مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs738409 ژن *PNPLA3* با کبد چرب غیر الکلی در جمعیت جنوب ایران

ندا چوبینی[۱]، نگار آذرپیرا[۲*]، محمدرضا مشایخی[۱]

۱-گروه زیست شناسی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران
۲- مرکز تحقیقات پیوند و ترمیم اعضاء ، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز ،ایران

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۹/۰۹ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۱/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: بیماری کبد چرب غیر الکلی (NAFLD) طیفی از استئاتوز ساده تا سرطان کبد می باشد. در این بیماری علاوه بر عوامل زیست محیطی ، عوامل ژنتیکی نیز نقش مهمی دارند. پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (C>G) rs738409 ژنPNPLA3 با افزایش محتوای چربی کبدی و آسیب های کبدی در اختلالات متابولیک همراه است. این مطالعه، ارتباط بین این پلی مورفیسم با بیماری کبد چرب غیر الکلی و پارامترهای دموگرافیکی و بالینی در بیماران جمعیت جنوب ایران بررسی میکند.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد شاهدی، ۹۵ بیمار و ۱۸۳ فرد کنترل بررسی شده اند. نمونه های خون بیماران از کوهورت کوار و نمونه های خون افراد نرمال از سازمان انتقال خون شیراز جمع آوری شد. ژنوتیپ های این پلی مورفیسم با روش PCR-RFLP تعیین گردید.

نتایج: نتایج ما نشان داد که اختلاف معناداری در ژنوتیپ و سن گروه بیمار و کنترل وجود دارد(۰/۰۰۵> (سن), ۰/۰۱ =(p-value (CG).همچنین ارتباطی بین اطلاعات دموگرافیک و بالینی بیماران و ژنوتیپ های مختلف این پلی مورفیسم یافت نشد.

نتیجه گیری: در مطالعه حاضر، آلل G به عنوان آلل خطر محسوب نشد و افراد حامل ژنوتیپ CG، ۲/۶۳ برابر احتمال ابتلای بیشتری به NAFLD داشتند(CI/95,OR=۲/۶۳، ۱/۱۶ تا ۵/۹۸، p-value=۰/۰۱). سن یک فاکتور خطر در احتمال ابتلا به بیماری مطرح بود که با تعدیل متغیر سن و سه ژنوتیپ پلی مورفیسم rs738409 نشان داده شد که با در نظر گرفتن فاکتور سن،ژنوتیپ بیماران در ایجاد NAFLD نقشی ندارد. همچنین ارتباطی بین ژنوتیپ های بیماران و پارامترهای دموگرافیکی و بالینی مشاهده نشد.

کلمات کلیدی: بیماری کبد چرب غیر الکلی، *PNPLA3*، پلی مورفیسم

مقدمه

کبد یکی از مهمترین اعضای بدن می باشد که از جمله عملکردهای این عضو، تنظیم سوخت و ساز قند و چربی است (۱). کبد طبیعی حاوی حدود پنج گرم چربی در ۱۰۰ گرم وزن خود می باشد، هرگاه مقدار چربی بیش از پنج درصد وزن آن افزایش یابد به این حالت کبد چرب گفته می شود (۲).بیماری کبد چرب غیر الکلی (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD) یک علت شایع بیماری مزمن کبدی است که برای اولین بار در سال ۱۹۸۰ توسط لودویگ و همکاران در بیمارانی که مصرف الکل نداشتند شناسایی شد (۳،۴).بیماری کبد چرب غیر الکلی طیفی از استئاتوز ساده که حالت خوش خیم بیماری است تا استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH)است که همراه با فیبروز و التهاب لوبولار و دژنراسیون بالونی بوده که می تواند به سمت سیروز کبدی و نارسایی کبدی پیشرفت کند (۴،۵) و در نهایت ممکن است به سرطان کبد منجر شود که درمان آن پیوند کبد می باشد(۶).علت این بیماری تجمع بیش از حد اسیدهای چرب و تری گلیسیریدها در بافت کبدی است (۷،۸).

