بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم C825T در ژن GNB3 با چاقی در جمعیت استان اردبیل

فاطمه ناطق، هاشم یعقوبی* و کیوان رجبعلیزاده

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

تاریخ دریافت: ۹۶/۳/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۰

چکیده

امروزه چاقی یکی از معضلات بهداشتی و عامل خطر بروز بسیاری از بیماریهاست که از علل عمده بروز آن، عوامل ژنتیکی هستند. یکی از عوامل ژنتیک که اخیراً برای چاقی مورد توجه قرار گرفته، پلی‌مورفیسم‌های ژن GNB3 می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم C825T در ژن GNB3 با چاقی در جمعیت استان اردبیل انجام گرفت. این مطالعه از نوع موردی شاهدی بود که ۱۰۰ نفر فرد چاق (گروه مورد) و ۱۰۰ نفر سالم (گروه شاهد) بر اساس شاخص توده بدنی وارد طرح شدند. از این افراد ۵ میلی‌لیتر خون جهت آزمایشات مولکولی گرفته شد. DNA کلیه نمونه‌های خون با استفاده از روش استاندارد فنل کلرفرم استخراج شدند. ژنوتیپ های پلی‌مورفیسم C825T در ژن GNB3 با استفاده از تکنیک PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism) تعیین گردید. فراوانی ژنوتیپ TT در افراد چاق به‌طور معنادار بیشتر از فراوانی آن در افراد سالم بود (۳۸ درصد در مقابل ۱۳ درصد و P=0.0001). همچنین، فراوانی آلل T در گروه چاق به‌طور معنادار بیشتر از گروه سالم بود (۶۰ درصد در مقابل ۳۹ درصد و P=0.0029). یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان می دهد که پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 با چاقی در جمعیت استان اردبیل ارتباط داشته و می‌تواند نشان دهنده یکی از دلایل احتمالی ژنتیک در بروز عارضه چاقی در افراد این منطقه باشد.

واژه های کلیدی: چاقی، اردبیل، پلی مورفیسم C825T ، ژن GNB3، PCR-RFLP

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۵۷۹۸۷۳۵ ، پست الکترونیکی: yaghoubi_h@iauardabil.ac.ir

مقدمه

امروزه چاقی یکی از معضلات بهداشتی و عامل خطر برای بروز بسیاری از بیماریها است. شیوع این عارضه در بسیاری از کشورهای صنعتی و نیز کشورهای در حال توسعه به‌سرعت در حال افزایش است، در حال حاضر ۱۵٪ مردم دنیا چاق هستند و مطالعات نشان می‌دهد بالای ۵۸٪ از مردم جهان به چاق بودن تا سال ۲۰۳۰ دچار می‌شوند (۱۰). چاقی عامل خطرزای بیماریهای دیابت، هیپرلیپیدمی، فشارخون بالا، سندرم متابولیک، سکته و بیماری عروق کرونراست (۲).

چاقی ناشی از افزایش عمومی یا موضعی چربی در بدن می‌باشد. اگر تجمع چربی اضافی در نواحی تنه و به ویژه شکم صورت گیرد، به آن چاقی آندروئید گفته می‌شود که بیشتر در مردان مشاهده می‌گردد. چنانچه چربی اضافی در قسمتهای محیطی بدن بویژه اطراف رانها و باسن متمرکز شود، به آن چاقی ژینوئید می‌گویند که عمدتاً در زنان دیده می‌شود(۱۴).

اضافه وزن و چاقی بسته به نوع و دقت کار به طرق مختلف ارزیابی می‌شوند. روشهای ساده آن عبارتند از جداول وزن، قد، شاخص توده بدنی (BMI : Body mass

index)، دور کمر، نسبت دور کمر به دور باسن و نسبت دور شکم به دور لگن. معیار پیشتاز در این زمینه BMI است؛ BMI بین $^{kg}/_{m2}$ ۲۹/۹-۲۵ را اضافه وزن و BMI بالاتر از ۳۰ را چاق می‌نامند(۲۵). علل متعددی در بروز چاقی دخالت دارند؛ عوامل ژنتیکی، افزایش دریافت انرژی نسبت به مصرف آن، زندگی بدون تحرک، عوامل محیطی- اجتماعی و روانی، اختلالات عصبی و تغذیه بیش از حد در دوران کودکی از جمله این عوامل هستند (۱۸).

