مجله دیابت و لیپید ایران. بهار ۱۳۸۸؛ دوره ۸(شماره ۳) ۲۹۸-۲۸۹

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن احیاء کننده متیلن تترا هیدرو فولیک اسید MTHFR (C677T) با سندرم متابولیک در جمعیت ایرانی : مطالعه هموسیستئین تهران

حسین فخرزاده*[۱]، مژده میرعارفین[۱]، فرشاد شریفی[۱]، سارا قطبی[۱]، محسن رضایی همامی[۱]، مهسا محمد آملی[۱]، بانو عدالت[۱]، رسول پورابراهیم[۱]، معصومه نوری[۱]، جواد توکلی بزاز[۱]، علیرضا شفایی[۱] ، باقرلاریجانی[۱]

چکیده

مقدمه: در بررسی های انجام گرفته بر روی گروههایی خاص از مبتلایان به اسکیزوفرنیا و دیابت، مشاهده شده است که بین MTHFR و سندرم متابولیک ارتباط وجود دارد . اما تاکنون این رابطه در مطالعات جمعیتی بررسی نشده است . هدف از این مطالعه بررسی رابطه پلی مورفیسم در ژن MTHFR با سندرم متابولیک (MS) ، دیابت نوع ۲ و پرفشاری خون در جمعیت ایرانی بود .

روش‌ها: این مطالعه به روش مقطعی و به منظور بررسی ارتباط سندرم متابولیک، پرفشاری خون و دیابت نوع ۲ انجام گرفت. افراد شرکت کننده در "مطالعه هموسیستئین تهران" وارد این طرح شدند . مقادیر سرمی گلوکز ، تری گلیسرید (TG) ، کلسترول تام (TC) ، HDL کلسترول (HDL-C) و LDL کلسترول (LDL-C) ، هموسیستئین ، فولیک اسید و B_{12} در حالت ناشتا اندازه گیری شد . تعیین پلی مورفیسم ژن MTHFR به روش PCR-RFLP صورت گرفت .

یافته‌ها : در این طرح ۱۵۰ فرد مبتلا به سندرم متابولیک ، ۱۶۰ فرد مبتلا به پرفشاری خون و ۱۹۱ فرد دیابتی مورد بررسی قرار گرفتند . شیوع ژنوتیپ‌های CC ، CT و TT در این سه گروه تفاوت قابل ملاحظه ای با گروه کنترل نداشت. در افراد گروه کنترل و مبتلایان به پرفشاری خون ، سطح هموسیستئین در ژنوتیپ TT نسبت به دو ژنوتیپ CC و CT به طور معنی داری بالاتر بود ($p <$ ۰/۰۵) . سطح فولیک اسید سرم در مبتلایان به پرفشاری خون در ژنوتیپ TT نسبت به CC به طور معنی داری پایین تر بود ($P <$ ۰/۰۰۱) . در مبتلایان به دیابت، سطح هموسیستئین سرم در ژنوتیپ CC نسبت به TT پایین تر بود ($P <$ ۰/۰۱)؛ در حالیکه بالعکس سطح فولیک اسید سرم در ژنوتیپ CC به طور معنی داری بالاتر از TT بود ($P <$۰/۰۵). در مبتلایان به دیابت و پرفشاری خون، سطح هموسیستئین و فولیک اسید سرم بین آلل های C و T تفاوت معنی داری با یکدیگر داشتند در حالی که در مبتلایان به MS فقط سطح هموسیستئین چنین تفاوتی را نشان داد ($P <$ ۰/۰۰۱) .

نتیجه‌گیری : در این مطالعه رابطه معنی داری بین پلی مورفیسم MTHFR و سندرم متابولیک ، پرفشاری خون و دیابت در جمعیت مورد بررسی مشاهده نشد . انجام مطالعات بیشتر و بر روی تعداد افراد بیشتر برای تأیید این رابطه ضروری به نظر می رسد .

واژگان کلیدی : MTHFR ، سندرم متابولیک ، هموسیستیین، پلی‌مورفیسم

---

۱ – مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* ***نشانی:*** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، تلفن: ۳۸-۸۸۲۲۰۰۳۷، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

تاریخ دریافت:۸۷/۱۱/۲ تاریخ درخواست اصلاح: ۸۸/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۸۸/۳/۲