بیماران مبتلا به NAFLD معمولا بدون علامت هستند. این بیماری تنها بعد از یافتن جواب های غیر طبیعی آزمون های آزمایشگاهی و یا براساس سونوگرافی شکم در طول معاینات بهداشتی معمول و یا معاینه برای سایر بیماری ها، در میان افراد غیر الکلی شناسایی می شود (۳). شیوع NAFLD در جمعیت عمومی ۳۰-۲۰٪ و در افراد چاق ۷۵-۶۷٪ تخمین زده شده است (۹).در ایران مطالعاتی براساس شیوع NAFLD و NASH انجام شده است.سهراب پور و همکاران در جمعیت عمومی بزرگسالان

*نویسنده مسئول: **نگار آذرپیرا**، مرکز تحقیقات پیوند و ترمیم اعضاء ، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز ،ایران
Email: negarazarpira@ yahoo.com

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

ایرانی، شیوع NASH را ۲/۹٪ تخمین زدند (۱۰) و در مطالعه ای دیگر علویان و همکاران شیوع NAFLD را در جمعیت کودکان ایرانی، ۷/۱٪ گزارش کردند (۱۱). در حالیکه مطالعه ای که دکتر باقری لنکرانی و همکاران در سال ۲۰۱۳، روی جمعیت جنوب ایران انجام داده اند، شیوع این بیماری را در بزرگسالان ایرانی ۲۱/۵٪ گزارش داده اند که این میزان بالاتر از مطالعه قبلی ایران است (۱۲).

کبد چرب غیر الکلی با سندرم مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک از جمله دیابت ملیتوس نوع ۲، فشار خون بالا و اختلال در چربی همراه است (۳و۴و۱۵).همچنین محققین دریافتند که هایپو تیروئیدیسم با ابتلا به سرطان کبد در زنان در ارتباطاست (۱۳). در مطالعه ای که در جنوب کشور انجام شده است، نقش سن، شاخص توده بدن (BMI)، قند خون ناشتا (FBS) بالا، کلسترول بالا، تری گلیسرید (TG) بالا و دور کمر نیز در ابتلا به این بیماری نشان داده شده است(۱۲).همچنین در مطالعاتی نشان داده شده که آنزیم های کبدی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) و آلانین آمینوترانسفراز (ALT) که با تخریب سلول های کبدی در سرم بیماران وارد می شوند.ممکن است در بیش از ۷۸٪ بیماران مبتلا به NAFLD طبیعی باشد (۱۴،۱۵).

مطالعات متعددی نشان داده اند که علاوه بر عوامل خطر زیست محیطی، عوامل ژنتیکی نیز در ابتلا و پیشرفت بیماری کبد چرب غیر الکلی دخیل است. مطالعات genome-wide association (GWA)، چند پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNPs) را شناسایی کرده اند که با افزایش محتوای چربیبا با افزایش آنزیم های کبدی در ارتباط است (۱۶،۱۷).

ژنPNPLA3(-Patatin-Like Phospholipase Domain Containing Protein-3) توسط Baulande در بافت چربی شناسایی شد (۱۸). این ژن بر روی بازوی بلند کروموزوم ۲۲ روی باند ۱۳٫۳۱ (Chr22q13.31) قرار دارد.در سال ۲۰۰۸، Romeo و همکاران گزارش دادند که rs738409، پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن PNPLA3 می باشد که باعث یک تنوع توالیI148Mغیر مترادفشده و یک ارتباط قوی با افزایش محتوای چربی دارد (۱۹).پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (C>G) rs738409 ژنPNPLA3 پروتئین ۴۸۱ آمینو اسیدی را کد می کند، که از سیب زمینی تا انسان حفظ شده و با بیان ۱۰ برابر بالاتر در کبد به نسبت بافت چربی همراه است(۲۰).این پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی (rs738409) در اگزون سوم ژن PNPLA3 با جایگزینی G به جای C و تبدیل ایزولوسین به متیونین در اسید آمینه ۱۴۸ (I148M) در ژن PNPLA3 مشخص شده است (۶).مدل سازی ساده نشان می دهد که این جایگزینی منجر به ممانعت فضایی دمین کاتالیتیکی پروتئین شده که منجر به از دست دادن عملکرد این ژن می شود (۲۱).

