

چند شکلی‌های ژن پراکسیداز تیروئید و میزان آنتی بادی ضد آن در جمعیت بزرگسالان تهرانی

بیبا فام: کارشناس ارشد بیوشیمی، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. bitafaam@yahoo.com

دکتر مریم السادات دانشپور: دکترای ژنتیک، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. m_daneshpour@yahoo.com

مرضیه صالحی: کارشناس ارشد ژنتیک، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. marziehsalehi@yahoo.com

***دکتر مهدی هدایتی:** استادیار و دکترای بیوشیمی، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده غدد درون ریز و متابولیسم شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. (*نویسنده مسئول). hedayati@endocrine.ac.ir

دکتر فریدون عزیزی: استاد و فوق تخصص غدد درون ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات غدد درون ریز، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم شهید بهشتی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران. azizi@endocrine.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۰/۶/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۰/۱۲/۲۲

چکیده

زمینه و هدف: تغییرات ژنتیکی در ژن پراکسیداز تیروئیدی (TPO) یکی از علل اصلی بیماری خودایمنی غده تیروئید است. هدف این پژوهش، بررسی ارتباط چندشکلی‌های T_{۱۹۳۶C}، T_{۲۲۲۹C} و T_{۲۲۵۷C} ژن TPO با میزان آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی (Anti-TPO) در جمعیت بزرگسالان مطالعه قند و لیپید تهران (TLGS=Tehran Lipid and Glucose Study) بود.

روش کار: در مطالعه مورد-شاهدی حاضر، ۱۸۸ نفر (۸۶ مرد و ۱۰۲ زن) با فاصله سنی ۲۰ تا ۸۰ سال، به صورت تصادفی از افراد شرکت کننده در مطالعه قند و لیپید تهران انتخاب شدند. میزان Anti-TPO به روش سنجش جذب ایمنی متصل به آنزیم (ELISA= Enzyme Linked Immunosorbent Assay) اندازه گیری شد. چند شکلی‌های T_{۲۲۵۷C} و T_{۲۲۲۹C} به روش RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) و با استفاده از آنزیم‌های محدود کننده BsrI و Eco57I شناسایی شدند. چند شکلی T_{۱۹۳۶C} با روش ARMS-PCR amplification refractory mutation polymerase chain reaction- system مشخص گردید.

یافته ها: فراوانی ال‌ها و ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم‌های انتخابی از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت می‌کرد. حضور ال‌های پلی مورفیسم T_{۱۹۳۶C} با Anti-TPO ارتباط افزایشی نشان داد (p=۰/۰۰۲). TT: ۷۴/۱±۱۱/۳ IU/L در مقابل CT: ۴۷/۷±۱۵/۹ (CC: ۲۳۸±۴۳/۳) که این ارتباط پس از تعدیل اثر جنس و سن معنی دار نبود (p=۰/۰۵۹). چند شکلی T_{۲۲۲۹C} ارتباط معنی داری با میزان Anti-TPO نداشت (p=۰/۱۹۶). TT: ۱۲۶/۵±۱۳/۸ IU/L در مقابل CT: ۴۳/۵±۱۲/۶ (CC: ۱۲۹±۲۴/۵) که این ارتباط پس از تعدیل عوامل مداخله گر معنی دار بود (p=۰/۰۰۷). هاپلوتیپ‌های CTT و ATC با میزان Anti-TPO ارتباط داشتند (p=۰/۰۲۳ و p=۰/۰۲۱)، ارتباط هاپلوتیپ CTT با Anti-TPO پس از تعدیل اثر جنس همچنان معنی دار بود (p=۰/۰۱۴).

نتیجه گیری: بر اساس یافته‌های این پژوهش، سن و جنس از عوامل موثر بر ارتباط پلی مورفیسم‌های ژن TPO با میزان Anti-TPO محسوب می‌شوند.

کلیدواژه‌ها: آنزیم پراکسیداز تیروئیدی، چند شکلی، آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی، مطالعه قند و لیپید تهران.

