

# ارتباط پلیمورفیسم $\beta_3$ -Adrenoreceptor ژن Trp64Arg، نمایه توده بدنی و غلظت سرمی لپتین در مطالعه قند و لیپید تهران

## چکیده

زمینه و هدف: موتاسیون و پلیمورفیسم‌های ژن  $\beta_3$ -Adrenoreceptor(ADRB3)، در ارتباط با چاقی مطرح می‌باشند. هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلیمورفیسم Trp64Arg با نمایه توده بدنی و میزان لپتین در جمعیت قند و لیپید تهران بود.

روش بررسی: مطالعه از نوع Cross-sectional می‌باشد. افراد شرکت کننده در مطالعه قند و لیپید تهران در ۴ گروه براساس نمایه توده بدنی(BMI) (قرار گرفتند) ( $BMI \geq 20$ ,  $BMI < 20$ ,  $20 \leq BMI < 25$ ,  $25 \leq BMI < 20$ ) و از میان آنها در مجموع ۴۰۱ نفر با میانگین سنی  $44 \pm 14$  سال (مرد  $46 \pm 14$  ساله و زن  $42 \pm 13$  ساله) به طور تصادفی انتخاب شدند. هر گروه به ترتیب شامل  $98, 97, 104$  و  $102$  نفر بود. میزان لپتین با استفاده از روش Enzyme immuno assay (EIA) و میزان قند خون ناشتا، (High density lipoprotein)HDL-C آنژیمی اندازه‌گیری شد. فاکتورهای موثر در چاقی شامل نمایه توده بدنی و فشارخون مشخص گردیدند. یک قطعه ۲۱۰ جفت بازی از ژن مورد نظر با استفاده از تکنیک PCR (Polymerase chain reaction) PCR (بالا آنژیم (MvaI) (بالا آنژیم (Restricted fragment length polymorphism) RFLP) تعیین گردید. از آزمون ANOVA دو دامنه به دنبال post-hoc با آزمون‌های چندگانه توکی برای مقایسه یافته‌های آزمایشگاهی چهار گروه BMI همچنین دو گروه (آزمایشگاهی آرژنین) و (غیر آزمایشگاهی آرژنین) استفاده گردید. داده‌ها به وسیله نرم افزار SPSS(version 11.5) تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: فراوانی ال A در افراد مورد مطالعه،  $0.08$  بود و از تعادل هاردی و وینبرگ تبعیت می‌کرد. این ال با افزایش نمایه توده بدنی( $TT$ :  $25 \pm 5$  کیلوگرم بر مترمربع در مقابل  $TA/AA$ :  $27 \pm 6$  کیلوگرم بر مترمربع،  $P = 0.043$ ) و افزایش سطح لپتین( $TT$ :  $23 \pm 21$  کیلوگرم بر مترمربع در مقابل  $TA/AA$ :  $20 \pm 25$  کیلوگرم بر مترمربع،  $P = 0.009$ ) ارتباط معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری: این یافته‌ها ارتباط پلیمورفیسم Trp64Arg ژن  $\beta_3$ -Adrenoreceptor را با افزایش نمایه توده بدنی و سطح لپتین در افراد مورد مطالعه نشان داد.

کلیدواژه‌ها: ۱- چاقی ۲- نمایه توده بدنی ۳- لپتین ۴- پلیمورفیسم ۵-  $\beta_3$ -Adrenoreceptor

تاریخ دریافت: ۸۵/۷/۲۴، تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۲/۵

- (I) کارشناس ارشد بیولوژی سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- (II) استادیار و PhD بیوشیمی، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- (III) استادیار و PhD تغذیه، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران.
- (IV) استاد و فوق تخصص بیماری‌های غدد درون‌ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان طالقانی، اوین، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران (مؤلف مسؤول).

## مقدمه

در ساختمان گیرنده ADRB3 می‌گردد.<sup>(۱۴)</sup> گزارشات متفاوتی مبنی بر وجود ارتباط بین پلیمورفیسم Trp64Arg و افزایش میزان اضافه وزن وجود دارد.<sup>(۱۳)</sup> از طرف دیگر، لپتین یک هورمون مترشحه داخلی با نقشهای متابولیک متفاوت است که ساختمان آن در بین گونه‌های مختلف به شدت حفظ شده است.<sup>(۱۵)</sup> آزاد شدن لپتین از سلولهای چربی، به میزان توده این بافت و پیامهای ارسالی از مغز بستگی دارد.<sup>(۱۶)</sup>

با توجه به نقش لپتین در چاقی، وابستگی میزان آن با نمایه توده بدنی و دخالت پلیمورفیسم ژن ADRB3، در این مطالعه، ارتباط بین پلیمورفیسم ژن ADRB3، نمایه توده بدنی و سطح لپتین در جمعیت قند و لیپید تهران مورد بررسی قرار گرفت.