در انسان، PNPLA3 عمدتا در کبد بیان می شود و متعلق به خانواده فسفولیپازهای مشابه با پاتتین پروتئین هاست که حاوی آنزیم چربی تری گلیسیرید لیپاز می باشد و پروتئین کلیدی دخیل در هیدرولیز تری گلیسیریدها به دی گلیسیرید است (۲۲) و فعالیت آن توسط مسیرهای هورمونی تنظیم رسوب چربی در کبد تنظیم می شود. PNPLA3 همچنین در غدد آدرنال و بافت چربی بیان می شود و باPNPLA2 که هیدرولاز تری گلیسرید اصلی در بافت های چربی محیطی است، مرتبط است (۲۳). مشاهدات نشان می دهد که PNPLA3 یک مولکول کلیدی را کدگذاری می کند که واسطه فرآیندهای پاتولوژیک آسیب کبدی در اختلالات متابولیک است(۲۴).تنوع در ژن PNPLA3 به تفاوت های قومی و بین فردی در محتوای چربی کبد و استعداد ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی کمک می کند(۱۹).

در ایران تاکنون مطالعه ای بر روی ژن PNPLA3 و تاثیر آن روی بیماری کبد چرب صورت نگرفته است.از این رو این مطالعه با هدف بررسی تاثیر پلی مورفیسم rs738409 در ژن PNPLA3 بر روی بیماری کبد چرب غیر الکلی و همچنین اثر این پلی مورفیسم بر روی ویژگی های بالینی و بیوشیمیایی این بیماران انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی، حجم نمونه با استفاده از نرم افزار Medcalc در سطح اطمینان ۹۵٪ و توان ۸۰٪ محاسبه گردید که تعداد ۱۷۸ نفر در هر دو گروه به دست آمد.تعداد ۹۵ نمونه خون از بیماران کوهورت دانشگاه علوم پزشکی شیراز واقع در شهرستان کوار که براساس یافته های سونوگرافی، کبد چرب برای آنها تشخیص داده شده بود انتخاب شدند. کلیه اطلاعات بالینی و آزمایشگاهی آنها از پرونده بیماران که در مرکز تحقیقات گوارش دانشگاه علوم پزشکی شیراز نگهداری می شود استخراج شد.تعداد ۱۸۳ نمونه خون از افراد سالم مراجعه کننده به سازمان انتقال خون که مبتلا به بیماری خاصی نبودند انتخاب شد و

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

اطلاعات دموگرافیک آنها مورد ارزیابی قرار گرفت.نمونه گیری ها براساس رعایت موازین اخلاقی و با کسب رضایت کامل از افراد انجام شده است.جهت استخراج DNA ژنومی از خون جمع‌آوری شده ازدو روش نمکی (salting out) و همچنین کیت DNP™ استفاده شده است.به وسیله دستگاه بیوفتومتر،کیفیت DNA استخراج شده سنجیده شد. تکثیر قطعه ۲۵۶ جفت بازی که پلی مورفیسم rs738409 ژن *PNPLA3* را دربردارد توسط واکنش زنجیره ای پلیمراز (Polymerase Chain Reaction,PCR) مورد ارزیابی قرار گرفت.میزان ویژگی و کیفیت پرایمر انتخاب شده از طریق سایت www.ncbi.nlm.nich.gov.com و برنامه ی Blast مورد بررسی قرار گرفت.توالی پرایمرهای انتخابی شامل Forward: 5´-AGACCCTGAGGTGCCCGACA-3´ و-5´ Reverse: GCCCTGCTCACTTGGAGAAAGC-3´ می باشد (۲۵). پروتکل PCR استفاده شده در این مطالعه در جدول ۱ آورده شده است.