مقدمه

کاری آن اشاره نمود که در اغلب موارد با افزایش میزان هورمون‌های T_۳ و T_۴ همراه است و بیماری گریوز (Graves) زمینه ساز بروز این اختلال محسوب می‌شود. اختلال شایع دیگر، کم کاری تیروئید است که معمولاً با کاهش تولید و ترشح هورمون‌های آن غده همراه بوده و ناهنجاری‌های مادرزادی تیروئید یا اختلالات

غده تیروئید به عنوان یکی از مهم ترین غدد درون ریز با ترشح هورمون‌های تیروکسین (T_۴) و T_۳-تری‌یدوتیرونین (T_۳) در کنترل و تنظیم رشد، تمایز، متابولیسم و اعمال فیزیولوژیک اغلب بافت‌های بدن نقش مهمی دارد (۱). از میان اختلالات شناخته شده غده تیروئید می‌توان به پر

روش بررسی

پژوهش مورد -شاهدی کنونی بر روی افراد بزرگسال شرکت کننده در مطالعه قند و لیپید تهران انجام شد. TLGS، به منظور تعیین عوامل خطر ساز بیماری‌های غیرواگیر، از جمله سندرم متابولیک با هدف اصلاح شیوه زندگی و پیشگیری از روند رو به رشد بیماری‌های دیابت نوع دو، اختلالات تغذیه ای و چربی های سرمی در جمعیت ۱۵۰۰۵ نفری از ساکنین منطقه ۱۳ شهر تهران طراحی شده و همچنان در حال اجراست (۱۱ و ۱۲). در این مطالعه، ۱۸۸ نفر (۸۶ مرد و ۱۰۲ زن) با فاصله سنی ۲۰ تا ۸۰ سال از میان افراد شرکت کننده در مطالعه قند و لیپید تهران به طور تصادفی انتخاب شدند. افراد شرکت کننده در این پژوهش، فرم رضایت نامه آگاهانه را امضا نمودند و این تحقیق توسط کمیته اخلاق پژوهشی پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به تصویب رسیده است. اطلاعات تن سنجی، بیوشیمیایی، سابقه خانوادگی بیماری های قلبی- عروقی، دیابت نوع دو و تیروئیدی، همچنین سابقه مصرف دارو و سیگار برای هر یک از افراد انتخاب شده ثبت شده است. میزان آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی (Anti-TPO) به روش سنجش جذب ایمنی متصل به آنزیم (ELISA) اندازه گیری شد. افراد بر اساس میزان Anti-TPO به دو گروه با $Anti-TPO < 100$ Iu/ml به عنوان گروه شاهد و $Anti-TPO \geq 100$ Iu/ml به عنوان گروه مورد تقسیم بندی شدند. بررسی هر یک از چند شکلی های انتخاب شده از ژن TPO بر روی DNA استخراج شده از نمونه خون افراد به روش نمک اشباع پروتئیناز K انجام گرفت. واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) برای تکثیر قطعه ۱۲۱bp پلی مورفیسم A۲۲۵۷C و قطعه ۱۷۷bp پلی مورفیسم T۲۲۲۹C ژن TPO با به کارگیری پرایمر های (Primers) ذیل به ترتیب انجام شد:

F: 5'CTGTCTCGGGTCATCTGTG3'

R: 5'GTAACGTGGTGTGAGAGGAGAC3'

F: 5'AAATAACCTTAATCATCAATTGG<T>3'

R: 5'GGTTCCTTAGCAGCAAGAGTC<C>3'