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

مقدمه

متیلن تترا هیدروفولیک ردوکتاز (MTHFR) آنزیمی است که به عنوان دهنده گروه متیل در دی‌متیلاسیون هموسیستئین نقش مهمی ایفا می‌کند [۱]. بر اثر بروز جهش در ناحیه ۶۷۷ ژن MTHFR ، تایمین جایگزین سیتوزین می‌شود که به دنبال آن به جای اسید آمینه آلانین ، والین در ساختمان آنزیم مربوطه قرار گرفته و در نتیجه آنزیم حاصله به حرارت حساس شده و فعالیت آن کاهش می‌یابد[۲]. مجموعه این تغییرات باعث بالا رفتن غلظت هموسیستئین، اختلال در عملکرد اندوتلیال و تسریع اکسیداسیون لیپوپروتئین‌ها می‌گردد [۳]. مشاهده شده که در مبتلایان به دیابت ملیتوس (DM) [۴و۵] و پرفشاری خون [۶و۷] سطح هموسیستئین افزایش می‌یابد. همچنین در رَت‌هاهیپرهموسیستئینمی یکی از اجزای تفکیک ناپذیر از سندرم متابولیک می‌باشد[۸]. در برخی مطالعات نیز به وجود رابطه‌بین هیپرهموسیستئینمی و مقاومت به انسولین اشاره شده است [۱۲-۹]. با توجه به رابطه پلی مورفیسم C677T (که در ژن MTHFR رخ می‌دهد) با پرفشاری خون [۱۳]، دیابت [۱۴] و نفروپاتی دیابتی [۱۵] می‌توان تا حدودی این رابطه را توجیه نمود. اگرچه در گروه‌های خاصی از مبتلایان به دیابت نوع ۲ [۱۶] و اسکیزوفرنیا [۱۷] بین MTHFR و سندرم متابولیک رابطه معنی داری مشاهده شده، اما تاکنون این رابطه به طور اختصاصی در مبتلایان به سندرم متابولیک مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به شیوع بالای سندرم متابولیک (۲۷٪) در ایران [۱۸] و نیز نقش عوامل ژنتیکی در ابتلا به این بیماری [۱۹]، تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم MTHFR با سندرم متابولیک می‌تواند سودمند واقع گردد. در این صورت می‌توان افرادی که از نظر ژنتیکی مستعد ابتلا به این بیماری می‌باشند را سریع‌تر مورد مداخله قرار داد، ولی از طرفی وجود همزمان پرفشاری خون و عدم تحمل گلوکز (که هر دو از اجزای سندرم متابولیک به شمار می‌روند)، تفسیر رابطه پلی مورفیسم ژن MTHFR و سندرم متابولیک را دشوار می‌سازد. هدف از این مطالعه بررسی رابطه پلی مورفیسم در ژن MTHFR با سندرم متابولیک (MS)، دیابت نوع ۲ و پرفشاری خون در جمعیت ایرانی می‌باشد.

روش‌ها

طراحی مطالعه

افراد مورد نظر به‌صورت تصادفی از شرکت‌کنندگان در طرح گسترده‌ترمطالعه هموسیستئین تهران انتخاب شدند. جزئیات این‌طرح درجای‌دیگری آورده شده است[۲۰]. به طور خلاصه می‌توان گفت این مطالعه بر روی بزرگسالان ساکن نواحی جنوبی تهران و با هدف ارزیابی عوامل‌خطر آترواسکلروز بر اساس متدولوژی WHO (سازمان جهانی بهداشت) / MONICA (یک پروژه مشارکتی بین المللی چند مرکزی با هدف اندازه گیری روند مرگ ومیر و بیماریزایی بیماری های قلبی – عروقی) انجام گرفته است .

جمعیت مورد مطالعه

۵۷۷ فرد مبتلا به دیابت، پرفشاری خون و سندرم متابولیک از مجموع ۱۵۰۰ شرکت‌کننده در مطالعه هموسیستئین تهران انتخاب‌شدند. افرادی که سابقه بیماری عروق کرونر، بیماری عروق محیطی، سکته مغزی و پر فشاری خون ثانوی داشتند از مطالعه کنار گذاشته شدند. افراد مبتلا به دیابت و پرفشاری خون در این مطالعه کمتر از ۳ معیار NCEP ATP-III برای تشخیص سندرم متابولیک را داشتند. به علاوه دیابتی‌های شرکت کننده در این پژوهش پر فشاری خون نداشتند و بالعکس. وزن و قد افراد با استفاده از ترازوی استاندارد ، با حداقل‌لباس و بدون کفش اندازه گیری شده و BMI (نمایه توده بدن) به‌صورت وزن (Kg) بر مجذور قد (m^2) محاسبه گردید. اندازه‌گیری فشار خون توسط یک تیم آموزش دیده و مطابق‌با معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO) انجام گرفت.فشارخون پس از ۱۰ دقیقه استراحت، در حالت نشسته و از بازوی سمت راست اندازه گیری شد. اولین صدای کورُ تکوف‌به‌عنوان فشار سیستولی و پنجمین صدای کورُ تکوف به عنوان فشار دیاستولی در نظر گرفته شد. میانگین ۲ اندازه‌گیری ثبت شد. دور کمر (WC) در حالت ایستاده و از میانه آخرین دنده‌و کرست ایلیاک‌اندازه‌گیری‌شد. پروتکل طرح مورد تأیید کمیته‌اخلاقی مرکز تحقیقات‌غدد‌داخلی و متابولیسم (EMRC) قرار گرفت و مطابق با بیانیه Helsinki بود. کلیه افراد رضایت‌نامه کتبی برای شرکت در طرح ارائه دادند.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

آنالیزهای بیوشیمیایی

نمونه‌های خون کامل ناشتا به میزان ۸ میلی لیتر از ورید براکیال گرفته شده و به فاصله ۲ ساعت به آزمایشگاه بالینی مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان دکتر شریعتی منتقل شدند. سپس نمونه‌ها در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند (۱۰ دقیقه ، RT ، با سرعت ۲۰۰۰ RPM). سرم جدا شده بین لوله‌های آزمایش تقسیم شده و تا زمان اندازه گیری در دمای ۷۰°C- نگهداری شدند. هموسیستئین سرم به روش HPLC اندازه گیری شد. به منظور اندازه‌گیری فولیک اسید و ویتامین B_{12} سرم، نمونه‌های ناشتا به داخل لوله‌های فاقد EDTA ریخته شده و پس از انعقاد سانترفیوژ شدند. سپس سرم بین لوله‌های آزمایش کوچکتر تقسیم شده و در دمای ۷۰°C- نگهداری شدند. مقدار این دو پارامتر بیوشیمیایی به روش RIA اندازه‌گیری شد(شرکت دارویی Simul TRAC, ICN). غلظت گلوکز ، TG ، TC ، HDL-C و LDL-C ناشتا به روش آنزیماتیک تعیین شدند(پارس آزمون، ایران).