## روش بررسی

جامعه مورد بررسی از میان شرکت کنندگان طرح مطالعه قند و لیپید تهران انتخاب شد. مطالعه قند و لیپید تهران بررسی آینده‌نگری است که جهت بررسی عوامل خطرساز بیماری‌های غیرواگیر در ۱۵۰۰۵ نفر از جمعیت تهران انجام شد.<sup>(۱۷-۱۹)</sup>

ابتدا کل افراد شرکت کننده در مطالعه قند و لیپید تهران براساس نمایه توده بدنی (حاصل تقسیم وزن بر حسب کیلوگرم بر مجذور قد بر حسب متر) به ۴ گروه تقسیم شدند. در تقسیم‌بندی مذکور، افراد با BMI کمتر از ۲۰ کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد کم وزن، بین ۲۰ تا ۲۵ کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد با وزن طبیعی، بین ۲۵ تا ۳۰ کیلوگرم بر مترمربع به عنوان شاخص افراد دارای اضافه وزن و بیش‌تر از ۳۰ کیلوگرم بر مترمربع به عنوان افراد چاق در نظر گرفته شدند. در جمعیت مذکور، سن بالای ۱۸ سال، تریگلیسرید کمتر از ۴۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر، عدم مصرف دارو و فقدان بیماری قلبی - عروقی و فشار خون، معیارهای ورود به مطالعه بودند. براساس معیارهای مذکور، به طور تصادفی تعداد ۴۰۱ نفر با میانگین سنی  $44 \pm 14$  سال شامل ۱۹۷ مرد (۴۶±۱۴ ساله) و ۲۰۴ زن (۴۲±۱۳ ساله)

در جوامع مدرن، چاقی یکی از مشکلات مهم سلامتی افراد<sup>(۱)</sup> و یکی از عمده‌ترین مشکلات رایج در اغلب کشورها می‌باشد. متاسفانه مشکل مذکور، علی‌الخصوص در مناطقی که اخیراً تغییرات روش زندگی به شیوه جوامع صنعتی ایجاد شده است، به سمت همه‌گیری پیش می‌رود.<sup>(۲)</sup> چاقی در انسان تحت تاثیر مجموعه پیچیده‌ای از فاکتورهای متفاوت با قابلیت انتقال ارشی می‌باشد.<sup>(۳)</sup> فاکتورهای محیطی و ژنتیکی، هر دو بر این مشکل تاثیر گذار بوده و سلامتی انسان را تحت تاثیر قرار می‌دهند.<sup>(۴)</sup> چاقی به عنوان تجمع بافت چربی منتج از عدم تعادل دریافت انرژی و مصرف آن تعریف می‌شود.<sup>(۱)</sup> پلیمورفیسم‌های ژنتیکی متفاوتی در ارتباط با فنوتیپ‌های چاقی وجود دارند.<sup>(۵)</sup> در مورد نقش کلیدی ژن‌ها و اثر متقابل پلیمورفیسم‌ها در پیشرفت چاقی در انسان، اطلاعات کمی در اختیار می‌باشد.<sup>(۶)</sup>

گیرنده‌های آدرنرژیک، پروتئین‌های سطح سلولی هستند که با تمايل زیادی، با آدرنالین و نورآدرنالین پیوند برقرار می‌کنند و منجر به تغییرات داخل سلولی می‌شوند. گیرنده‌های آدرنرژیک، براساس فعالیت‌های سلولی، به دو گروه آلفا و بتا تقسیم می‌شوند.<sup>(۹)</sup> شواهدی مبنی بر لیپولیز و افزایش مصرف انرژی توسط  $\beta_3$ -Adrenoreceptor دارند.<sup>(۱۰)</sup> اخیراً ژن  $\beta_3$ -Adrenoreceptor ( $\beta_3$ -Adrenoreceptor) ADRB3 در انسان غالباً در بافت چربی بیان می‌شود.<sup>(۱۱)</sup> این پروتئین شامل ۷ ناحیه عرض غشایی است و به G پروتئین‌ها متصل می‌شود.<sup>(۱۲)</sup> ترکیبات مشابه بتا - آدرنرژیک از طریق فعال کردن آنزیم آدنیلات سیکلاز و افزایش سطح داخل سلولی cAMP، سبب لیپولیز و گرمایشی می‌شوند. بنابراین، ADRB3 نقش تنظیمی در متابولیسم لیپید و گرمایشی دارد.<sup>(۱۲)</sup> ژن ADRB3 بر روی کروموزوم ۸ انسانی در موقعیت ۸p12-p11.2 قرار دارد.<sup>(۱۳)</sup> در پلیمورفیسم Trp64Arg، باز تیمیدین (T) با سیتوزین (C) در نوکلئوتید شماره ۱۹۰ جایگزین می‌شود.<sup>(۴)</sup> این جابجایی منجر به جانشینی شدن آرژنین (A) به جای تریپتوفان (T) در کدون ۶۴

- (۱) مرحله واسرژت(Denaturation) ابتدایی: ۵ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد(یک سیکل)
- (۲) مرحله Denaturation: ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد
- (۳) مرحله اتصال(Arming): ۴۵ ثانیه در دمای ۶۴ درجه سانتی گراد
- (۴) مرحله طویل سازی(Extention): ۴ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد(مراحل ۲ تا ۴، ۳ سیکل تکرار شد)
- (۵) مرحله Extention نهایی: ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد(یک سیکل).