جهت تشخیص پلی مورفیسم های مورد نظر

خودایمنی مانند تیروئیدیت هاشیماتو (Hashimoto) که می تواند منجر به اختلال نامبرده شود. در بیماری های خودایمنی غده تیروئید، سیستم ایمنی بدن علیه بافت فولیکولی غده ویا آنزیم های آن آنتی بادی ترشح می کند. پژوهش ها بیانگر شیوع بیشتر اختلالات خودایمنی تیروئید در زنان نسبت به مردان می باشد. بر اساس مطالعات انجام شده، عوامل ژنتیکی در بروز بیماری هاشیماتو که اغلب در جمعیت زنان ۳۰ تا ۵۰ سال دیده می شود، نقش مهمی دارند و الگوی توارث این بیماری در خانواده هایی که دارای افراد مبتلا هستند، مشخص شده است. آنزیم پراکسیداز تیروئیدی (TPO)، به عنوان آنزیم کلیدی در ترکیب هورمون های تیروئیدی، واکنش های اصلی ید دار کردن باقیمانده های تیروزیل در گلیکو پروتئین تیروگلوبین و جفت شدن منو یدو تیرونین و دی یدو تیرونین را جهت تولید هورمون های تیروئیدی کاتالیز (catalyze) می کند (۲ و ۳). آنزیم TPO با ۹۳۳ اسید آمینه، گلیکو پروتئینی با وزن مولکولی ۱۱۰ کیلو دالتون است که از آهن به عنوان فعال کننده استفاده می کند (۴ و ۵). ژن کد کننده TPO با ۱۷ اگزون کد شونده حدود ۱۵۰ کیلو بار طول دارد و روی بازوی کوتاه کروموزوم دو در موقعیت ۲p ۲۵ واقع شده است (۶ و ۷). بر اساس یافته های پژوهش های مولکولی، تغییرات ژنتیکی TPO با وراثت اتوزومی مغلوب، یکی از شایع ترین علت های بروز بیماری های خود ایمنی غده تیروئید با مکانیسم های گوناگون مانند ناتوانی آنزیم TPO، کاهش توانایی آن جهت اتصال به فعال کننده و میان کنش با تیروگلوبین و جایگیری نامناسب در غده تیروئید است (۲، ۸-۱۰). با توجه به اهمیت ارتباط بین تغییرات ژنتیکی ژن پراکسیداز تیروئیدی با اختلالات خودایمنی غده تیروئید، هدف پژوهش کنونی بررسی ارتباط پلی مورفیسم های A۱۹۳۶G در اگزون ۱۱، T۲۲۲۹C و A۲۲۵۷C در اگزون ۱۲ ژن TPO با میزان آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی و بررسی اثر سن و جنس بر روی این ارتباط در جمعیت مورد مطالعه قند و لیپید تهران (TLGS) بود.

جدول ۱: فراوانی ژنوتیپ ها و الل های پلی مورفیسم های ژن TPO به تفکیک در جمعیت زنان و مردان

فراوانی ژنوتیپ ها (%)	کل جمعیت (تعداد= ۱۸۸)	مردان (تعداد= ۸۶)	زنان (تعداد= ۱۰۲)
T۲۲۲۹C			
CC	۱۲۹(۷۶/۳)	۶۷(۸۱/۷)	۵۹(۷۱/۱)
CT	۳۶(۲۱/۳)	۱۵(۱۸/۳)	۲۰(۲۴/۱)
TT	۴(۲/۴)	۰	۴(۴/۸)
T۱۹۳۶C			
CC	۱۰۳(۵۳/۹)	۲۵(۲۹/۱)	*۷۸(۷۶/۵)
CT	۷۳(۳۸/۲)	۵۴(۶۲/۸)	۱۶(۱۵/۷)
TT	۱۵(۸/۲)	۷(۸/۱)	۸(۷/۸)
A۲۲۵۷C			
CC	۱۱۸(۶۴/۱)	۴۵(۶۱/۶)	۷۳(۶۵/۸)
CA	۵۱(۲۷/۷)	۲۳(۳۱/۵)	۲۸(۲۵/۲)
AA	۱۵(۸/۲)	۵(۶/۸)	۱۰(۹)
فراوانی الل ها			
T۲۲۲۹C			
الل C	۰/۸۷	۰/۹۱	۰/۸۳
الل T	۰/۱۳	۰/۰۹	۰/۱۷
T۱۹۳۶C			
الل C	۰/۷۳	۰/۶۰	۰/۸۴
الل T	۰/۲۷	۰/۴۰	۰/۱۶
A۲۲۵۷C			
الل C	۰/۷۸	۰/۷۷	۰/۷۸
الل A	۰/۲۲	۰/۲۳	۰/۲۲

p < ۰/۰۵ :*

R1: 5'CTCCCATCTCTAAGTGCTACGTG3'

F2: 5'CAG ATGAAGGCTCTGCGGTAC3'

R2: 5' GGATAGGAACGTACCAGTACC3'

ژنوتیپ های مربوط به این SNP پس از انجام PCR بر روی ژل آگاروز ۲٪ تعیین گردید. وجود قطعات ۴۵۴bp و ۲۵۲ نشان دهنده ژنوتیپ AA و قطعات ۴۵۴ bp، ۳۲۰ و ۲۵۲ معرف ژنوتیپ GA بودند. ژنوتیپ GG با قطعات ۴۵۴ bp و ۳۲۰ تعیین گردید (جدول ۱). با بررسی پلی مورفیسم های مورد مطالعه، در ۱۰٪ از کل نمونه ها به روش تعیین توالی، نتایج مربوط به تعیین پلی چند شکلی ها تایید گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش بررسی پیروی از تعادل هاردی- واینبرگ و فراوانی اللی جمعیت مورد مطالعه، با