یکی از ژنهایی که برای چاقی مورد توجه قرار گرفته است ژن GNB3 است(۲۸). ژن GNB3 (Guanine nucleotide –binding protein G sub unit beta 3) بر روی کروموزوم 12p13 قرار گرفته است. پروتئین G، یک ارتباط دهنده بین سیگنالها (پروتئینهای موثر بر سلول) و گیرنده‌های سطح سلولی است و زیر واحد بتا این پروتئین به وسیله ژن GNB3 کد می‌شود (۱۷). جهشC825T شایعترین جهش ژن GNB3 می‌باشد که در نتیجه آن ۴۱ اسید آمینه در این پروتئین حذف می‌شود. این فرایند باعث پر کار شدن پروتئین G و در نتیجه افزایش تاثیر سیگنالهای سلولی می‌شود و بدنبال آن یکسری اختلالات و بیماریها رخ می‌دهد (۳). در مطالعات مختلفی تاثیر این پلی‌مورفیسم بر پرفشاری خون و بیماریهای کاردیووسکولار تایید شده است (۱۲، ۱۶، ۱۹ و ۲۱). در مطالعه حاضر ارتباط بین پلی‌مورفیسم C825T در ژن GNB3 با چاقی در جمعیت استان اردبیل مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها

انتخاب و جمع آوری نمونه و استخراج DNA از نمونه ها: این مطالعه مورد–شاهدی بر روی ۲۰۰ نفراز افراد مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی اردبیل و نمین انجام شد که بر اساس شاخص توده بدنی (BMI) به دو گروه چاق (BMI≥30) و کنترل (BMI<25) تقسیم شدند. نمونه ها با رضایت افراد و با پر کردن فرم رضایت نامه جهت انجام مراحل مختلف جمع آوری شدند. به منظور تعیین ژنوتیپ از هر فرد مقدار ۵ میلی‌لیترخون گرفته شد و در فالکون‌های حاوی EDTA، به عنوان ماده ضد انعقادکننده، ریخته شد و نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و در فریزر۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. DNA کلیه نمونه‌های خون با استفاده از روش استاندارد فنل کلرفرم استخراج شده و میزان آن با استفاده از اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد و در ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای PCR (Polymerase Chain Reaction) ذخیره شد.

اجزاء و مواد مورد استفاده برای PCR: واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر که شامل ۲/۵ میکرولیتر بافر ۲/۱،10X میکرولیترکلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار، ۰/۲ میکرولیتر Taq Polymerase ، ۰/۵ میکرولیتر ۱،dNTP(10mM)s میکرولیتر ازپرایمر رفت با توالی '5 : TGACCCACTTGCCACCCGTGC-3' و ۱ میکرولیتراز پرایمر برگشت با توالی 5' GCAGCAGCCACCGCTGGC-3 : ۱۴/۷ میکرولیتر آب مقطر و ۳ میکرولیتر DNA در نظر گرفته شد. برنامه PCR به صورت دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳دقیقه و سپس ۳۴ سیکل شامل دناتوراسیون ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه، اتصال پرایمرها ۵۱ درجه سانتی گراد به مدت۳۰ ثانیه و طویل سازی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه انجام گرفت و در نهایت طویل سازی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳ دقیقه صورت گرفت. سپس جهت بررسی تکثیر موفق قطعه مورد نظر، ۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد و به کمک رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید مورد آزمایش قرار گرفت .