تشخیص

بر مبنای Modified ATP 2I (پانل درمانی بالغین) که توسط NCEP (برنامه ملی آموزش کلسترول) ارائه شده است، دارا بودن ۳ معیار برای تشخیص سندرم متابولیک کافیست که به شرح زیر می‌باشند : بالا بودن دور کمر (۱۰۲ cm < در مردان و ۸۸ cm<در زنان)، فشار خون بالا (۱۳۰/۸۵ mmHg ≥) ، HDL پایین (۴۰ mg/dl > در مردان و ۵۰ mg/dl > در زنان)، تری‌گلیسرید بالا (۱۵۰ mg/dl ≥) و هیپرگلیسمی (۱۰۰ mg/dl ≥) [۲۱] . تشخیص پرفشاری خون بر اساس معیار WHO بود که عبارتست از : SBP ≥ ۱۶۰ mmHg و / یا DBP ≥ ۹۵ mmHg یا مصرف داروی کاهنده فشار خون [۲۲] . معیار ابتلا به دیابت بر اساس شاخص انجمن دیابت امریکا (ADA)، سطح قند خون ۱۲۶ mg/dl ≥ بود [۲۳].

آنالیزهای ژنتیکی

DNA ژنومی از نمونه‌هایی که در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد نگهداری شده بودند، به روش رسوب نمکی استخراج گردید . تعیین ژنوتیپ با استفاده از تکنیک PCR-RFLP صورت گرفت که پرایمرهای آن به شرح زیر بودند :

5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3'

5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'

مواد لازم برای واکنش PCR در حجم ۲۰ میکرولیتر عبارتند از : ۱۰۰ نانوگرم DNA ژنومی و محلول بافر PCR که حاوی ۳ میلی مول $MgCl_2$ ، ۰/۲۵ میلی مول dNTP's (بیولین)، ۵ پیکومول از هر جفت پرایمر و ۱ واحد آنزیم پلیمراز Taq بود. مراحل انجام تکنیک PCR عبارتست از : ۴۰ دقیقه دمای ۹۴ درجه سانتیگراد برای دناتوره شدن اولیه، و ۳۵ سیکل شامل : ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۶۱ درجه سانتیگراد و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد. در نهایت ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد برای سنتز نهایی حرارت دیده شد. حضور محصول (۱۹۸ جفت باز) با تکنیک الکتروفورز روی ژل آگارز ۲٪، رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، تعیین شد. جهت هضم محصولات PCR، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR در حجم ۱۵ میکرولیتر حاوی ۱۰ واحد Hinf I و بافر 1x NE قرار داده شد. این مخلوط در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت یک شب انکوباته شده و سپس محصولات با تکنیک الکتروفورز روی ژل آگارز ۴٪ ، رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید، تفکیک شدند. به دنبال هضم محصولات PCR توسط اندونوکلئاز محدود کننده Hinf I ، در صورت وجود آلل T ، DNA به تکه‌های حاوی ۱۷۶۲۲ جفت باز شکسته شد و در صورت وجود آلل C تکه‌های حاوی ۱۹۸ جفت باز به صورت هضم نشده باقی ماندند .

آنالیزهای آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS ، نسخه ۱۵/۰ (SPSS Inc. Chicago) انجام گرفت. مقادیر کمتر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شدند. فراوانی‌های ژنوتیپی بدست آمده (observe) با فراوانی‌های ژنوتیپی مورد انتظار (expect) با استفاده از آزمون آماری مجذور کای تجزیه و تحلیل شده و با معادله هاردی – وینبرگ (HWE) مقایسه گردیدند.هرگونه تفاوت در فراوانی آلل با استفاده از "تست دقیق فیشر" بررسی شد. به منظور تعیین ارتباط سن، جنس، BMI و MTHFR با سندرم متابولیک،پرفشاری خون و دیابت نوع ۲ و نقش مداخله‌گر هرگونه فاکتور خارجی در این رابطه، از رگرسیون لجستیک (Logistic Regression) استفاده شد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

یافته‌ها

ویژگی‌های افراد شرکت‌کننده در طرح در جدول ۱ آورده شده است. در این مطالعه ۱۵۰ فرد مبتلا به سندرم متابولیک، ۱۶۰ فرد مبتلا به پرفشاری خون و ۱۹۱ فرد مبتلا به دیابت مورد بررسی قرار گرفتند. سن و میانگین فشار خون افراد شرکت کننده به طور معنی داری بالاتر از افراد گروه کنترل بود ($p<۰/۰۰۱$). چنین رابطه ای برای سطح TG نیز دیده شد($P <۰/۰۱$). همچنین سطح B_{12} سرم در افراد دیابتی به طور معنی داری بالاتر از گروه کنترل بود ($P<۰/۰۱$).

شیوع ژنوتیپ و آلل‌های پلی‌مورفیسم MTHFR در گروه‌های مورد بررسی در جدول ۲ آورده شده است. شیوع آللی کلیه گروه‌های مورد بررسی مطابق با معادله هاردی – واینبرگ بود. شیوع ژنوتیپ‌های CC ، CT و TT بین مبتلایان به MS، پرفشاری خون و دیابت در مقایسه با گروه کنترل تفاوت معنی‌داری نشان نداد. شیوع آلل T در گروه کنترل به طور

معنی‌داری‌بالاتر از کلیه گروه‌های‌موردبررسی بود ($P<۰/۰۵$). در جدول ۳،اطلاعات مربوط به غلظت سرمی هموسیستئین، فولیک اسید و B_{12} بر اساس ژنوتیپ‌های MTHFR نشان داده شده است.