کنترل صحت تکثیر PCR با استفاده از کنترل‌های مثبت و منفی بررسی گردید. صحت تکثیر قطعه مورد نظر بر روی ژل آگارز ۲٪ بررسی گردید و نمونه‌های تکثیر شده جهت بریده شدن با آنزیم محدود الاثر آماده گردیدند.<sup>(۲۰)</sup> صحت تکثیر قطعه مورد نظر بر روی ژل آگارز ۲٪ بررسی گردید. میزان ۱۰ میکرولیتر از محصولات PCR تحت اشر هضم آنزیم Mval (شرکت Roche، آلمان) RFLP (انکوبه شدن. نتیجه الکتروفورز محصولات (Restricted fragment length polymorphism)، (ژل آگارز ۴٪، رنگ آمیزی با اتیدیوم برماید)، توسط دستگاه Transluminator مشاهده گردید.

داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS تجزیه و تحلیل شدند. متغیرهای کمی با میانگین  $\pm$  انحراف معیار و متغیرهای کیفی به صورت درصد بیان شدند. از آزمون دو دامنه به دنبال post-hoc با آزمون‌های چندگانه توکی برای مقایسه یافته‌های آزمایشگاهی چهار گروه، BMI، همچنین دو گروه حاملین آرژنین (AA/TA) و غیر حاملین آرژنین (TT) استفاده گردید. سطح معنی دار آماری،  $0.05$  در نظر گرفته شد.

#### یافته‌ها

در  $۴۰۱$  نفر (۱۹۷ نفر مرد و  $۲۰۴$  نفر زن) از افراد مورد مطالعه از مطالعه قند و لیپید تهران، متوسط متغیرهای بالینی و تن‌سننجی شامل سن، فشار خون، نمایه توده بدنی، دور کمر، دور باسن، نسبت دور کمر به دور باسن و همچنین

انتخاب شدند. تعداد افراد انتخاب شده در هر گروه به ترتیب  $۹۷$ ،  $۹۸$ ،  $۹۸$ ،  $۱۰۲$  نفر بود. اطلاعات مربوط به سن، جنس، مصرف سیگار، سطح فعالیت بدنی، بیماری قلبی - عروقی و وضعیت افراد مونث از نظر بارداری و یا یائسگی به صورت پرسشنامه‌ای، ثبت شد. داده‌های مربوط به قد، وزن و فشار خون اندازه‌گیری گردیدند. از کلیه افراد مراجعه کننده به واحد تحقیقات قند و لیپید واقع در شرق تهران، دو نمونه خون محیطی، یکی لخته و دیگری حاوی ضدانعقاد EDTA (Ethylene diaminetetra-acetic acid) گرفته شد.

به همکاری شرکت پارس آزمون (تهران، ایران)، میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید سرم و قند خون ناشتا به روش رنگ‌سنجی آنژیمی و میزان HDL-C، به روش رسوبی فسفوتانکستات سدیم اندازه‌گیری شد. غلظت سرمی لپتین تمام نمونه‌ها نیز با استفاده از کیت الایزای (diagnostics biochemical Canada Inc.) اندازه‌گیری شد.

استخراج DNA مطابق گزارش قبلی انجام گرفت.<sup>(۲۰)</sup> نمونه‌های DNA حاصل در  $۲۰$ - درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از بررسی کمی و کیفی DNA استخراجی با اسپکتروفوتومتر و الکتروفورز، تکثیر قطعه  $۲۱۰$  جفت بازی از  $\beta$ 3 ADRB با استفاده از تکنیک PCR انجام گردید. هر مخلوط PCR به حجم  $۲۵$  میکرولیتر، شامل (di Nucleotid Tri Phosphate)dNTPs، Taq DNA Polymerase، MgCl<sub>2</sub>(1.5mM)mix(0.2mM) و جفت پرایمرهای رفت و برگشت 5'CGCCAATACGCCAACAC-3'

و

5'-CCACCAAGAGTCCCATCACC-3'

توبه شده از شرکت آرمن شکر (آرمن شکر) بود. به هر لوله میزان  $۵۰$  نانوگرم از DNA استخراج شده اضافه گردید و پس از افزودن روغن معدنی استریل به نمونه‌ها، این لوله‌ها سانتریفوژ شدند و سپس به دستگاه ترموسایکلر (ساخت کارخانه Hybaid انگلستان) منتقل گردیدند. شرایط ترموسایکلر پس از بهینه‌سازی شامل موارد ذیل بود:

۲۱ نفر (۴/۳۴٪) نیز با افزایش BMI، افزایش نشان داد. متغیرهای بالینی و بیوشیمیابی از جمله فشار خون سیستولیک و دیاستولیک، قندخون ناشتا و تری‌گلیسرید نیز با افزایش نمایه توده بدنی، افزایش نشان دادند.