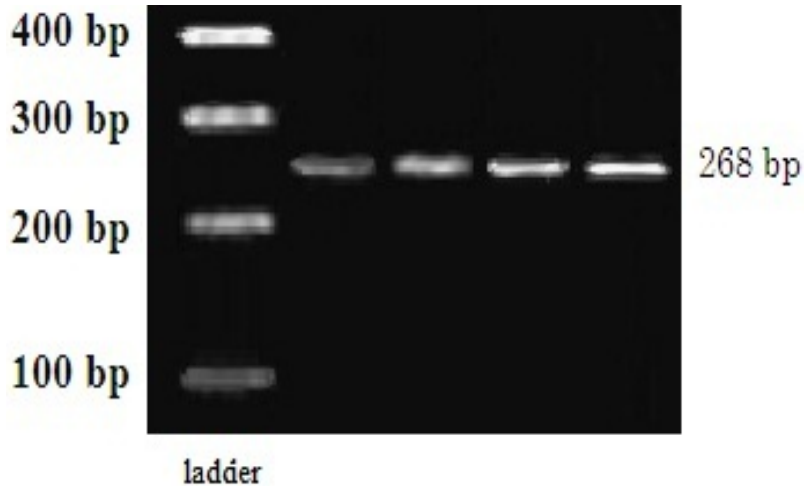
تکنیک RFLP: پس از واکنش PCR جهت انجام تکنیک RFLP ، ۷/۵ میکرولیتر از محصول PCR تحت اثر هضم با آنزیم BSaJI به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید و با الکتروفورز نمونه ها ژنوتیپ TT با باند ۲۶۸ جفت باز، ژنوتیپ CT با باند های۲۶۸،

۱۵۴، ۱۱۴ جفت باز و ژنوتیپ CC با باند های ۱۵۴ و ۱۱۴ جفت باز روی ژ ل آگارز ۲ درصد مشخص شدند.

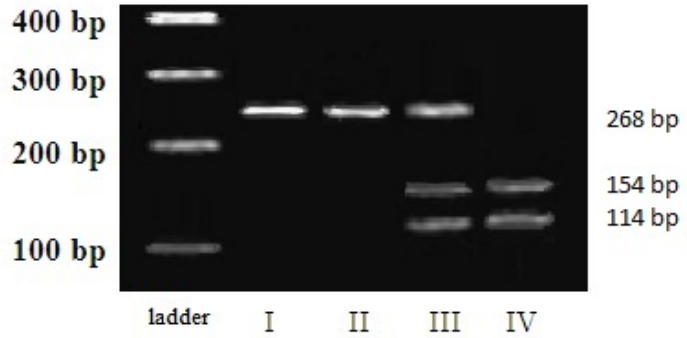
آنالیز آماری: در این مطالعه ارتباط بین ژنوتیپ ها با استعداد چاقی در افراد توسط آنالیز آماری از آزمونهای کای‌دو، تی‌تست و به کمک نرم افزارSPSS نسخه ۱۶ بررسی شد. سطح معنی دار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. به عبارتی P-value<۰/۰۵ بیان کننده این است که اختلاف بین افراد سالم و چاق معنادار است ولی P-value > ۰/۰۵ بیان کننده این است که هیچ اختلاف معناداری بین افراد کنترل و بیمار وجود ندارد.

نتایج

شکل ۱ ژل تهیه شده از الکتروفورز محصول PCR ژن GNB3 را نشان می دهد پس از تکثیر قطعات مورد نظر باند ۲۶۸ bp حاکی از تکثیر موفق این ناحیه بود (شکل۱) و بریده شدن این قطعات تحت اثر آنزیم BSaJI الگوی قطعات حاصل پس از الکتروفروز روی ژل آگاروز بصورت یک قطعه با طول ۲۶۸ bp نمایانگر ژنوتیپ TT ،سه قطعه با طولbp ۲۶۸ ،۱۱۴،۱۵۴ نمایانگر ژنوتیپ CT و دو قطعه با طول ۱۵۴ bp ،۱۱۴ نمایانگر ژنوتیپ CC می‌باشد. شکل ۲ الگوی باندهای حاصل را روی ژل آگاروز نشان می دهد.