محصولات PCR به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس، تحت تاثیر آنزیم های محدود کننده BsrI و Eco57I انکوبه شدند. قطعات به دست آمده برای A۲۲۵۷SNPC و T۲۲۲۹C به ترتیب با استفاده از روش الکتروفورز، بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۲٪ و آگاروز ۳٪ بررسی شدند. در پلی مورفیسم اول، ژنوتیپ CC با قطعه ۱۲۱bp قابل شناسایی بود، قطعات ۶۸، ۱۲۱bp و ۶۲ معرف ژنوتیپ CA و قطعات ۶۲ و ۶۸ نشان دهنده ژنوتیپ AA بودند. در پلی مورفیسم T۲۲۲۹C، ژنوتیپ CC با قطعه ۱۷۷bp مشخص گردید. قطعات ۱۷۷، ۹۵ و ۸۲ بیانگر ژنوتیپ CT و قطعات ۹۵ و ۸۲ معرف ژنوتیپ TT بودند. پلی مورفیسم انتخابی ۱۹۳۶G در اگزون ۱۱ ژن TPO به روش ARMS-PCR با استفاده از پرایمر های ذیل مورد بررسی قرار گرفت.

F1: 5'CTAGAGTGAGATGGGCTGAAC3'

یافته‌ها

یافته‌های این پژوهش نشان داد که میانگین آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی در جمعیت ۱۸۸ نفری انتخاب شده از جمعیت TLGS، 1.05 ± 0.36 IU/L بود. مقایسه میزان این آنتی در جمعیت مردان و زنان به تفکیک، نشان داد که میانگین Anti-TPO بین آنها متفاوت بود ($p < 0.001$)؛ 1.47 ± 0.51 IU/L در مقابل 0.41 ± 0.56 IU/L. فراوانی الی و ژنوتیپی پلی مورفیسم های $T1936C$ ، $T2229C$ و $A2257C$ ژن TPO از تعادل هاردی-واینبرگ تبعیت می کرد. با توجه به فراوانی الی ها و ژنوتیپ ها که در جدول ۱ نشان داده شده است، فراوانی الی پلی مورفیسم‌های انتخاب شده بین جمعیت مردان و زنان تفاوت معنی داری نداشت. در صورتی که شیوع ژنوتیپ های پلی مورفیسم $T1936C$ بین دو جنس متفاوت بود ($p < 0.001$). بر اساس یافته های به دست آمده، حضور الی C پلی مورفیسم $T1936C$ با میزان Anti-TPO ارتباط افزایشی نشان داد ($p = 0.002$)؛ 1.11 ± 0.74 IU/L در مقابل 0.9 ± 0.43 IU/L. اگرچه این ارتباط پس از اعمال عوامل مخدوش کننده از جمله سن و جنس معنی دار باقی نماند ($p = 0.059$). پلی مورفیسم $T2229C$ با میزان آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی رابطه معنی داری نداشت ($P = 0.196$)؛ 1.13 ± 0.12 IU/L و 0.96 ± 0.43 IU/L. این ارتباط پس از تعدیل اثر سن و جنس نیز معنی دار نبود ($p = 0.480$). اگر چه میزان Anti-TPO پیش از تعدیل عوامل مداخله گر با ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم $A2257C$ ارتباط معنی داری نداشت ($P = 0.233$)؛ 0.96 ± 0.66 IU/L و 0.96 ± 0.66 IU/L. ولی پس از اعمال اثر سن و جنس، ارتباط بین آنها معنی دار گردید ($p = 0.007$).

تعیین و بررسی شاخص عدم تعادل پیوستگی (LD) نشان داد که پلی مورفیسم $T1936C$ با $T2229C$ و $A2257C$ پلی مورفیسم $T2229C$ با $A2257C$ ارتباط مثبت داشت (به ترتیب 0.494 و 0.227) ($D' = 0.2$).