جدول ۱- مشخصات عمومی شرکت کنندگان در مطالعه

	سندرم متابولیک n=۱۵۰	پرفشاری خون n=۱۶۰	دیابت n=۱۹۱	کنترل n=۷۶
جنس (مرد/زن)	۱۱۵/۳۵	۱۲۸/۶۳	۱۱۰/۵۰	۵۰/۲۶
سن (سال)	۵۱± ۱۰*	۵۰ ± ۱۱*	۵۱ ± ۱۱*	۳۴ ± ۸
TC (mg/dl)	۲۱۳± ۴۹	۲۱۱± ۴۶	۲۰۸± ۴۶	۱۹۴± ۳۹
HDL (mg/dl)	۶۳± ۱۵	۶۳± ۱۷	۶۳± ۱۸	۶۰± ۱۶
LDL (mg/dl)	۱۰۳± ۳۲	۱۰۵± ۳۱	۱۰۳± ۳۱	۱۰۸± ۱۸
TG (mg/dl)	۲۷۴± ۲۰۵*	۲۴۲± ۱۹۳*	۲۵۵± ۲۰۱*	۱۴۸± ۱۰۰
فشارخون سیستولی (mmHg)	۱۴۴ ± ۲۱*	۱۴۶ ± ۲۱*	۱۳۹ ± ۲۴*	۱۱۱ ±۹
فشارخون دیاستولی (mmHg)	۹۲/ ±۱۲*	۹۳ ±۱۱*	۸۷ ±۱۳*	۷۲ ±۸
نمایه توده بدن (kg/m^2)	۳۱/۶۸ ±۵/۰۶	۳۰/۸۵ ±۵/۴۳	۲۹/۹۸ ± ۵/۵۶	۲۷/۵۷ ± ۵/۶۵
هموسیستئین (µmol/L)	۱۵/۴۸ ±۹/۱۵	۱۶/۹۶ ±۱۱/۶۷	۱۷/۱۹ ±۱۰/۵۸	۱۵/۷۵ ±۸/۹۲
اسید فولیک (ng/ml)	۴/۷۷ ± ۲/۲۹	۴/۳۷ ± ۲/۰۳	۴/۷۸ ± ۲/۴۴	۳/۹۰ ± ۱/۹۴
B12 (pg/ml)	۳۱۲/۰۹ ±۲۲۳/۵۸	۲۹۰/۴۰ ± ۱۹۴/۴۶	۳۳۸/۴۹ ±۲۲۵/۳۲*	۲۶۹/۱۳ ± ۱۵۱/۰۷

* $P < ۰/۰۵$ در مقایسه با گروه کنترل

جدول ۲- ژنوتیپ و تکرر آلل ها

ژنوتیپ	سندرم متابولیک n=۱۵۰	پرفشاری خون n=۱۶۰	دیابت n=۱۹۱	کنترل n=۷۶
CC	۱۰۲ (٪۶۸)	۹۹ (٪۶۱/۸)	۱۲۲ (٪۶۳/۸)	۳۶ (٪۴۷/۴)
CT	۳۸ (٪۲۳/۳)	۳۸ (٪۲۳/۷)	۵۳ (٪۲۷/۷)	۳۱ (٪۴۰/۷)
TT	۱۰ (٪۶/۶)	۱۷ (٪۱۰/۶)	۱۶ (٪۸/۳)	۹ (٪۱۱/۸)
آلل				
C	٪۷۹/۶۵	٪۷۳/۷۴	٪۷۷/۷۴	٪۶۷/۷۵
T	٪ ۱۸/۲۵	٪ ۲۲/۴۹	٪ ۲۲/۴۹	٪ ۳۲/۱۵

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

جدول ۳- مقایسه B12 ، اسید فولیک و سطح هموسیستئین سرم بر اساس پلی مورفیسم MTHFR

ژنوتیپ	هموسیستئین (µmol/L)				اسید فولیک (ng/ml)				B12 (pg/ml)			
	سندرم متابولیک	پرفشاری خون	دیابت	کنترل	سندرم متابولیک	پرفشاری خون	دیابت	کنترل	سندرم متابولیک	پرفشاری خون	دیابت	کنترل
CC	۱۴/۶۸ ±۹/۲۷	۱۵/۰۵ ±۹/۲۵	۱۵/۶۰ ±۱۰/۱۱	۱۵/۱۱ ±۶/۲۷	۵/۰۵ ±۲/۳۵	۴/۶۴ ±۲/۰۸	۵/۱۰ ±۲/۴۹	۴/۰۵ ±۲/۰۵	۳۵۵/۵۱ ±۲۴۴/۹۵	۲۹۹/۰۵ ±۱۹۴/۶۲	۳۶۳/۸۹ ±۲۲۴/۴۰	۲۶۲/۳۰ ±۱۳۹/۷۷
CT	۱۷/۲۷ ±۷/۹۸	۱۷/۶۷ ±۷/۴۸	۱۷/۹۰ ±۸/۲۳	۱۴/۰۸ ±۷/۶۷	۴/۳۴ ±۲/۲۴	۴/۱۲ ±۲/۰۱	۴/۶۳ ±۲/۴۷	۴/۰۱ ±۱/۹۵	۲۹۶/۸۶ ±۲۳۰/۴۶	۲۸۴/۰۹ ±۲۶۶/۹۴	۳۲۲/۴۰ ±۲۴۱/۹۶	۲۷۷/۹۰ ±۱۶۰/۳۷
TT	۱۴/۸۲ ±۴/۳۱	۳۱/۷۷ ±۲۷/۳۳	۲۶/۱۷ ±۱۵/۶۳	۲۵/۱۰ ±۱۶/۶۸	۳/۶۷ ±۱/۱۴	۳/۲۶ ±۱/۱۰	۳/۴۱ ±۱/۵۴	۲/۹۳ ±۱/۱۵	۲۴۳/۷۰ ±۱۸۵/۷۲	۲۴۸/۳۱ ±۱۵۱/۹۷	۲۳۵/۹۴ ±۱۵۵/۹۹	۲۶۷ ±۱۷۸/۵۸
آلل ها												
C	۱۵/۵۱ ±۹/۳۲	۱۵/۸۵ ±۸/۸۱	۱۶/۳۰ ±۹/۵۹	۱۴/۳۶ ±۶/۹۲	۴/۸۶ ±۲/۳۳	۴/۴۸ ±۲/۰۷	۴/۹۶ ±۲/۴۹	۴/۳۶ ±۱/۹۹	۳۱۷/۶۸ ±۲۲۵/۹۵	۲۹۴/۴۵ ±۱۹۸/۹۸	۳۵۱/۰۵ ±۲۲۹/۶۵	۲۶۹/۳۹ ±۱۴۸/۵۱
T	۱۶/۹۳ ±۷/۵۸	۲۰/۴۴ ±۱۴/۵۷	۱۹/۹۲ ±۱۰/۹۲	۱۶/۳۴ ±۱۰/۸۶	۴/۲۰ ±۲/۰۵	۳/۹۲ ±۱/۸۶	۴/۲۷ ±۲/۲۹	۳/۷۶ ±۱/۸۴	۲۸۵/۳۰ ±۲۲۰/۶۸	۲۷۵/۵۵ ±۱۹۴/۷۵	۲۹۶/۶۱ ±۲۲۲/۴۸	۲۷۴/۴۳ ±۱۶۲/۳۶