شکل۱- ژل تهیه شده از الکتروفورز محصول PCR ژن GNB3



شکل ۲ – ژل تهیه شده از RFLP و الکتروفورز با ژنوتیپ‌های مختلف (ستون I: محصول uncut، ستون II: هموزیگوت TTبا باند(۲۶۸bp)، ستون III: هتروزیگوت CTبا باندهای(۲۶۸bp ،۱۵۴، ۱۱۴)ستون IV: هموزیگوتCC با باندهای(۱۵۴،۱۱۴ bp)

توزیع جنسی افراد مورد مطالعه: در مجموع در مطالعه حاضر ۲۰۰ نفر مورد بررسی قرار گرفتند که از این تعداد، ۸۶ نفر (۴۳ درصد) مرد و ۱۱۴ نفر (۵۷ درصد) زن بودند. از ۱۰۰ فرد واقع در گروه سالم، ۴۲ نفر مرد و ۵۸ نفر زن، و از ۱۰۰ فرد واقع در گروه افراد چاق، ۵۶ نفر مرد و ۴۴ نفر زن بود. جدول ۱ توزیع جنسیتی افراد مورد مطالعه را نشان می‌دهد. همان طور که از این جدول دیده می‌شود، مقدار معنی‌داریِ آزمون کای‌دو بیشتر از ۰/۰۵ آمده است (sig.=0.775) که نشان دهنده این است که دو گروه مورد مطالعه از نظر توزیع جنسی افراد اختلاف معنادار ندارند.

جدول ۱-توزیع جنسی افراد مورد مطالعه

جنسیت	گروه چاق		گروه سالم		فراوانی		کای اسکویر
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	مجموع	درصد	
مرد	۴۴	٪۴۴	۴۲	٪۴۲	۸۶	٪۴۳	۰/۷۷۵
زن	۵۶	٪۵۶	۵۸	٪۵۸	۱۱۴	٪۱۱۴	

میانگین سنی وBMI افراد مورد مطالعه: بررسی شاخص های تن سنجی نشان داد که میانگین BMI افراد سالم (۲۳/۵±۳/۲) و میانگین BMI افراد چاق(۳۴/۳±۲/۷) بود. مقدارمعنی‌داریِ آزمون تی‌تست کمتر از ۰/۰۵ آمده است (sig.<0.001) که نشان دهنده این است که دو گروه مورد مطالعه از نظر BMI افراد اختلاف معنادار دارند به طوری که میانگین BMI افراد گروه چاق به طور معنادار بیشتر از افراد گروه سالم است (جدول۲). کم سن ترین و مسن ترین فرد مورد مطالعه برای گروه سالم به ترتیب ۲۰ و ۶۱ سال و برای گروه چاق ۲۳ و ۶۵ سال بود.

جدول ۲ – میانگین سنی و BMI افراد مورد مطالعه در دو گروه سالم و چاق

متغیر	گروه چاق(میانگین ±انحراف معیار	گروه سالم (میانگین± انحراف معیار)	p-value
سن	۴۱/۶±۱۳/۸	۴۱/۵±۱۶/۷	۰/۹۶۳
BMI	۳۴/۳±۲/۷	۲۳/۵±۳/۲	کمتر از ۰/۰۰۱

مقایسه فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 در بین دو گروه چاق و سالم: فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم C825T ژنGNB3 در بیماران مبتلا به چاقی و افراد کنترل سالم در جمعیت مورد مطالعه در جدول ۳ مشاهده می‌شود. همان طور که از این جدول مشاهده می‌شود، فراوانی ژنوتیپ TT در افراد چاق بیشتر از فراوانی آن در افراد سالم بود (۳۸ درصد در مقابل ۱۳ درصد). همچنین فراوانی آلل T در گروه چاق بیشتر از گروه سالم بود (۶۰ درصد در مقابل ۳۹ درصد).

فراوانی ژنوتیپ های CC، CTوTT به ترتیب در افراد چاق ۱۸، ۴۴و ۳۸ درصد و در افراد کنترل سالم ۳۵، ۵۲ و ۱۳ درصد بودند و آلل C و T نیز در افراد چاق ۴۰و ۶۰ درصد و در افراد سالم ۶۱ و ۳۹ درصد بود. نتایج بدست آمده از آزمون کای‌دو برای هر دو متغیر کمتر از ۰/۰۵ بدست آمد (sig.=0.0001 برای ژنوتیپ و sig. =0.0029 برای آلل) که نشان دهنده این است که دو گروه موردِ مطالعه از نظر توزیع فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی‌مورفیسم C825T ژنGNB3 تفاوت دارند به طوری که فراوانی ژنوتیپ TT و آلل T در افراد چاق به طور معنادار بیشتر از فراوانی آن در افراد سالم بود.