بر اساس یافته های به دست آمده از تجزیه و تحلیل هاپلوتیپ ها، برای سه پلی مورفیسم مورد

جدول ۲. شاخص تعیین عدم تعادل پیوستگی بین واریانت های مورد

	T1936C	T2229C	A2257C
C1936T		0.494 (1/82)	0.007 (0.969)
T2229C			0.227 (0.446)
A2257C			

جدول ۳. فراوانی هاپلوتیپ های ژن پراکسیداز تیروئیدی

جمعیت	هاپلوتیپ (%)
0.48	*ATC
0.66	CTT
0.46	CTC
0.11	ATT
0.153	ACC
0.31	CCT
0.536	CCC

* ترتیب قرارگیری پلی مورفیسم ها در هاپلوتیپ ها: $T2229C$ و $T1936C$ ، $A2257C$

استفاده از نرم افزار پاور مارکر صورت گرفت (۱۳). محاسبه داده های آماری به کمک نرم افزار spss نسخه ۱۶ و نرم افزار R نسخه ۲/۱۰/۱ و همچنین STATA نسخه ۹/۱ انجام شد. توزیع متغیر کمی مورد مطالعه با استفاده از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف مورد بررسی قرار گرفت. از آنجایی که توزیع آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی در جمعیت انتخابی، نرمال نبود، از فرم لگاریتمی آن در آنالیزها استفاده شد. مقایسه میانگین Anti-TPO در سه گروه ژنوتیپی با استفاده از روش آماری تحلیل واریانس یکطرفه (ANOVA) و تعدیل نقش عوامل کوواریانس (ANCOVA) انجام شد. تعیین شاخص های عدم تعادل پیوستگی ($LD = Linkage Disequilibrium$) برای پلی مورفیسم های مورد بررسی با روش 'Pairwise Lewontin's D' و با استفاده از بسته LD نرم افزار R تعیین گردید.

فراوانی هاپلوتایپ ها با استفاده فایل اجرایی haplo.em از الگوریتم EM در بسته "haplo.stas" نرم افزار R برآورد شد. ارتباط هر یک از هاپلوتیپ ها با سطح Anti-TPO به کمک تابع haplo.glm در بسته "haplo.stas" از نرم افزار R مورد بررسی قرار گرفت. سطح معنی داری برای تمام آنالیز های آماری 0.05 در نظر گرفته شد.

نتایج مطالعه‌ای که با استفاده از روش تعیین توالی ژن TPO انجام شد، نشان داد که بروز تغییرات ژنتیکی در این ژن با بیماری کم کاری تیروئید مادرزادی ارتباط دارد (۱۵). تحقیق دیگری بر روی جمعیت بزرگسالان آرژانتینی نشان داد که نوعی جهش تغییر قالب در اگزون ۸ ژن TPO می‌تواند منجر به بروز بیماری خود ایمنی غده تیروئید شود (۹). یافته‌های دانشمندان دیگر نشان داد که تغییرات ژنتیکی در اگزون ۱۰ ژن TPO بر روی فعالیت آنزیمی تیروئید پراکسیداز موثر است (۱۶). نتایج مطالعات گوناگون و پژوهش کنونی، می‌تواند موکد نقش موثر تغییرات ژنتیکی ژن پراکسیداز تیروئیدی در بروز بیماری‌های خودایمنی غده تیروئید باشد. به علاوه بر اساس یافته‌های این پژوهش، در جمعیت تهرانی مورد بررسی، فاکتورهای سن و جنس نقش مهمی بر روی ارتباط بین پلی مورفیسم‌های ژن TPO با میزان آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی داشتند.

از مشکلات این مطالعه می‌توان به موارد ذیل اشاره نمود: (۱) تعداد محدودی از پلی مورفیسم‌های ژن TPO، به دلیل محدودیت‌های مالی مورد بررسی قرار گرفت. (۲) به علت کم بودن افراد انتخاب شده، تعمیم نتایج این مطالعه به جمعیت ایرانی امکان پذیر نیست. (۳) اطلاعات مربوط به هورمون‌های تیروئیدی افراد انتخاب شده در دسترس نبود.

تقدیر و تشکر

این پژوهش دارای کد ۲۴۰ و با حمایت‌های مالی و امکانات پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشکده علوم پزشکی شهید بهشتی انجام گرفت. از همکاران پژوهشکده به ویژه جناب آقای کامران گیتی تشکر می‌شود.

منابع

1. Andersen S, Pedersen K M, Bruun N H, Laurberg P. Narrow individual variations in serum T(4) and T(3) in normal subjects: a clue to the understanding of subclinical thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002;87: 1068-72.
2. Nunez J, Pommier J. Formation of thyroid hormones. *Vitam Horm.* 1982;39: 175-229.