در جدول شماره ۲، متغیرهای تن-سنگی، بالینی و بیوشیمیایی در دو گروه حاملین آرژنین و غیرحامelin آرژنین ارایه شد. در کل ۳۴۰ نفر ژنوتیپ TT و ۶۱ نفر ژنوتیپ AA/TA داشتند. فراوانی آلل آرژنین، ۸/۰٪ و فراوانی آلل Trip، ۹۲/۰٪ در جمعیت مورد مطالعه بdst است آمد. فراوانی های حاصله، از تعادل هاردی - وینبرگ تبعیت می نمودند. در گروه حاملین آرژنین، متوسط نمایه توده بدنی، ۲۷ کیلوگرم بر مترمربع ( $P=0/043$ ) و متوسط غلظت لپتین، ۳۰ میلی گرم در دسی لیتر ( $P=0/009$ ) بود که بیشتر از متوسط این متغیرها در گروه غیرحامelin آرژنین بود. همچنین دور کمر، نسبت دور کمر به دور باسن، قند خون ناشتا، کلسترول تام و تری گلیسرید ( $P<0/05$ ) در این دو گروه اختلاف معنی دار نشان دارد.

متوسط میزان سرمی قند خون ناشتا، کلستروول تام،  
تریگلیسرید و HDL-C اندازه‌گیری شد.

در جدول شماره ۱، متغیرهای بالینی و بیوشیمیابی افراد مورد مطالعه در چهار گروه BMI آمده است. افراد مورد مطالعه در این چهار گروه، از نظر سن تفاوت معنی داری نشان ندادند. در این ۴ گروه، کلسترونول تام ( $BMI < 20$ ) ۱۹۷±۴ میلی گرم در دسی لیتر در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  میلی گرم در دسی لیتر،  $< 0.05$  P، تری گلیسیرید ( $BMI < 20$ ) ۱۶۶±۳۹ میلی گرم در دسی لیتر در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  میلی گرم در دسی لیتر،  $< 0.05$  P، همچنین لپتین ( $BMI < 20$ ) ۱۶۷±۷۱ میلی گرم در دسی لیتر در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  میلی گرم در دسی لیتر،  $< 0.05$  P و همچنین لپتین ( $BMI < 20$ ) ۹۱±۲۰ میلی گرم در دسی لیتر در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  میلی گرم در دسی لیتر،  $< 0.05$  P با افزایش نمایه توده بدنی، افزایش چشمگیری نشان دادند. فشار خون سیستولیک ( $BMI \geq 20$ ):  $BMI \geq 20$  ۱۰۷±۱۵ میلیمتر جیوه در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  ۱۱۷±۱۳ میلیمتر جیوه،  $< 0.05$  P و دیاستولیک ( $BMI < 20$ )  $BMI < 20$  ۷۶±۷ میلیمتر جیوه در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  ۶۹±۸ میلیمتر جیوه در مقابل  $BMI \geq 30$ :  $BMI \geq 30$  نیز تفاوت معنی داری نشان دادند. تعداد حاملین آرڈننس:  $BMI > 20$ : ۸ نفر (۱۳٪) در مقابل  $BMI < 30$ :  $BMI < 30$  ۱۳ نفر (۲۷٪)  $< 0.05$  P.

**جدول شماره ۱- متغیرهای بالینی، بیوشیمیایی و فاراونی یا مورفیسم ۵- $\beta_3$ -Adrenoreceptor در افراد مورد مطالعه براسان گروههای BMI**