این مقادیر برای حجم نهایی ۲۵ µl می باشد.بافر(X۱۰)PCR، Mgcl2(۵۰ میلی مولار)، Taq DNA Polymerase و مخلوط dNTPs از شرکت سیناژن ساخت ایران می باشد.برنامه PCRبا استفاده از یک ترموسیکلر مدل اپندورف آلمانبه صورت ۳۵ سیکل در نظر گرفته شد که شامل دمای واسرشت اولیه دو رشته DNA در ۹۵°c به مدت ۱ دقیقه ، دمای واسرشت دو رشته DNA در ۹۴°c به مدت ۱ دقیقه طی ۳۵ سیکل، دمای اتصال پرایمرها دمای ۶۵/۴°c به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن به مدت ۱ دقیقه در ۷۲°c و مرحله نهایی طویل شدن در دمای۷۲ °c به مدت ۷ دقیقه بود.

سپس جهت تعیین ژنوتیپ از روش RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) استفاده گردید.با توجه به پلی مورفیسم موجود در قطعه مورد نظر، آنزیم محدود کننده FOKI از سایت NEBCutterانتخاب شدکه طی این روش با اضافه کردن این آنزیم به محصولات PCR، هضم آنزیمی صورت گرفت.پروتکل برای انجام RFLP در این جایگاه در این مطالعه در جدول ۲ آورده شده است.

بعد از آن محلول در دمای 37°C به مدت ۱۶-۱ ساعت انکوبه شد و سپس به مدت ۲۰ دقیقه در 65°C قرارگرفت تا آنزیم غیر فعال گردد. قطعات حاصل از شکست این آنزیم بر روی ژل آگارز ۳٪ الکتروفورز و با رنگ Safe stain از شرکت طیف آرا

جدول ۱. دستورالعمل PCR در این مطالعه

PCR reagent	Volume/tube(µl)	Final consentration
۱۰X PCR buffer	۲/۵	۱X
MgCl2 ۵۰mM	۰/۷۵	۱/۵mM
dNTPs ۱۰nM	۰/۷۵	۰/۳mM
۱۰µM Primer F	۰/۵	۰/۲ µM
۱۰µM Primer R	۰/۵	۰/۲ µM
۵ unit/µl Taq	۰/۵	۰/۰۵ unit
D.W	۹/۵	

جدول ۲. پروتکل شکست محصولات توسط آنزیم FOK I در این مطالعه

FOK I restriction enzyme	۰/۷۵µl
D.W	۲/۷۵µl
۱۰X NEBuffer	۲/۵µl
Product PCR	۱۰µl

فرآیند ساخت ایران مشاهده شد.به منظور تایید نتایج PCR-RFLP پلی مورفیسم (rs738409)، ۲ نمونه از محصولات PCR به همراه پرایمر Reverse وForward برای توالی یابی، فرستاده شد.

اطلاعات دموگرافیک بیماران و نتایج به دست آمده از PCR-RFLP به کمک برنامه نرم افزاریSPSS V.18 از شرکت IBM تحلیل گردید و روی داده ها آنالیز توصیفی انجام شد. همچنین با استفاده از آزمون T مستقل و رگرسیون لوجستیک و همچنین آزمون های آماری ANOVA و Mann-whittny و Kruskal-wallis آنالیز تحلیلی داده ها انجام گرفت. P-value<0.05 معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

از نظر جنسیت از ۹۵ بیمار (۳۸/۹٪) ۳۷ بیمار مرد و (۶۱/۱٪) ۵۸ بیمار زن و از ۱۸۳ نفر گروه کنترل (۴۴/۳٪) ۸۱ نفر مرد و (۵۵/۷٪) ۱۰۲ نفر زن بودند. که بین دو گروه بیمار و کنترل تفاوت معنی داری یافت نشد (P-value=۰/۴۴).از نظر سنی دو

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

گروه بیمار و کنترل ارزیابی شدند که اختلاف معناداری بین این دو گروه مشاهده شد (P-value <۰/۰۰۵).جدول ۳ این مقایسه را نشان می دهد.

