI گروه دوم ۳۲/۵۸ بود.

جدول ۴- میانگین BMI افراد مورد مطالعه در دو گروه

$BMI < 30$ و $BMI \geq 30$

گروه	افراد با	افراد با
BMI	$BMI \geq 30$	$BMI < 30$
میانگین	۳۲/۵۸	۲۵/۱۹

فراوانی ژنوتیپی و الی پلی مورفیسم D/I ژن ACE در دو گروه مورد بررسی در جمعیت مورد مطالعه در جدول ۵ مشاهده می شود.

جدول ۵- فراوانی ژنوتیپی و الی پلی مورفیسم D/I ژن ACE در دو گروه مورد بررسی در جمعیت استان اردبیل

p-value	افراد با	افراد با	
	$BMI \geq 30$	$BMI < 30$	
ژنوتیپ DD	۰/۸۳	۰/۷۱	۰/۰۴۴*
ژنوتیپ ID	۰/۱۱	۰/۲۰	۰/۰۷۹
ژنوتیپ II	۰/۰۶	۰/۰۹	۰/۰۴۱

زنان چک قفقازی نشان داده که پلی مورفیسم ژن ACE ارتباط معنی داری با کاهش وزن ندارد (۱۶). در حال حاضر داده‌های معدودی در خصوص شیوع چاقی و ژنوتیپ ACE موجود می‌باشد اگرچه اثر ژنوتیپ ACE در افراد چاق قبلاً گزارش شده است. مطالعه حاضر شیوع بالای ژنوتیپ ACE (DD) در جمعیت چاق را نشان می‌دهد. مطالعه حاضر یک تحقیق کوچک بود با این وجود فرضیه‌ها و یافته‌های این مطالعه می‌توانند در انجام مطالعه‌های تصادفی بزرگ‌تر در این زمینه کمک کنند.

نتیجه‌گیری

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ DD از پلی مورفیسم ژن ACE با چاقی در جمعیت استان اردبیل ارتباط داشته و می‌تواند نشان دهنده یکی از دلایل احتمالی ژنتیک در بروز عارضه چاقی در افراد باشد. همانند این مطالعه، اکثر مطالعه‌های بررسی شده در سطح جهان نیز نشان دهنده وجود ارتباط بین ژنوتیپ DD از ژن ACE با چاقی هستند. البته در چند مطالعه ارتباطی بین آلل D و چاقی مشاهده نشده است شاید این تناقض به دلیل تفاوت در ژنتیک جمعیت‌های مورد مطالعه و روش زندگی افراد باشد به هر حال مسلم است که چاقی نتیجه یک مجموعه پیچیده از عوامل متعدد ارثی و محیطی بوده و ژن‌های بسیاری در بروز آن دخالت دارند.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از کلیه عوامل بیمارستان تأمین اجتماعی اردبیل که ما را در نمونه‌گیری از افراد یاری کردند و هم‌چنین از دانشگاه آزاد اسلامی که امکانات لازم برای آزمایش‌ها را در اختیار ما قرار دادند و کلیه افرادی که در این مطالعه از نمونه خون آن‌ها استفاده شد و کلیه عزیزی که با راهنمایی‌های خود ما را در انجام این مطالعه یاری کردند تقدیر و تشکر می‌شود.

افزایش سندروم متابولیک همراه است (۱۷). مطالعه مهری و همکاران در تونس نشان داد نوعی ارتباط میان شاخص توده بدنی با پلی مورفیسم ژن ACE وجود دارد (۱۲). مطالعه آکین و همکاران در ترکیه نشان داد که ممکن است پلی مورفیسم D ژن ACE با چاقی جمعیت ترکیه در ارتباط باشد (۱). مطالعه فیاتال و همکاران در مجارستان نشان داد فراوانی ژنوتیپ DD و فراوانی آلل D در افراد مبتلا به دیابت نوع دوم نسبت به افراد سالم به طور قابل توجهی بالاتر بود (۶). مطالعه کوپر و همکاران در جامائیکا نشان داد سطح سرم ACE و آنژیوتانسینوزن به طور قابل توجهی در افراد چاق ($BMI > 30$) بالاست (۵). مطالعه جوادی و همکاران در کشور پاکستان نشان داد که ژنوتیپ DD در افراد چاق نسبت به افراد دارای اضافه وزن و طبیعی به طور قابل توجهی بالاست و ممکن است نشان دهنده ارتباط بین آلل D با سوخت و ساز چربی آریوسیت با تأثیر بر سطح پلاسمایی ACE باشد (۸). مطالعه مائو و همکاران نشان داد که ارتباط معنی داری میان ژنوتیپ DD و خطر ابتلا به چاقی در جمعیت کل مشاهده شده است (۱۱). در مطالعه انجام یافته توسط هلی کارمر و همکاران در سال ۲۰۰۵ با عنوان پلی مورفیسم های ژن آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین و چاقی درسه جمعیت سیاه انجام گرفت. در این مطالعه به بررسی ارتباط بین ۱۳ پلی مورفیسم ژن آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین از جمله پلی مورفیسم I/D که در اینترون ۱۶ بود، پرداخته شد. این بررسی‌ها نشان داد که پلی مورفیسم ژن ACE در توسعه اضافه وزن نقش دارند (۷). مطالعه سیتین و همکاران در سال ۲۰۰۹ نشان داد هیچ رابطه قوی بین پلی مورفیسم متیلن تتراهیدروفولات و ژن آنزیم تبدیل کننده آنژیوتانسین با چاقی افراد منطقه قاسم عربستان وجود ندارد (۱۳). هم‌چنین مطالعه سینوریتا و همکاران در سال ۲۰۱۰ در اندونزی نشان داد که هیچ ارتباطی بین سندروم متابولیک و ژن ACE در میان مبتلایان به دیابت نوع ۲ وجود ندارد (۱۵). لی در سال ۲۰۱۲ به مطالعه ارتباط پلی مورفیسم ژن ACE با فشارخون در جمعیت چین پرداخت. نتیجه مطالعه این بود که فراوانی آلل D برای گروه دارای فشارخون بالا ۰/۴۵ و برای گروه شاهد ۰/۴ بود یک ارتباط معنی داری بین توزیع فراوانی آلل D و خطر فشارخون وجود دارد (۱۰). مطالعه سا چانیک بر روی