(n=۱۰۲)۳۰≤BMI	(n=۱۰۴)۲۵≤BMI<۳۰	(n=۹۸)۲۰≤BMI<۲۵	(n=۹۷)BMI<۲۰	متغیر
۴۴ ± ۱۲	۴۴ ± ۱۲	۴۴ ± ۱۳	۴۲ ± ۱۸	سن(سال)
۱۱۷ ± ۱۳	۱۱۶ ± ۱۲	۱۰۹ ± ۱۲ <sup>+</sup>	۱۰۷ ± ۱۵*	فشارخون سیستولیک(میلیمتر جیوه)
۷۶ ± ۷	۷۵ ± ۷	۷۱ ± ۹ <sup>+</sup>	۶۹ ± ۸*	فشارخون دیاستولیک(میلیمتر جیوه)
۹۶ ± ۲۸	۹۶ ± ۲۶	۸۹ ± ۱۸	۸۶ ± ۱۳*	قدنناشتا(میلیگرم در دسی لیتر)
۱۹۷ ± ۴۰	۲۰۰ ± ۳۸	۱۸۳ ± ۳۷ <sup>+</sup>	۱۶۶ ± ۳۹‡	کلسترول تام(میلیگرم در دسی لیتر)
۱۶۷ ± ۷۱	۱۶۳ ± ۷۴	۱۲۹ ± ۶۴ <sup>+</sup>	۹۷ ± ۵۵‡	تری گلیسرید(میلیگرم در دسی لیتر)
۳۹ ± ۱۱	۳۹ ± ۱۱	۳۹ ± ۱۰	۴۳ ± ۱۰ §	HDL-C(میلیگرم در دسی لیتر)
۴۱ ± ۲۰	۴۶ ± ۱۹	۱۸ ± ۲۰ <sup>+</sup>	۹ ± ۱۰‡	لپتین(میلیگرم در دسی لیتر)
۲۱(۳۴/۴)	۱۵(۲۴/۶)	۱۷(۲۷/۹)	۸(۱۳/۱)	: $\beta_3$ -Adrenoreceptor
۸۱(۲۳/۸)	۸۹(۲۶/۲)	۸۱(۲۲/۸)	۸۹(۲۶/۲)	¶(%)/AA/TA
				¶(%)/TT

یافته‌ها در چهار گروه BMI به وسیله آزمون ANOVA مقایسه شدند و تفاوت معنی‌داری داشتند ( $P < 0.05$ ) و سپس با آزمون توکی دو به دو مقایسه گردید.

جدول شماره ۲- متغیرهای بالینی، تنفسی و بیوشیمیایی در دو گروه حاملین آرژنین و غیرحامelin آرژنین در افراد مورد مطالعه

P value	غیرحامelin آرژنین(n=۳۴۰)	حامelin آرژنین(n=۶۱)	متغیر(تعداد)
.۰/۲۷۷	۴۳ ± ۱۴	۴۵ ± ۱۲	سن(سال)
.۰/۲۳۲	۱۱۲ ± ۱۴	۱۱۴ ± ۱۳	فشارخون سیستولیک(میلیمتر جیوه)
.۰/۹۳۳	۷۳ ± ۸	۷۳ ± ۸	فشارخون دیاستولیک(میلیمتر جیوه)
.۰/۰۲۱	۸۷ ± ۱۳	۹۱ ± ۱۲	دور کمر(سانتی متر)
.۰/۲۱۶	۹۹ ± ۱۰	۱۰۰ ± ۱۱	دور باسن(سانتی متر)
.۰/۰۲۱	۰/۸ ± ۰/۱	۰/۹۰ ± ۰/۱	نسبت دور کمر به دور باسن
.۰/۰۴۳	۲۵ ± ۵	۲۷ ± ۶	نمایه توده بدنی(کیلوگرم بر مترمربع)
.۰/۰۰۳	۹۰ ± ۱۸	۱۰۰ ± ۳۹	قندنایشنا(میلیگرم در دسی لیتر)
.۰/۰۱۶	۱۸۶ ± ۴۰	۲۰۰ ± ۴۴	کلسترول تام(میلیگرم در دسی لیتر)
.۰/۰۲۱	۱۳۷ ± ۷۰	۱۶۰ ± ۸۲	تری‌گلیسرید(میلیگرم در دسی لیتر)
.۰/۶۹۶	۴۰ ± ۱۰	۴۰ ± ۱۱	HCL-C(میلیگرم در دسی لیتر)
.۰/۰۰۹	۲۳ ± ۲۱	۳۰ ± ۲۵	لپتین(میلیگرم در دسی لیتر)

## بحث

موید کاهش وزن کمتر حاملین چاق آلل Arg بعد از رژیم پرانرژی با ورزش، در مقایسه با حاملین Trp ۲۶ طبق Trp64Arg گزارش Ramis و همکاران، احتمالاً پلیمورفیسم زن ADRB3، در مکانیسم رهاسازی لپتین از بافت چربی درگیر است<sup>(۲۷)</sup>؛ از طرف دیگر، گزارشاتی مبنی بر عدم وجود این ارتباط وجود دارد، به عنوان مثال Kurokawa و همکاران نشان دادند پلیمورفیسم مذکور اثر زیادی بر روی تجمع چربی در دانش آموزان دبیرستانی ژاپنی ندارد.<sup>(۲۸)</sup> این عدم هماهنگی نتایج، می‌تواند به واسطه تغییرات نمونه‌گیری تصادفی، حجم نمونه کم، سن و یا درجه چاقی افراد باشد.