جدول۳- مقایسه ارتباط ژنوتیپ ها و آلل های پلی مورفیسم C825T در ژن GNB3 بین دو گروه چاق و سالم

ژنوتیپ ها	گروه چاق		گروه سالم		p-value
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
CC	۱۸	٪۱۸	۳۵	٪۳۵	۰/۰۰۰۱
CT	۴۴	٪۴۴	۵۲	٪۵۲	
TT	۳۸	٪۳۸	۱۳	٪۱۳	
فراوانی آلل C	۸۰	٪۴۰	۱۲۲	٪۶۱	۰/۰۰۲۹
فراوانی آلل T	۱۲۰	٪۶۰	۷۸	٪۳۹	

بحث

چاقی به تجمع زیاد یا غیر طبیعی چربی بدن که اختصاص به کل یا قسمت‌های خاصی از بدن دارد اطلاق می‌شود(۱) که مانند بسیاری دیگر از وضعیت‌های پزشکی، نتیجه تعامل بین عوامل ژنتیکی و محیطی می‌باشد (۲و ۱۵). از آنجایی که کمتر کشوری در دنیا وجود دارد که با معضل چاقی درگیر نباشد، چاقی و بیماریهای مرتبط با آن مورد توجه بسیاری از پژوهشگران قرار گرفته است. در این راستا محققان به دنبال نشانگرهای بیولوژیکی و مولکولی هستند که از طریق آن بتوانند، افراد مستعد این معضل اجتماعی را شناسایی کرده و تاثیر چاقی بر دستگاههای مختلف فیزیولوژیک بدن را به خوبی شناسایی نمایند (۸ و ۲۳). ژنهایی که در شکلهای مختلف چاقی مشارکت می‌کنند، به راحتی قابل شناسایی نیستند، اما نتایج مطالعات ژنومی گسترده بر روی جمعیت کثیری از افراد نشان دهنده ارتباط پلی‌مورفیسم ژنها و افزایش خطر ابتلاء به عارضه چاقی می‌باشد (۲۴).

یکی از ژنهایی که برای چاقی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است ژن GNB3 است که شامل ۱۲ اگزون بوده، از ۳۴۰ آمینو اسید تشکیل شده و در کروموزوم 12p13 واقع شده است و زیر واحد B3، پروتئین‌های هتروتری مریک G را رمز می‌کند. (۱۳). پلی‌مورفیسم C825T (جایگزینی سیتوزین به تیمین در نوکلئوتید ۸۲۵ در اگزون ۱۰) در ژن (GNB3) منجر به یک اتصال کوتاه (GB3) می‌شود که در آن نوکلئوتیدهای ۶۲۰-۴۹۸ از اگزون ۹ حذف می‌شوند. محصول GNB3 825T، ۴۱ آمینو اسید کمتر از نوع وحشی محصول آلل 825C است (۲۰). بررسی حاضر ارتباط بین پلی‌مورفیسم C825T در ژن GNB3 با چاقی بررسی نموده است.

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که فراوانی ژنوتیپ TT در افراد چاق به طور معنادار بیشتر از فراوانی آن در افراد سالم بود (۳۸ درصد در مقابل ۱۳ درصد؛ P=0.0001)، و نیز فراوانی آلل T در گروه چاق به طور معنادار بیشتر از گروه سالم بود (۶۰ درصد در مقابل ۳۹ درصد؛ P=0.0029).