منابع

1. Akin F, Turgut S, Bastemir M, Turgut G, Kursunluoglu R, Karasu U, Guclu A. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in overweight and obese Turkish patients with insulin resistance. *DNA Cell Biol.* 2010; 29(4): 207-12.
2. Barness, L. A. Opitz, J. M. & Gilbert- Barness E. Obesity: genetic, molecular and environmental aspects. *American J. Medical Genetics Part A*, 2007; 143(24): 3016-3034
3. Bitigen A, Cevik C, Demir D, et al. The frequency of angiotensin-converting enzyme genotype and left ventricular functions in the obese population. *Congest Heart Fail.* 2007; 13: 323-327
4. Brown NJ, Vaughan DE. Angiotensin converting enzyme inhibitors. *Circulation*, 1998; 97(14): 1411-20.
5. Cooper p, McFarlane-Anderson N, Bennett FI, Wilks R, Puras A, Tewksbury D., Ward R and Forrester T. ACE, angiotensinogen and obesity: a potential pathway leading to hypertension. *J. Human Hypertension*. 1997; 11: 107- 111
6. Fital S, Stephens JW, Dhamrait SS, Cooper JA, Acharya J, Miller GJ, Hurel SJ, et al. The D allele of the ACE I/D common gene variant is associated with type 2 diabetes mellitus in Caucasian subjects. *Mol Genet Metab.* 2005; 84: 83 – 89.
7. Holly Kramer, Xiaodong Wu, Donghui Kan, Amy Luke, Xiaofeng Zhu, Adebowale Adeyemo, Colin McKenzie, and Richard Cooper. Angiotensin-converting Enzyme Gene Polymorphisms and Obesity: An Examination of Three Black Populations, *obesity research*. 2005; 13: 823-828
8. Javaid A, Mansoor Q, Bilal N, Bilal A, Shaukat U, Ismail M. ACE Gene DD Genotype Association with Obesity in Pakistani Population. *Bioautomation*, 2011; 15(1): 49-56
9. Kariminejad A, Hadavi V, Oberkanins K, Najmabadi H. Genetic study of polymorphism ACE Ins/Del build as cardiovascular disease in the Iran population. *Genetics in the 3rd millennium* 2010; 8(1): 1952-1956
10. Li Y. Angiotensin-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism and essential hypertension in the Chinese population: A meta-analysis including participants. *Intern Med J* 2012; 42: 439-444
11. Mao S, Huang S. A meta-analysis of the association between angiotensin-converting enzyme insertion/ deletion gene polymorphism and the risk of overweight/obesity. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2015; 16(3): 687-94
12. Mehri S, Mahjoub S, Hammami S, et al. Renin-angiotensin system polymorphisms in relation to hypertensive obesity in a Tunisian population. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 4059-4065
13. Settin AA, Algasham A, Dowaidar M, et al. Methylene tetrahydrofolate reductase and angiotensin converting enzyme gene polymorphisms related to overweight/obesity among Saudi subjects from Qassim Region. *Dis Markers* 2009; 27: 97-102
14. Snyder E. E., B. Walts, L. Perusse, Y. C. Chagnon, S. J. Weisnagel, T. Rankinen, C. Bouchard., *The Human Obesity Gene Map: The 2003 Update.* *Obes Res*, 2004 ; 12(3): 369-439
15. Sinorita H, Madiyan M, Pramono RB, Purnama LB, Ikhsan MR, Asdie AH. ACE gene insertion/deletion polymorphism among patients with type 2 diabetes, and its relationship with metabolic syndrome at Sardjito Hospital Yogyakarta, Indonesia. *Acta Med Indones.* 2010; 42(1): 12-6.
16. Suchanek, P. Hubacek, J. A. Kralovalesna, I. Pinekerova, V. Adamkova, v. Actigenetic of ACE gene polymorphism in Czech obese sedentary females. *Physiol Res* 2009; 58: 47-520.
17. Xi B, Ruitter R, Chen J, et al. The ACE insertion/deletion polymorphism and its association with metabolic syndrome. *Metabolism* 2012; 61: 891-897