طی گزارش قبلی، این پلیمورفیسم با افزایش نمایه توده بدنی در جمعیت قند و لیپید تهران ارتباط نشان داده است<sup>(۲۰)</sup>، در ارتباط مذکور، تاثیر وجود و عدم وجود آرژنین در ۴ گروه نمایه توده بدنی (۲۰< BMI <۲۵، BMI >۲۵ و ۳۰< BMI <۲۵ و ۳۰< BMI <۳۰) و غلظت سرمی لپتین، مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت. فراوانی آللی این پلیمورفیسم (Arg64) در جمعیت قند و لیپید تهران، ۰/۰۸ تعبیین شد. این فراوانی، کمتر از فراوانی‌های مشاهده شده در جمعیت‌های Pima India (۰/۳۱)، امریکایی‌های مکزیکی (۰/۱۲) و سیاهپوستان امریکایی (۰/۱۲) و مشابه سفیدپوستان

هدف از این مطالعه، بررسی ارتباط پلیمورفیسم Trp64Arg با نمایه توده بدنی و میزان لپتین در جمعیت قند و لیپید تهران بود. یافته‌ها، ارتباط پلیمورفیسم مذکور را با افزایش نمایه توده بدنی و سطح لپتین در افراد مورد مطالعه نشان دادند.

گیرنده‌های  $\beta$ -Adrenergic، گرمازایی، متابولیسم پایه و تعادل انرژی را در بافت چربی انسان تنظیم می‌کنند، بنابراین تغییرات نسبی وزن بدن افراد را تحت تاثیر قرار می‌دهند.<sup>(۲۱)</sup> مطالعات اخیر حاکی از نقص عملکرد گیرنده آدرنرژیکی در اثر موتاسیون Trp64Arg در سلولهای بافت چربی انسان می‌باشند<sup>(۲۲)</sup> که میزان متابولیسم پایه را کاهش می‌دهند.<sup>(۲۴)</sup> ارتباط کاهش گرمازایی با موتاسیون Trp64Arg و ایجاد نقص در فعالیت گیرنده مذکور، در جمعیت‌های مختلف گزارش شده است.<sup>(۲)</sup> یک مطالعه متا‌آنالیز در خصوص ارتباط بین پلیمورفیسم ADRB3 و نمایه توده بدنی بر روی ۳۱ نفر، حاکی از وجود توده بدنی بالاتر، در افراد دارای پلیمورفیسم مذکور بود.<sup>(۲۵)</sup> گزارش Clement و همکاران نشان داد، پلیمورفیسم Trp64Arg با بالا رفتن ظرفیت افزایش وزن مرتبط است.<sup>(۱۴)</sup> مطالعه Yoshida و همکاران نیز

## فهرست منابع

- 1- Zipursky A. The genetics of childhood disease and development: A series of review articles. *Pediatr Res* 2003; 53(5): 721-5.
- 2- Arner P. Obesity-a genetic disease of adipose tissue? *Br J of Nut* 2000; 83(Suppl 1): S9-S16.
- 3- Andrea MS, Ken RW, Boyko EJ, Whitecross KF, Geoff N, Kotowica M, et al. Genetic variation and obesity in Australian women: A prospective study. *Obes Res* 2001; 9: 733-40.
- 4- Koichi M, Shinya S, Haruhito K, Izumi T, Mitsuru M, Kiyoaki W, et al. Increased risk of obesity resulting from the interaction between high energy intake and the Trp64Arg polymorphism of the  $\beta_3$ -adrenergic receptor gene in healthy Japanese men. *J Epidemiol* 2005; 15(6): 203-9.
- 5- Kopelman PG. Obesity az a medical problem. *Nature* 2000; 404: 635-43.
- 6- Naoyuki K, Kunihiko N, Satomi K, Zhong-Min L, Hiroshi S. Relationship between the  $\beta_3$ -Adrenoreceptor gene variant and body fat in Japanese children. *Tohoku J Exp Med* 2003; 201: 271-6.
- 7- Snyder EE, Walts B, Perusse L, Chagnon YC, Weisnagel SI, Rankinen T, et al. The human obesity gene map: the 2003 update. *Obes Res* 2004; 12: 369-439.
- 8- Ellsworth DL, Coady SA, Chen W, Srinivasan SR, Boerwinkle E, Berenson GS. Interactive effects between polymorphisms in the  $\beta$ -adrenergic receptors and longitudinal changes in obesity. *Obes Res* 2005; 13(3): 519-26.
- 9- Mesh Browser[database on the internet]. Bethesda(MD): National Library of Medicine(US); Adrenoceptors. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/Mbrowser.html>. Accessed Jan 12, 2005.
- 10- Dionne IJ, Turner AN, Tchernof A, Pollin TI, Avirthi D, Gray D, et al. Identification of an interactive effect of  $\beta_3$ - and  $\alpha_{2b}$ -adrenoreceptor gene polymorphisms on fat mass in Caucasian women. *Diabetes* 2001; 50: 91-5.
- 11- Hao K, Peng S, Xing H, Yu Y, Hang A, Hong X, et al.  $\beta_3$  adrenergic receptor polymorphism and obesity-related phenotypes in hypertensive patients. *Obes Res* 2004; 12(1): 125-9.
- 12- Emorine LJ, Marullo S, Briend-Sutren MM, Patey G, Tate K, Delavier-Klutchko C, et al. Molecular characterization of the human beta 3-adrenergic receptor. *Science* 1989; 245: 1118-21.