در راستای تحقیق حاضر، مطالعه ایر و همکاران (۷) در عربستان نشان داد که آلل 825T عاملی برای چاقی می‌باشد. مطالعه هگلا و همکاران (۵) نشان داد که وزن بدن، دور کمر، و دور باسن در افراد با GNB3 825T به طور معنادار بالاتر است ولی این تغییر ژنتیکی ارتباطی با فشار خون ندارد. نتایج مطالعه کیانی و همکاران (۱۱) نشان داد که ژنوتیپ TT در پلی‌مورفیسم C825T GNB3 در مقایسه با ژنوتیپ CT/CC ارتباط معناداری با چاقی دارد. کلنک و همکارانش (۱۲) در سال ۲۰۱۱ مشاهده کردند که آلل 825T با بیماری فشار خون، افسردگی و چاقی ارتباط دارد. شیفرت و همکاران (۲۱)، طی تحقیقاتی که انجام دادند به این نتیجه رسیدند آلل825T باخطر فشار خون بالا، سندرم متابولیک، اختلالات چربی و چاقی همراه است. استفان و همکاران (۲۵) به این نتیجه رسیدند که

پلی‌مورفیسم C825T در ژن GNB3 نقش مهمی در تعیین چاقی ایفا می‌کند. مطالعه ونگ و همکارانش در چین (۲۶) نشان داد که افراد دارای ژنوتیپ نوع TT ارتباط معناداری با چاقی دارند نسبت به کسانی که دارای ژنوتیپCT و یا CC بودند. شیفرت و همکاران (۲۲) در مطالعه‌ای به بررسی توزیع قومی C825T در ژن GNB3 در سراسر جهان و ارتباط آن با چاقی در مردان جوان آلمانی، چینی و آفریقایی پرداختند. در هر یک از این سه گروه، فراوانی آلل 825T در افراد چاق (BMI> ۲۷ kg / m2) نسبت به کسانی که وزن طبیعی داشتند، به طور معنادار افزایش یافته بود. در تحقیقاتی که سمپلیسینی و همکاران (۱۹) انجام دادند به این نتیجه رسیدند که آلل GNB3 825T یک نشانگر مفید ژنتیکی برای تعیین بهتر مشخصات ریسک بیماران مبتلا به فشار خون بالا و چاقی است. زیرا افزایش فشار خون و چاقی با خطر سکته مغزی همراه است. در پژوهشی که توسط K.D.KO و همکاران (۹) در کره روی زنان چاق کره ای صورت گرفت یافته ها نشان دادکه پلی مورفیسم GNB3 825T با چربی خون ارتباط معناداری دارد و این پلی مورفیسم یک عامل تعیین کننده در متابولیسم مربوط به چاقی در این جمعیت است. مطالعات نشان دادند که پلی مورفیسم درC825T ژن GNB3 در استعداد چاقی تاثیر گذار است و این پلی مورفیسم تاثیر آشکاری روی BMI افراد چاق دارد.

ولی بر خلاف یافته‌های فوق که نشان‌دهنده وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 با چاقی بودند، مطالعه سیا و همکارانش (۶) در سال ۲۰۱۳ در جمعیت تایوانی ارتباط معناداری بین این پلی‌مورفیسم با چاقی افراد نشان نداد. همچنین، تتسوهایاکاوا و همکارانش (۴) در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که این پلی‌مورفیسم در ژاپن با چاقی، فشار خون و دیابت ارتباطی ندارد. همانند مطالعه حاضر، اکثر مطالعات انجام شده در سطح جهان نیز، نشان دهنده وجود ارتباط بین پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 و چاقی هستند. در تحقیق حاضر نیز ژنوتیپ TT ارتباط معنی داری با چاقی نشان داد(P=0.0001). البته در چند مطالعه، ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم 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.

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که پلی‌مورفیسم C825T ژن GNB3 با چاقی در جمعیت استان اردبیل ارتباط داشته و می‌تواند نشان دهنده یکی از دلایل احتمالی ژنتیک در بروز عارضه چاقی در افراد باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان نامه کارشناسی ارشد می باشد. نویسندگان این مقاله از مسئولین محترم دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل به خاطر فراهم کردن امکانات انجام این تحقیق و نیز از تمام کسانی که در انجام این پروژه همکاری و حمایت نمودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

منابع

1. Athyros V, Tziomalos K, Karagiannis A, Anagnostis P, Mikhailidis D. Should adipokines be considered in the choice of the treatment of obesity-related health problems? Current Drug Targets 2010; 11(1): 122-35.