هم در مبتلایان به پرفشاری خون و هم در افراد دیابتی در ژنوتیپ TT نسبت به ژنوتیپ‌های CC و CT سطح هموسیستئین بالاتر و سطح فولیک اسید پایین‌تر بود[به ترتیب (P<۰/۰۵ و P<۰/۰۰۱ برای گروه پرفشاری خون) و (P<۰/۰۱ و (P <۰/۰۵ در افراد دیابتی)]. سطح فولیک اسید سرم بین آلل‌های C و T در داخل هر سه گروه پرفشاری خون، MS و دیابت تفاوت معنی داری را نشان می‌داد (P<۰/۰۰۱). در حالی‌که سطح هموسیستئین سرم بین دو آلل فوق، فقط در افراد دیابتی و مبتلا به پرفشاری خون از نظر آماری به طور معنی داری تفاوت داشت (P<۰/۰۰۱). همان‌طور که در جدول ۴ نشان داده شده است، از آنالیز رگرسیون لجستیک چندگانه برای تعیین ارتباط بین متغیرها با MTHFR ، هموسیستئین ، B_{12} و فولیک اسید استفاده شده است . نتایج در ابتدا حاکی از آنند که MTHFR رابطه معنی داری با MS دارد (P<۰/۰۱) . اگرچه پس از همسان سازی از نظر BMI ، سن و سیگار کشیدن، این رابطه غیر معنی دار شد (جدول ۵).

جدول ۴- رابطه بین متغیرهای مورد مطالعه و سندرم متابولیک، پرفشاری خون و دیابت با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک

شاخص‌ها	سندرم متابولیک		دیابت		پرفشاری خون
	OR	P	OR	P	OR
متیلن تترا هیدروفولیک اسید ردوکتاز	۰/۵۸ (۰/۳۸-۰/۹)	۰/۰۱	۰/۹۵ (۰/۶۳-۱/۴۴)	۰/۸۳	۰/۷۰ (۰/۴۶-۱/۰۶)
B12	۰/۹۹ (۰/۹۹-۱/۰۰)	۰/۱۶	۱/۰۰ (۱/۰۰-۱/۰۰۵)	۰/۰۴	۰/۹۹ (۰/۹۹-۱/۰۰)
اسید فولیک	۱/۲ (۱/۰۱-۱/۴۲)	۰/۰۳	۱/۱ (۱/۰۰-۱/۰۰۴)	۰/۰۸	۱/۱۳ (۰/۹۶-۱/۳۴)
هموسیستئین	۹۹ (۰/۹۶-۱/۰۲)	۰/۶۵	۱/۰۱ (۰/۹۹-۱/۰۴)	۰/۱۸	۱/۰۱ (۰/۹۸-۱/۰۳)

جدول ۵- رابطه بین متغیرهای مورد مطالعه و سندرم متابولیک، پرفشاری خون و دیابت پس از در نظر گرفتن عوامل مداخله گر

شاخص‌ها	سندرم متابولیک		دیابت		پرفشاری خون
	OR	P	OR	P	OR
متیلن تترا هیدروفولیک اسید ردوکتاز	/۶۹ (۰/۳۹-۱/۲۱)	۰/۱	۱/۰۷ (۰/۶۲-۱/۸۵)	۰/۸	/۷۵ (۰/۴۴-۱/۲۶)
B12	۱/۰ (۰/۹۹-۱/۰۰)	۰/۹۱	۱/۰۰ (۱/۰۰-۱/۰۰۵)	۰/۰۴	/۹۹ (۰/۹۹-۱/۰۰۱)
اسید فولیک	۱/۱ (۰/۸۸-۱/۳۸)	۰/۳۹	۱/۰۳ (۰/۸۲-۱/۲۸)	۰/۷۸	۱/۰۷ (۰/۸۶-۱/۳۳)
هموسیستئین	/۹۹ (۰/۹۶-۱/۰۲)	۰/۶۵	/۹۹ (۰/۹۵۵-۱/۰۲)	۰/۵۹	/۹۹ (۰/۹۵-۱/۰۲)
طبقه بندی نمایه توده بدن *	۲/۰۸(۰/۳۹-۱/۲۱)	۰/۰۰۰	/۹۹ (۰/۷۳-۱/۳۳)	۰/۹۵	۱/۵۴ (۱/۱۵-۲/۰۸)
سن	۱/۰۹ (۱/۰۶-۱/۱۳)	۰/۰۰۰	۱/۱۰(۱/۰۷-۱/۱۳)	۰/۰۰۰	۱/۰۸ (۱/۰۵-۱/۱۱)
تعداد سیگار**	۱/۲۹ (۰/۴۶-۳/۶۵)	۰/۶۲	/۳۷۷ (۰/۱۲-۱/۱۲)	۰/۳۷۷	/۵۱ (۰/۱۹۲-۱/۳۶)