و ۱۰۰ جفت بازی مشاهده شد.همچنین ژنوتیپ GG که ژنوتیپ جهش یافته می باشد به دو قطعه ۱۵۶ و ۱۰۰ جفت بازی شکسته شد. شکل شماره ۱ محصولات حاصل از هضم آنزیمی

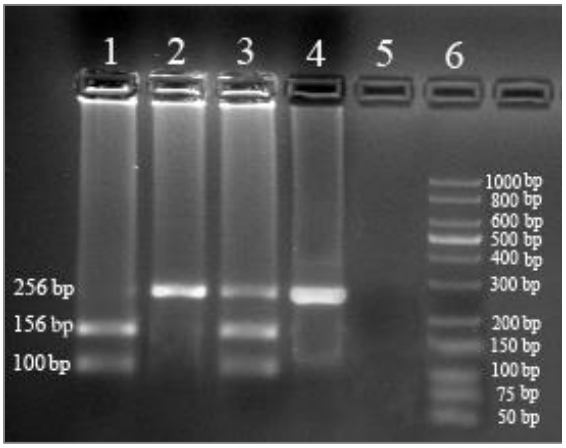
جدول۳. توزیع سنی و جنسیت در دو گروه بیمار و کنترل

متغیر	کنترل (تعداد: ۱۸۳)	بیمار (تعداد:۹۵)	p-value
سن (میانگین±استاندارد)	۴۰±۱۳/۹	۴۷/۹±۱۲/۳	<۰/۰۰۵
جنس			
مرد	۸۱(٪۴۴/۳)	۳۷(٪۳۸/۹)	۰/۴۴
زن	۱۰۲(٪۵۵/۷)	۵۸(٪۶۱/۱)	

جدول ۴. مقایسه فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم rs738409 در گروه بیمار و کنترل

ژنوتیپ	بیمار (تعداد=: ۹۵)	کنترل (تعداد : ۱۸۳)	p-value	OR(CI 95%)
CC	۱۳(٪۱۳/۷)	۱۵(٪۸/۲)	۰/۱	۱/۷۸(۰/۷۵-۴/۱۷)
CG	۱۷(٪۱۷/۹)	۱۴(٪۷/۶۵)	۰/۰۱	۲/۶۳(۱/۱۶-۵/۹۸)
GG	۶۵(٪۶۸/۴)	۱۵۴(٪۸۴/۱۵)	۰/۰۰۲	۰/۴۱(۰/۲۲-۰/۷۶)
غالبیت				
CC	۱۳(٪۱۳/۷)	۱۵(٪۸/۲)	۰/۱	۱/۷۸(۰/۷۵-۴/۱۷)
CG+GG	۸۲(٪۸۶/۳)	۱۶۸(٪۹۱/۸)		
آلل				
C	۴۳	۴۴	۰/۰۰۱	۲/۱۴(۱/۳۱-۳/۴۹)
G	۱۴۷	۳۲۲		

قطعات حاصل از شکست آنزیم به این صورت ژنوتیپ CC یک قطعه ۲۵۶ جفت بازی، ژنوتیپ CG سه قطعه ۲۵۶ و ۱۵۶



شکل ۱. نتایج RFLP بر روی ژل الکتروفورز.ستون ۱: GG ، ۲: CC ، CG۳:، ۴: محصول PCR، ۵: کنترل منفی، ۶: مارکر

FOK I را بر وی ژل الکتروفورز نشان می دهد.