2. Borecki IB, Higgins M, Schreiner PJ, Arnett DK, Mayer-Davis E, Hunt SC, et al. Evidence for multiple determinants of the body mass index: the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. Obes Res 1998; 6: 107-14.

3.Gbadoe KM, Berdouzi N , Aguinano A,Ndiaye NC, Visvikis S. Cardiovascular diseases-related *GNB3* C825T polymorphism has a significant sex-specific effect on serum soluble E-selectin levels.JURNAL OF INFLAMMATION 2016;34(1),45-50.

4. Hayakawa T, Takamura T, Abe T, & Kaneko S. Association of the C825T polymorphism of the G-protein β3 subunit gene with hypertension, obesity, hyperlipidemia, insulin resistance, diabetes, diabetic complications, and diabetic therapies among Japanese. Vidal-Metabolism.2007; 56(1), 44-48

5. Hegele RA, Anderson C, Young TK, Connelly PW. G-protein beta3 subunit gene splice variant and body fat distribution in Nunavut Inuit. Genome Res 1999; 972–977.

6. Hsiao T-J, Hwang Y, Liu C-H, Chang H-M, & Lin E. Association of the C825T polymorphism in the GNB3 gene with obesity and metabolic phenotypes in a Taiwanese population. Genes & nutrition2013; 8(1), 137-144.

7. Iyer A, Yaghmoor S, Hagras M, Hettari Y, & Kumosani T. Association of GNB3 C825T polymorphism with obesity in Saudi population. Life Sci J. 2014;11(6):680-684.

8. Janssen S, Ramaswami G, Davis EE, et al. Mutation analysis in Bardet-Biedl syndrome by DNA pooling and massively parallel resequencing in 105 individuals. Human Genetics 2011; 129(1): 79-90.

9. K. D. Ko, K. K. Kim, H. S. Suh, I. C. Hwang. Associations between the GNB3 C825T polymorphism and obesity-related metabolic risk factors in Korean obese women. Journal of Endocrinological Investigation 2014; 11(37):1117-1120.

10. Kelly T, Yang W, Chen CS, Reynolds K, He J. Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. Int J Obes (Lond) 2008; 32:1431–1437.

11.Kiani JG, Saeed M, Parvez SH, Frossard PM. Association of G-protein beta-3 subunit gene (GNB3) T825 allele with type II diabetes. Neuroendocrinol Lett 2005; 26:87–88.

12. Klenke S, Kussmann M, Siffert W. The GNB3 C825T polymorphism as a pharmacogenetic marker in the treatment of hypertension, obesity, and depression. Pharmacogenet Genomics 2011; 21:594–606

13. Levine MA, Modi WS, O'Brien SJ. Chromosomal localization of the genes encoding two forms of the G protein beta polypeptide, beta 1 and beta 3, in man. Genomics 1990; 8:380–386.

14. Mahan.LK, Escott- Stump S. Krause's food. Nutrition & Diet Therapy. 2004; 3 (2): 565-75.

15. Moghanibashi Mansourieh M.M., Kamali Sarvestani A., Mohammadi Nejad P.,Kohan L. and Kamali Sarvestani E. Association of -317 G/T polymorphism of Muc6 gene promoter with increased risk of peptic ulcer disease. Journal of cellular and molecular researches (Iranian journal of biology). 1393; 2(27): 277-284

16.Nejatizadeh A, Kumar R, Stobdan T, Pasha M.Q. Association of GNB3 C825T polymorphism with plasma electrolyte balance and susceptibility to hypertension. *Genet Mol Biol* 2011; 34(4):553-6.

17. Rosskopf D, Busch S, Manthey I, Siffert W. G protein beta 3 gene: structure, promoter, and additional polymorphisms. *Hypertension* 2000; 36(1): 33–41.

18. Samaras K, Kelly PJ. Genetic and environmental influences on total- body and central abdominal fat. Ann Intern Med. 1999; 130: 837-42.