* طبقه بندی نمایه توده بدن: (کم وزنی: kg/m^2 ۱۸/۵ > ، طبیعی kg/m^2 ۱۸/۶-۲۴/۹، اضافه وزن kg/m^2 ۲۵-۲۹/۹، چاق kg/m^2 ۳۰-۴۰ ، چاقی کشنده kg/m^2 ۴۰<)

** تعداد سیگار: ۱۰> ، ۱۰-۲۰، ۲۰< عدد در روز

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

بحث

همان طور که گفته شد ، در این مطالعه برای اولین بار در جمعیت ایرانی رابطه بین پلی مورفیسم MTHFR در ناحیه C677T با سندرم متابولیک ، پرفشاری خون و دیابت مورد بررسی قرار گرفت . هیچ رابطه معنی داری بین متغیرهای مورد نظر با پلی مورفیسم MTHFR مشاهده نشد . در مطالعه ای که روی جمعیت چک انجام گرفت نیز رابطه معنی داری بین پلی مورفیسم MTHFR و پرفشاری خون مشاهده نشد که با نتایج مطالعه ما همخوانی دارد[۱۴]. مطالعه دیگری در نوجوانان مبتلا به پرفشاری خون نیز نشان داد که فشار خون سیستولی در ژنوتیپ TT بالاتر از ژنوتیپ CC نیست [۲۴]. بالعکس، در تحقیقی که در جمعیت هند انجام گرفت، مشاهده شد که ژنوتیپ CT خطر ابتلا به پرفشاری خون را افزایش می دهد [۲۵]. در زنان ژاپنی و جمعیت اسپانیایی نیز مشاهده شد که ابتلا به پرفشاری خون با ژنوتیپ CC مرتبط است [۲۶و۲۷]. همچنین در مطالعه‌ای که به روش مورد- شاهد روی جمعیت قفقازی انجام گرفت، رابطه بین جهش ژن MTHFR در ناحیه C677T و پرفشاری خون اولیه معنی‌دار گزارش گردید[۲۸]. به نظر نمی رسد علت ناهمگونی در مطالعات فوق مربوط به فراوانی آلل T باشد ؛ چراکه در بررسی که روی جمعیت هند صورت گرفت، با وجودی که شیوع TT ۱۸٪ بوده اما باز هم رابطه معنی‌داری بین پرفشاری خون و CT گزارش شد[۲۵].

بنابراین این اختلاف در نتایج ممکن است به دلیل اثر دیگر عوامل ژنتیکی یا محیطی باشد. Markan و همکارانش نیز در تحقیقی مشابه به نتیجه مشابه رسیدند و در توجیه علت آن بیان کردند که کاهش فعالیت آنزیمی MTHFR ممکن است ناشی از هتروزیگوت بودن همزمان ژنوتیپ های C677T و A1298C باشد [۲۹و۳۰] . ولی از آنجایی که در مطالعه ما پلی مورفیسم A1298C مورد بررسی قرار نگرفت، نمی توان درباره این اثر اظهار نظر کرد. از طرفی در مطالعات فوق فراوانی آلل T در افراد مبتلا به پرفشاری خون بیشتر از افراد سالم بود، در حالی که در مطالعه ما فراوانی این آلل در افراد مبتلا به پرفشاری خون و افراد سالم مشابه بود ($P < ۰/۰۱$) .

در مطالعه‌ای که در جمعیت چک انجام گرفت، نشان داده شد که رابطه بین پلی مورفیسم MTHFR و دیابت نوع ۲، وابسته به جنس می‌باشد [۱۴] حال آن که این یافته در مطالعه ما دیده نشد. تفاوت نتایج این مطالعه با مطالعه ما می‌تواند مربوط به تعداد افراد شرکت کننده و نیز متغیرهای در نظر گرفته شده در رگرسیون لجستیک باشد. به طوری که Benes و همکارانش [۱۴] روی ۴۹ فرد مبتلا به DM تحقیق کردند در حالی که در مطالعه ما ۱۶۰ فرد مبتلا به DM مورد بررسی قرار گرفتند. به علاوه، Benes و همکارانش متغیرهای MTHFR ، سن، جنس و BMI را در آنالیز رگرسیون لجستیک چندگانه لحاظ کردند، در حالی که ما هموسیستیین، B_{12} و فولیک اسید سرم و سیگار کشیدن را نیز مورد بررسی قرار دادیم؛ چراکه این متغیرها با هم ارتباط تنگاتنگی دارند .

نتایج این مطالعه در رابطه با پلی مورفیسم ژن MTHFR C677T و سندرم متابولیک با پژوهش‌هایی که توسط Russo نیز Yamada و همکارانشان انجام گرفته، همخوانی دارد [۱۶و۳۱]. Russo و همکارانش رابطه ای بین پلی مورفیسم MTHFR و سندرم متابولیک در مبتلایان به دیابت نوع ۲ که هیپرهموسیستئینمی خفیف نیز داشتند، پیدا نکردند [۱۶]. Yamada و همکارانش ۱۳۳ ژن احتمالی مسؤول بروز سندرم متابولیک را در ۱۷۸۸ فرد ژاپنی بررسی کرده و آنها نیز هیچ رابطه‌ای بین پلی مورفیسم MTHFR و شیوع سندرم متابولیک پیدا نکردند. با این وجود Ellingrod و همکارانش مشاهده کرده اند که جهش C/T ژن MTHFR افراد مبتلا به اسکیزوفرنیا مصرف کننده داروهای آنتی سایکوتیک آتیپیک را مستعد ابتلا به سندرم متابولیک می‌کند [۱۷]. این ناهماهنگی تا حدودی توسط سازوکارهای اپی‌ژنتیکی قابل توجیه می‌باشد .