فراوانی ژنوتیپی و آللی در بین گروه کنترل و بیمار محاسبه گردید که طی آن ژنوتیپCG بین گروه کنترل و بیمار تفاوت معنا داری داشت (*P*-value= 0.01, CI 95% [1.16- 5.98, OR=2.63) که نشان میدهد ژنوتیپ CG به عنوان ژنوتیپ مستعد کننده بیماری بوده و افراد دارای ژنوتیپ CG، ۲/۶۳ برابر احتمال ابتلای بیشتری به بیماری دارند.همچنین بین گروه کنترل و بیمار ، ژنوتیپ GG نیز اختلاف معنا داری داشت (P-value =۰/۰۰۲) که بیان می کند ژنوتیپ GG به عنوان ژنوتیپ محافظت کننده در برابر بیماری در مطالعه ما بوده است. جدول ۴ مقایسه فراوانی ژنوتیپی و آللی را در دو گروه بیمار و کنترل نشان می دهد

با استفاده از آزمون Logistic Regression با تعدیل متغیر سن که به عنوان یک عامل خطر بیماری است و سه ژنوتیپ rs738409 اختلاف معناداری یافت نشد. این نتیجه نشان می

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

دهد که با در نظر گرفتن فاکتور سن، ژنوتیپ بیماران در ایجاد بیماری کبد چرب غیر الکلی نقش تعیین کننده ای ندارد.
پارامترهای دموگرافیک و بالینی و پروفایل بیوشیمیایی در بیماران با سه ژنوتیپ پلی مورفیسمrs738409 ژن PNPLA3 مورد بررسی قرار گرفت و اختلاف معناداری بین این پارامترها و ژنوتیپ بیماران مشاهده نشد (P-value >۰/۰۵). در جدول ۵ بررسی های انجام شده قابل مشاهده است.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری کبد چرب غیر الکلی یک علت شایع بیماری های مزمن کبدی است و به عنوان یک مشکل مهم بهداشت جهانی پدیدار شده است. در مطالعات مختلف ارتباط سن و جنس به عنوان فاکتور خطر با بیماری کبد چرب غیر الکلی مورد بررسی قرار گرفته است.در مطالعه ما، مطابق با مطالعاتی که توسط Hotta و همکارانش(۲۶)،Tung(۲۷) و اشراقیان (۲۸) که بر روی

جدول ۵. پارامترهای دموگرافیک و بالینی و پروفایل بیوشیمیایی در بیماران با سه ژنوتیپ پلی مورفیسم rs738409

متغیر	ژنوتیپ بیماران			P-value
	CC	CG	GG	
سن (سال)	۴۷/۱۲±۱/۰۱	۴۶/۱۰±۷/۰۳	۴۸/۱۳±۴/۰۷	۰/۸
جنس				۰/۴
مرد	۴(٪۱۰/۸)	۵(٪۱۳/۵)	۲۸(٪۷۵/۵)	
زن	۹(٪۱۵/۵)	۱۲(٪۲۰/۷)	۳۷(٪۶۳/۸)	
شدت بیماری				۰/۱
درجه یک	۴(٪۳۰/۸)	۳۰(٪۱۷/۶)	۲۷(٪۴۱/۵)	
درجه دو و سه	۹(٪۶۹/۲)	۱۴(٪۸۲/۴)	۳۸(٪۵۸/۵)	
دور کمر (سانتی متر)	۹۰/۲۳±۷/۷ .	۹۴/۸۸±۱۱/۸	۹۱/۴۸±۱۱/۶	۰/۴
مرد	۸۶/۶±۱۱/۹	۹۵/۸±۱۲/۹	۸۹/۱±۱۰/۵	۰/۳
زن	۹۲±۶/۴	۹۳/۵±۱۱/۶	۹۳/۲±۱۲/۴	۰/۹
دور کمر/دور باسن	۰/۸۹±۰/۰۸	۰/۹±۰/۰۸	۰/۸۸±۰/۰۸	۰/۵
شاخص توده بدن(kg/m^2)	۲۶/۹±۲/۸	۲۸/۰۱±۴/۱	۲۸/۳±۴/۷	۰/۵
فشار خون (mmHg)				
سیستولی	۱۱۳/۸۵±۲۱/۸	۱۲۳/۸۲±۲۷/۹	۱۲۱/۰۸±۲۴/۳	۰/۵
دیاستولی	۸۵/۳۸±۱۱/۲	۹۲/۰۶±۱۶/۱۱	۸۷/۵±۱۸/۴	۰/۵
ALT(IU)	۲۱±۰/۱۱	۱۷/۷±۷/۴	۱۸/۶±۱۰/۹	۰/۷
AST(IU)	۲۸/۷±۶/۴	۲۲/۷±۷/۴	۲۸/۷±۳۵/۱	۰/۷
کلسترول (mg/dL)	۱۸۷/۹±۴۴/۱	۲۰۲/۸±۴۶/۸	۱۹۷/۵±۴۹/۳	۰/۷
TSH(μIU/mL)	۵/۱±۳/۷	۲/۲±۱/۱	۳/۸±۶/۷	۰/۶
تری گلیسیرید (mg/dL)	۱۴۶/۰۸±۷۶/۶	۱۴۶/۹±۹۱/۵	۱۶۸/۰۷±۷۹/۱	۰/۵
قند خون ناشتا(mg/dL)	۱۲۵/۹۴±۵/۲	۹۸/۲۳±۱/۹	۹۶/۲۶±۱/۸	۰/۴