امريکايي(٤٠٪) بود. فراوانى آلل اين پلیمورفیسم، از تعادل هاردي - وینبرگ تبعیت نمود. نتایج، حاکی از وجود ارتباط معنی داری میان افزایش نمایه توده بدنی و سطح لپتین با حضور آرژنین بود، به عبارتی با افزایش نمایه توده بدنی و غلظت سرمی لپتین، تعداد افراد حامل آرژنین افزایش می یافتد(جدول شماره ۱). متوسط نمایه توده بدنی حاملین آرژنین(٦٧±٦)، از متوسط نمایه توده بدنی غيرحامelin آرژنین(٥٢±٥) بيشتر بود. همچنین متوسط غلظت لپتین حاملین آرژنین(٣٠±٢٥)، از متوسط میزان لپتین غيرحامelin آرژنین(٢٢±٢١) به طور چشمگيري بيشتر بددست آمد(جدول شماره ۲). وجود اين آلل با افزایش فاكتورهای دیگر شامل فشار خون سیستولیک، قندناشتا، تریگلیسیرید و کلسترول تام ارتباط داشت، اما با توجه به اینکه چاقی، يك مجموعه پیچیده از فاكتورهای متفاوت با قابلیت انتقال ارثی می باشد و زنهای متعددی در آن دخیل هستند، صرفاً بررسی پلیمورفیسم يك ژن و ارتباط آن با چاقی کافی به نظر نمی رسد؛ لذا بررسی سایر ژنهای دخیل در چاقی در تحقیقات بعدی ضروري به نظر می رسد.

## نتیجه گیری

یافته های این مطالعه ارتباط معنی داری میان پلیمورفیسم  $\beta_3$ -Adrenoreceptor ژن Trp64Arg و افزایش غلظت سرمی لپتین حاملین آرژنین در افراد مورد مطالعه نشان داد. لذا با توجه به دخیل بودن عوامل ژنتیکی متعدد در چاقی، نیاز به بررسی سایر ژنهای موثر در چاقی در کنار این پلیمورفیسم در افراد ایرانی احساس می شود.

## تقدیر و تشکر

این تحقیق با استفاده از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی در قالب طرح تحقیقاتی(شماره ثبت: ۱۶۴) انجام گردیده است که بدین وسیله نویسندها مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مسؤولین آن مرکز ابراز می دارند.

- 13- Walston J, Silver K, Bogardus C, Knowler WC, Celi FS, Austin S, et al. Time of onset of non-insulin-dependent diabetes mellitus and genetic variation in the beta 3-adrenergic-receptor gene. *N Engl J Med* 1995; 333: 343-7.
- 14- Clement K, Vaisse C, Manning BS, Basdevant A, Guy-Grand B, Ruiz J, et al. Genetic variation in the beta 3-adrenergic receptor and an increased capacity to gain weight in patients with morbid obesity. *N Engl J Med* 1995; 333: 352-4.
- 15- Loss RJF, Rankinen T, Chagnon Y, Tremblay A, Perusse L, Bouchard C. Polymorphisms in the leptin and leptin receptor genes in relation to resting metabolic rate and respiratory quotient in the Quebec Family Study. *Int J Obes* 2006; 30: 183-90.
- 16- Auwerx J, Staels B, Leptin. *The Lancet* 1998; 351: 737-42.
- 17- Azizi F, Rahmani M, Majid M. Tehran Lipid and Glucose Study(TLGS): Rationale and Design. *CVD Prevention* 2000; 3: 50-3.
- 18- Azizi F, Rahmani M, Ghanbarian A, Emami H, Salehi P, Mirmiran P, et al. A serum lipid level in an Iranian adult's population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Eur J Epidemiol* 2003; 18(4): 311-19.
- 19- Azizi F, Salehi P, Etemadi A, Zahedi-Asl S. Prevalence of metabolic syndrome in an urban population: Tehran Lipid and Glucose Study. *Diabetes Res Clin Pract* 2003; 61(1): 29-37.
- 20- Eshraghi P, Hedayati M, Daneshpour MS, Mirmiran P, Azizi F. Association between  $\beta_3$ -Adrenoreceptor gene polymorphism and obesity: Tehran lipid and glucose study. *Iranian J Endo Metab* 2005; 7(S): 393-8.
- 21- Arner P, Hoffstedt J. Adrenoreceptor genes in human obesity. *J Int Med* 1999; 245: 667-72.
- 22- Ellsworth DL, Coady SA, Chen W, Srinivasan SR, Boerwinkle E, Berenson GS. Interactive effects between polymorphisms in the  $\beta$ -Adrenergic receptors and longitudinal changes in obesity. *Obes Res* 2005; 13(3): 519-26.
- 23- Hoffstedt J, Poirier O, Thorne A, Lonnqvist F, Herrmann SM, Cambien F, et al. Polymorphism of the human beta<sub>3</sub>-adrenoreceptor gene forms a well-conserved haplotype that is associated with moderate obesity and altered receptor function. *Diabetes* 1999; 48: 203-5.
- 24- Sipilainen R, Uusitupa M, Heikkinen S, Rissanen A, Laakso M. Polymorphism of the beta<sub>3</sub>-adrenergic receptor gene affects basal metabolic rate in obese Finns. *Diabetes* 1997; 46: 77-80.
- 25- Fujisawa T, Ikegami H, Kawaguchi Y, Ogihara T. Meta-analysis of the association of Trp64Arg polymorphism of beta 3-adrenergic receptor gene with body mass index. *J Clin Endocrinol Metab* 1998; 83: 2441-4.
- 26- Yoshida T, Sakane N, Unekawa T, Sakia M, Takahashi T, Kondo M, et al. Mutation of beta 3-adrenergic receptor gene and response to treatment of obesity. *Lancet* 1995; 346: 1433-44.
- 27- Ramis JM, Gonzalez-Sanchez JL, Proenza AM, Martinez-Laeed MT, Fernandez-Perez C, Palou A, et al. The Arg64 allele of the beta<sub>3</sub>-adrenoreceptor gene but not the -3826G allele of the uncoupling protein 1 gene is associated with increased leptin levels in the Spanish population. *Metabolism* 2004; 53(11): 1411-16.
- 28- Kurokawa N, Nakai K, Kameo S, Liu ZM, Satoh H. Relationship between the  $\beta_3$ -adrenoreceptor gene variant and body fat in Japanese children. *Tohoku J Exp Med* 2003; 201: 271-6.