بررسی، از لحاظ نظری، ۱۲ ساختار هاپلوتیپی ممکن بود که تنها هفت مورد از آنها با فراوانی بیشتر از ۱٪ در جدول ۳ آورده شده‌اند. هاپلوتیپ CCC با ال‌های طبیعی در هر سه جایگاه ژنتیکی و فراوانی ۵۳٪، به عنوان هاپلوتیپ پایه در نظر گرفته شد. ارتباط هاپلوتیپ مذکور با میزان Anti-TPO از نظر آماری معنی‌دار نبود. هاپلوتیپ‌های ATC و CTT با سطح آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی، ارتباط معنی‌داری نشان دادند (۰/۰۲۱ و ۰/۰۲۳). رابطه بین هاپلوتیپ CTT با میزان Anti-TPO پس از تعدیل اثر سن همچنان معنی‌دار بود (۰/۰۱۴). در صورتی که ارتباط هاپلوتیپ ATC با میزان Anti-TPO پس از تعدیل عوامل مخدوش‌کننده معنی‌دار باقی‌نماند (۰/۴۱۸).

بحث و نتیجه‌گیری

پژوهش کنونی با بررسی ارتباط بین سه پلی مورفیسم T1۹۳۶C، T۲۲۲۹C و A۲۲۵۷C ژن پراکسیداز تیروئیدی با میزان آنتی بادی ضد آن نشان داد که بروز تغییرات ژنتیکی در ژن TPO با میزان آنتی بادی تولیدی علیه آن ارتباط دارد و سن و جنساز جمله عوامل موثر محسوب می‌شوند. نتایج به دست آمده از بررسی رابطه بین هاپلوتیپ‌های حاصل از سه جایگاه پلی مورفیک انتخاب شده بر روی ژن TPO با سطح سرمی Anti-TPO، موید نقش موثر تغییرات ژنتیکی مورد مطالعه با میزان آنتی بادی ضد پراکسیداز تیروئیدی است.

بر اساس مطالعات مولکولی، ساختمان پروتئینی آنزیم TPO وابسته به ژن کدکننده آن است، که با یک ساختار طبیعی، نقش کلیدی در سنتز هورمون‌های تیروئیدی ایفا می‌کند (۹ و ۱۴). در صورت بروز تغییرات ژنتیکی منتهی به تغییر ساختار پروتئینی، TPO به عنوان یک جسم خارجی توسط سیستم ایمنی بدن شناسایی شده و علیه آن آنتی بادی تولید و ترشح می‌کند. به عنوان مثال جایگزینی ال‌C پلی مورفیسم T1۹۳۶C منجر به جایگزینی اسید آمینه والین با متیونین در ساختار پروتئینی TPO می‌شود، تغییر ایجاد شده می‌تواند با ایجاد تغییر در ساختمان طبیعی این پروتئین، عاملی جهت ترشح آنتی بادی علیه آن باشد.

total iodide organification defect. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88: 3264-71.

16. Bikker H, Baas F, De Vijlder JJ. Molecular analysis of mutated thyroid peroxidase detected in patients with total iodide organification defects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1997;82: 649-53.

3. Degroot L J, Niepomniszcze H. Biosynthesis of thyroid hormone: basic and clinical aspects, *Metabolism.* 1977;26: 665-718.

4. Libert F, Ruel J, Ludgate M, Swillens S, Alexander N, Vassart G, et al. Thyroperoxidase, an auto-antigen with a mosaic structure made of nuclear and mitochondrial gene modules. *EMBO J.* 1987;6: 4193-6.

5. Seto P, Hirayu H, Magnusson R P, Gestautas J, Portmann L, DeGroot L J, et al. Isolation of a complementary DNA clone for thyroid microsomal antigen. Homology with the gene for thyroid peroxidase. *J Clin Invest.* 1987;80: 1205-8.

6. Kimura S, Kotani T, McBride O W, Umeki K, Hirai K, Nakayama T, et al. Human thyroid peroxidase: complete cDNA and protein sequence, chromosome mapping, and identification of two alternately spliced mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84: 5555-9.

7. Endo Y, Onogi S, Umeki K, Yamamoto I, Kotani T, Ohtaki S, et al. Regional localization of the gene for thyroid peroxidase to human chromosome 2p25 and mouse chromosome 12C. *Genomics.* 1995;25: 760-1.