19.Semplicini A,Grandi T, Sodona C, Cattelan A, Ceolotto C. G-Protein Î²3-Subunit Gene C825T Polymorphism and Cardiovascular Risk: An Updated Review.High Blood Pressure &Cardiovascular Prevention 2015;225-232.

20. Siffert W, Rosskopf D, Siffert G, Busch S, Moritz A, Erbel R. Association of a human Gprotein beta3 subunit variant with hypertension. Nat Genet 1998; 18:45–48.

21. Siffert W, Naber C, Walla M, Ritz E. Gprotein β3 subunit 825T allele and its potential association with obesity in hypertensive individuals. J. Hypertens 1999; 17:1095–1098.

22. Siffert W, Forster P, Jöckel KH, Mvere DA, Brinkmann B, Naber C, Crookes R, Du P, Heyns A, Epplen JT, Fridey J. Worldwide ethnic obesity in Caucasian, Chinese distribution of the G protein beta3 subunit 825T allele and its association with, and Black Africanindividuals. J Am Soc Nephrol 1999; 10:1921– 1930.

23. Soltani A., Rahmati Rad S., Pourpak Z., Alizadeh Z., Haji beigi B., Zeidi M. and Farazmand A. Association study of mbl2 exon 1 polymorphisms and its relation to serum MBL level in tehran population. Journal of cellular and molecular researches (Iranian journal of biology) 1392; 4(26): 491-498

24. Speliotes EK, Willer CJ, Berndt SI, et al. Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. Nature Genetics 2010; 42(11): 937-48

25.Stefan N, Stumvoll M, Machicao F, Koch M, Häring HU, Fritsche A. C825T polymorphism of the G protein beta3 subunit is associated with

obesity but not with insulin sensitivity. Obes Res 2004; 12:679–683.

26. Wang Y-C, Bai Y-M, Chen J-Y,Lin C-C, Lai I-C, & Liou Y-J. C825T polymorphism in the human G protein beta3 subunit gene is associated with long-term clozapine treatment-induced body weight change in the Chinese population. Pharmacogenetics and genomics2005;15(10), 743-748 .

27. Woo J, Ho SC, Yu A, Sham A. Is waist circumference a useful measure in predicting health outcomes in the elderly? Int J Obes Relat Metab Disord. 2002; 26 (1): 1349-55.

28. Zagradisnik B, Bracic K, Varda NM, Kokalj Vokac N, Gregoric A. G-protein beta3 subunit gene C825T polymorphism in patients with vesicoureteric reflux. Ann Genet 2004; 47(3):209-16.

Investigation of relationship between the C825T polymorphism in GNB3 gene and obesity in the population of Ardabil, Iran

Nategh F., Yaghoubi H. and RajabaliZadeh K.

Biology Dept., Ardabil Branch, Islamic Azad University, Ardabil, I.R. of Iran

Obesity is currently a risk factor for many diseases and health problems that one of the main causes of its incidenceare genetic factors. One of the genetic factors that recently considered for obesity is polymorphisms of GNB3. This study aimed to investigate the association between C825T polymorphism in GNB3 with obesity in the population of Ardabil. In this case-control study, 100 obese subjects (case group) and 100 healthy subjects (control group) were included basis of their body mass index. 5 ml of blood was taken for molecular tests from subjects. DNA of all blood samples was extracted using standard phenol chloroform procedure and its amount was measured using spectrophotometer. Primers for copying GNB3 gene sequence were designed using GNB3 sequence and Primer3 software. The obtained PCR-RFLP products electrophoresed on 2% agarose gel and by the 100volt current for 30 min along with a normal or control DNA sample and then were visualized by Ethidium bromide. The TT genotype frequency in obese individuals was significantly greater than its frequency in healthy individuals (38% versus 13%, P=0.0001). Also, the T allele frequency in obese individuals was significantly greater than its frequency in healthy individuals (60% versus 39%, P=0.0029). The results of this study showed that C825T polymorphism of GNB3 gene is associated with obesity in Ardebil population and can represent one of the possible genetic causes of obesity incidence in this area.

Key words: Obesity, Ardabil, Polymorphism C825T, Gene GNB3, PCR-RFLP.