# *Association of Trp64Arg Polymorphism of the $\beta_3$ -Adrenoreceptor Gene, Body Mass Index and Serum Leptin Level in Tehran Lipid and Glucose Study*

P. Eshraghi, MSc<sup>I</sup>      M. Hedayati, PhD<sup>II</sup>      M. Daneshpour, MSc<sup>I</sup>  
 P. Mirmiran, PhD<sup>III</sup>      \*F. Azizi, MD<sup>IV</sup>

## *Abstract*

**Background & Aim:** There are many articles on the association between  $\beta_3$ -adrenoreceptor gene polymorphisms and obesity. The aim of this study was to investigate the association between  $\beta_3$ -adrenoreceptor gene polymorphism and serum concentration of Leptin with body mass index(BMI).

**Materials and Methods:** The study was cross-sectional. Participants of Tehran Lipid and Glucose Study were divided on the basis of BMI in four groups:  $BMI < 20$ ,  $20 \leq BMI < 25$ ,  $25 \leq BMI < 30$ ,  $BMI \geq 30$ . Totally 401 subjects(mean age  $44 \pm 14$  years)[197 men( $46 \pm 14$  years), 204 women( $42 \pm 13$  years)] were selected randomly; each group including 97, 98, 104 and 102 subjects, respectively. Leptin level was determined by Enzyme immuno assay(EIA) method and FBS, HDL-C, Triglyceride and Total Cholesterol levels were determined by Enzyme colorimetric method. Factors including Body mass index and blood pressure were measured too. A 210 bp fragment of mentioned gene was amplified using PCR and subject's genotyping in Tehran Lipid and Glucose Study population was determined by RFLP(MvaI, restriction enzyme) method. Data were analyzed using the T-test. We used one-way ANOVA test followed by post hoc multiple comparison(Tukey) between four BMI groups and also between two groups, of AA/TA(arg Carrier) and TT(Arg non Carrier). All data were analyzed using SPSS 11.5.

**Results:** The A(Arg) allele frequency was 0.08 among the population and satisfied Hardy-Weinberg equilibrium. Presence of A(Arg) allele was significantly associated with increase of the BMI(AA/TA,  $27 \pm 6$  kg/m<sup>2</sup>; TT,  $25 \pm 5$  kg/m<sup>2</sup>;  $P=0.043$ ) and increase serum Leptin level(AA/TA,  $30 \pm 25$  mg/dl; TT,  $23 \pm 21$  mg/dl;  $P=0.009$ ).

**Conclusion:** These data showed the association between Trp64Arg polymorphism of  $\beta_3$ -adrenoreceptor gene with increasing BMI and Leptin level.

**Key Words:** 1) Obesity    2) Body Mass Index    3) Leptin    4) Polymorphism  
5)  $\beta_3$ -adrenoreceptor

**I** MSc in Molecular and Cellular Biology, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine sciences, Evin st., Taleghani Hospital, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

**II** PhD in Biochemistry, Assistant Professor of Biochemistry, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine sciences, Evin st., Taleghani Hospital, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

**III** PhD in Nutrition, Assistant Professor of Nutrition, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine sciences, Evin st., Taleghani Hospital, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran.

**IV** Professor of Endocrinology, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine sciences, Evin st., Taleghani Hospital, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran. (\*Corresponding Author)