8. Fugazzola L, Mannavola D, Vigone M C, Cirello V, Weber G, Beck-Peccoz P, et al. Total iodide organification defect: clinical and molecular characterization of an Italian family. *Thyroid.* 2005;15: 105-8.

9. Abramowicz M J, Targovnik H M, Varela V, Cochaux P, Krawiec L, Pisarev M A, et al. Identification of a mutation in the coding sequence of the human thyroid peroxidase gene causing congenital goiter. *J Clin Invest.* 1992;90: 1200-4.

10. Pfarr N, Borck G, Turk A, Napiontek U, Keilmann A, Muller-Forell W, et al. Goitrous congenital hypothyroidism and hearing impairment associated with mutations in the TPO and SLC26A4/PDS genes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91: 2678-81.

11. Azizi F, Rahmani M, Emami H, Mirmiran P, Hajipour R, Madjid M, et al. Cardiovascular risk factors in an Iranian urban population: Tehran lipid and glucose study (phase 1). *Soz Preventivmed* 2002;47: 408-26. [Persian].

12. Azizi F, Mirmiran P, Azadbakht L. Predictors of cardiovascular risk factors in Tehranian adolescents: Tehran Lipid and Glucose Study. *Int J Vitam Nutr Res.* 2004;74: 307-12. [Persian]

13. PowerMaker[®] Software, Version 3.25 released on 2/5/2006. Available from (Original Site): <http://statgen.ncsu.edu/powermarker/>

14. Kotani T, Umeki K, Kawano J, Sukanuma T, Hishinuma A, Ieiri T, et al. Partial iodide organification defect caused by a novel mutation of the thyroid peroxidase gene in three siblings. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003;59: 198-206.

15. Fugazzola L, Cerutti N, Mannavola D, Vannucchi G, Fallini C, Persani L, et al. Monoallelic expression of mutant thyroid peroxidase allele causing

Thyroid Peroxidase Gene Polymorphisms and Anti-TPO level in Tehranian adults

Bitafam, MSc. Biochemistry, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. bitafam@yahoo.com

Maryam Sadat Daneshpour, PhD. Genetics, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. m_daneshpour@yahoo.com

Marziyeh Salehi MSc. Genetics, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. marzihsalehi@yahoo.com

***Mehdi Hedayati, PhD.** Assistant Professor of Biochemistry, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. (*Corresponding Author) hedayati@endocrine.ac.ir

Fereydoon Azizi, MD. Professor of Endocrinology, Endocrine Research Center, Research Institute for endocrine sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. azizi@endocrine.ac.ir

Abstract

Background: TPO gene variations are one of the causes of thyroid autoimmune diseases. The aim of this study was to examine the association between the T1936C, T2229C and A2257C SNPs (single nucleotide polymorphisms) of the TPO gene and Anti-TPO level.

Methods: In this case-control study, 188 individuals (86 males and 102 females), aged 20-80 years, were randomly selected from the Tehran Lipid and Glucose Study population (TLGS). A2257C and T2229C SNPs were detected with RFLP by use of BsrI and Eco57I as restrictive enzymes respectively, while the T1936C SNP was determined with ARMS-PCR.

Results: In the presence of the C allele of T1936C, Anti-TPO level was significantly increased (CC: 238 ± 43.3 , CT: 47.7 ± 15.9 , TT: 74.1 ± 11.3 IU/L; $p < 0.002$); however, it disappeared after adjustment for sex and age ($p < 0.059$). No significant difference, before and after adjustment, was found in Anti-TPO level in the presence of T2229C SNP (CC: 129.1 ± 24.5 , CT: 43.5 ± 12.6 , TT: 126.5 ± 13.8 IU/L; $p < 0.196$). The association of A2257C with Anti-TPO level was only significant after adjustment for sex and age ($p < 0.007$), and between the ATC, CTT haplotypes and Anti-TPO level, the association was significant ($p < 0.023, 0.021$); however, the association it was dominant between CTT and anti-TPO concentration was significant only after adjustment for sex ($p < 0.014$).

Conclusion: The result of this study, showed age and sex as potential confounders which could modify the association between TPO polymorphisms and Anti-TPO level in a Tehranian population.

Keywords: Thyroid Peroxidase, Polymorphism, Anti-TPO, TLGS.