منظور از سازوکارهای اپی ژنتیک تغییراتی است که در فنوتیپ (وضع ظاهری) یا بیان ژن افراد صورت می گیرد بدون آن که تغییری در توالی DNA ژنوم آن فرد رخ دهد. سازوکارهای اپی ژنتیکی حیطه های مربوط به متیلاسیون DNA ، تغییر در پروتئین های هیستون و تنظیم خودبخود (اتورگولاسیون) فاکتورهای ترجمه را در بر می‌گیرد [۳۲]. در این رابطه فرضیه ای وجود دارد که طبق آن علاوه بر به

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

ارث رسیدن *ژن مقتصد* (Thrifty gene) سازوکارهای اپی ژنتیک نیز در تکامل جنینی و پس از تولد روی بیماری‌های زمینه ساز سندرم متابولیک ، شامل مقاومت به انسولین، چاقی موضعی، دیس لیپیدمی و پرفشاری خون ، تأثیر دارند [۳۳]. این نسل حتی ممکن است این سازوکارها را از پدران یا پدربزرگ‌های خود به ارث ببرند. از آنجایی درطی دوران بزرگسالی نیز میتوز رخ می‌دهد، مسیرهای اپی ژنتیک می‌توانند روی بیان ژن در تمام مراحل زندگی تأثیر گذارند. آنزیم MTHFR به عنوان دهنده گروه متیل برای متیلاسیون مجدد (Remethylation) هموسیستئین و تبدیل آن به متیونین عمل می‌کند. متیونین گروه متیل را برای متیلاسیون DNA، به ویژه در جفت های CpG ، مصرف می کند. این جفت‌ها که در برخی نواحی معین وجود دارند به عنوان پیش بَرَنده (promoter) برای ژن‌های مرتبط عمل می‌کنند [۳۴] . در نتیجه عوامل محیطی / تغذیه ای می توانند رابطه MTHFR و سندرم متابولیک را از طریق این سازوکارهای اپی ژنتیک تحت تأثیر قرار دهند [۳۵].

در مجموع می‌توان گفت که این مطالعه برای بررسی رابطه پلی مورفیسم C677T ژن MTHFR با دیابت نوع ۲، پرفشاری خون و سندرم متابولیک انجام گرفت و رابطه‌ای بین این پلی مورفیسم با دیابت نوع ۲ ، پرفشاری خون و سندرم متابولیک در جمعیت ایرانی دیده نشد. پس از جستجو در منابع اطلاعاتی معتبر، به نظر می‌رسد که مطالعه ما اولین مطالعه از نوع خود باشد که در آن به رابطه پلی مورفیسم ژن MTHFR و سندرم متابولیک در یک جمعیت (General population) پرداخته شده است .

به منظور تأیید نتایج این مطالعه لازمست مطالعات جمعیتی وسیع تری انجام گیرند . با توجه به نتایج به دست آمده، توصیه می شود اقدامات لازم جهت تغییر شیوه زندگی و در نتیجه تغییر سازوکارهای اپی ژنتیکی در جامعه ترویج شوند. یکی از بهترین اقدامات قابل انجام، غنی سازی آرد با فولیک اسید می باشد . چرا که فرضیه ها حاکی از آنند که غنی‌سازی با فولیک اسید می‌تواند بر بلوک متابولیک به وجود آمده در اثر جهش ژن MTHFR غلبه کرده و به دنبال آن متیلاسیون DNA و بیان ژن را تحت تأثیر قرار دهد.

پیشنهاد می‌شود که اثر غنی سازی/مکمل یاری با فولیک اسید روی بیان ژن MTHFR بررسی شود، به ویژه آن دسته از ژن‌هایی که با بیماری‌های مزمن نظیر پرفشاری خون ، دیابت و سندرم متابولیک در ارتباطند .

سپاسگزاری

این مطالعه با استفاده از بودجه مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران انجام گردیده است .پژوهشگران این مقاله بر خود واجب می دانند که از مساعدت همه جانبه کارمندان آزمایشگاه ژنتیک که انجام آنالیزهای ژنومیک را به عهده داشتند و کلیه افراد شرکت کننده در این طرح کمال قدردانی را داشته باشند.

ماخذ

1. De Bree A, Verschuren W.M.M, Kromhout D, et al. Homocysteine determinants and evidence to what extent homocysteine determines the risk of coronary heart disease. *Pharmacol Rev* 2002; 54: 599-618.
2. Frosst P, Blom HJ, Milos R, et al. A candidate genetic risk factor for cardiovascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase. *Nat Genet* 1995; 10: 111-13.
3. Qutinen PA, Sood SK, Liaw PC, et al. Characterization of the stress-inducing effects of homocysteine. *Biochem J* 1998; 332:213-21.
4. Van Guldener C, and Stehouwer CD. Diabetes mellitus and hyperhomocysteinemia. *Semin Vasc Med* 2002; 2(1): 87-95.
5. Becker A, Smulders YM, Van Guldener C, et al. Epidemiology of homocysteine as a risk factor in diabetes. *Metab Syndr Related Disord* 2003;1(2):105-120.
6. Dinavahi R, Cossrow N, Kushner H, et al. Plasma homocysteine concentration and blood pressure in young adult African Americans. *Am J Hyperten* 2003; 16(9 pt 1): 767-70.
7. Fakhrzade H, Ghotbi S, Pourebrahim R, et al. Plasma homocysteine concentration and blood pressure in healthy Iranian adults: the Tehran Homocysteine Survey (2003-2004*). J Hum Hyperten* 2005; 19: 869-76.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

8. Oron-Herman M, Rosenthal T, and Sela B. Hyperhomocysteinemia as a component of syndrome X. *Metab* 2003; 52(11): 1491-95.
9. Giltay EJ, Hoogeveen EK, Elbers JM, et al. Insulin resistance is associated with elevated plasma total homocysteine levels in healthy non-obese subjects. *Atherosclerosis* 1998; 139:197-8.
10. Meigs JB, Jacques PF, Selhub J, et al. Fasting plasma homocysteine levels in the insulin resistance syndrome. The Framingham Offspring Study. *Diabetes Care* 2001; 24:1403-10.
11. De Pergola G, Pannacciulli N, Zamboni M, et al. Homocysteine plasma levels are independently associated with insulin resistance in normal weight, overweight and obese pre-menopausal woman. *Diabetes Nutr Metab* 2001;14:253-8.
12. Sanchez-Margalet V, Valle M, Ruz FJ, et al. Elevated plasma total homocysteine levels in hyperinsulinemic obese subjects. *J Nutr Biochem* 2002; 13:75-9.
13. Quian X, Lu Z, Tan M, et al. A meta-analysis of association between C677T polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase gene and hypertension. *Eur J Hum Genet* 2007;15(12): 1239-45.
14. Benes P, Kankova K, Muzik J, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism, type 2 diabetes, coronary artery disease, and essential hypertension in the Czech population. *Molec Genet & Metab* 2001; 73:188-95.
15. Sun J, Xu Y, Zhu Y, et al.Genetic polymorphism of methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for diabetic nephropathy in Chinese type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 64(3):185-90.
16. Russo GT, Di Benedetto A, Alessi E, et al. Mild hyperhomocysteinemia and the common C677T polymorphism of methylene tetrahydrofolate reductase gene are not associated with the metabolic syndrome in Type 2 diabetes. *J Endocrinol Invest* 2006; 29:201–7.
17. Ellingrod VL, Miller DD, Taylor SF, et al. Metabolic syndrome and insulin resistance in schizophrenia patients receiving antipsychotics genotyped for the methylenetetrahydrofolare reductase (MTHFR) 677C/T and 129A/C variants. *Schizo Res* 2008; 98: 47-54.
18. Fakhrzadeh H, Ebrahimpour P, Pourebrahim R, et al. Metabolic syndrome and its associated risk factors in healthy adults: A population-based study in Iran. *Metab Syndr Relat Disord* 2006; 4(1):28-34.
19. Takanari G. Genetic susceptibility to metabolic syndrome. *Nippon Rinsho* 2004; 62(6): 1037-44.
20. Fakhrzadeh H, Ghotbi S, Pourebrahim R, et al.Total plasma homocysteine,folate and vitamin B_{12} status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey(2003-2004)/a cross-sectional based study. *BMC Public Health* 2006; 6(29): 1-8.
21. Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults, Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel 2I). *JAMA* 2001; 285:2486 –97.
22. World Health Organization: Arterial hypertensive: report of a WHO Expert Committee. *WHO Technical Report Series* 1978; 628: 7-56.
23. American Diabetes Association, Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabet Care* 2004; 27(1): S5-10.
24. Koo HS, Lee HS, and Hong YM. Methylenetetrahydrofolate reductase TT genotype as a predictor of cardiovascular risk in hypertensive adolescents. *Pediatr Cardiol* 2008; 29: 136-41.
25. Markan S, Sachdeva M, Sehrawat BS, et al. MTHFR 677 CT/MTHFR 1298 CC genotypes are associated with increased risk of hypertension in Indians. *Mol Cell Biochem* 2007; 302: 125-31.
26. Inamoto N, Katsuya T, Kokubo Y, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism with carotid atherosclerosis depending on smoking status in a Japanese general population. *Stroke* 2003; 34: 1628-33.
27. Rodriguez-Esparragon FJ, Rodriguez-Perez JC, Macias-Reyes A, et al. Peroxisome proliferators-activated receptor-gamma2-Pro12Ala and endothelial nitric oxide synthase-4a/b gene polymorphism are associated with essential hypertension. *J Hypertens* 2003; 21: 1649-55.
28. Heux S, Morin F, Lea RA, et al. The methylentetrahydrofolate reductase gene variant (C677T) as a risk factor for essential hypertension in Caucasian. *Hypotens Res* 2004; 27(9): 663-7.
29. Weisberg I, Tran P, Christensen B, et al. A second genetic polymorphism in methyltetrahydrofolate reductase (MTHFR) associated with decreased enzyme activity. *Mol Genet Metab* 1998; 64:169-72.
30. Weinsberg IS, Jacques PF, Selhub J, et al. The 1298 A > C polymorphism in methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR): in vitro expression and association with homocysteine. *Atherosclerosis* 2001; 156: 409-15.
31. Yamada Y, Kato K, Hibino T, et al. Prediction of genetic risk for metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2007; 191(2):298-304.
32. Jablonka E, and Lamb MJ. The changing concept of epigenetics. *Ann NY Acad Sci* 2002; 981:82–96.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]

33. Gallou-Kabani C, and Junien C. Nutritional Epigenomics of Metabolic Syndrome. *Diabetes* 2005; 54:1899-1906.
34. Lu Q, Qiu X, Hu N, et al. Epigenetics, disease, and therapeutic interventions Ageing. *Research Reviews* 2006; 5: 449–67.
35. Waterland RA, Jirtle RL. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition* 2004; 20:63-8.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2025-01-12]