ALT، آلانین ترانس آمیناز؛AST، آسپارتیک ترانس آمینازTSH؛، هورمون محرک تیروئید

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

جمعیت تهرانی انجام شده بود، سن به عنوان فاکتور خطر در استعداد ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی گزارش شد.همچنین مشابه نتایج به دست آمده از مطالعه Ying و همکاران (۲۹) در جمعیت ما ارتباطی بین جنسیت و بیماری در دو گروه کنترل و بیمار مشاهده نشدولی با تعدیل سن در سه ژنوتیپ پلی مورفیسم rs738409 در گروه کنترل و بیمار نشان داد که اختلاف معناداری وجود ندارد به این معنی که با در نظر گرفتن فاکتور سن، ژنوتیپ بیماران در ایجاد بیماری کبد چرب غیر الکلی نقش تعیین کننده ای ندارد.

پیشرفت در تجزیه و تحلیل ژنوم، به درک و فهم عوامل ژنتیکی NAFLD کمک بسیاری کرده است. پیشرفت NAFLD شامل عوامل ژنتیکی متعدد در تعامل با شیوه زندگی و محیط می باشد. در مطالعات نشان داده شده است که عوامل ژنتیکی نقش بسیار مهمی را در بیماری زایی NAFLD بازی می کنند (۵). ژن PNPLA3 در سال ۲۰۰۱ توسط Baulande شناسایی شد(۱۸). این ژن شامل واریانت های متعددی است.Romeo در سال ۲۰۰۸ واریانت rs738409 را از ژن PNPLA3 معرفی کرد و نشان دادکه اثر پلی مورفیسمrs738409 در میان افراد اسپانیایی تبار،که در آنها آلل خطر در مقایسه با آمریکایی های اروپایی و آمریکایی آفریقایی تباربیشتربود، بارزتر است.ازاینرو، این مشاهدات تحقیقات جدیدی را در رابطه با میزان تاثیر این واریانت درجمعیتهای مختلف بازکرد. پلی مورفیسم rs738409 C>G به عنوان واریانت شایعی از این ژن است که در مطالعه Dallas Heart در قومیت های مختلف همراه با محتوای چربی کبد گزارش شده است(۱۹).از سوی دیگر با مطالعه ای بر روی جمعیت سفید پوستان آرژانتینی، Sookoian و همکاران نشان دادندکه آلل G rs738409 نه تنها باتجمع چربی درکبد بلکه با آسیب کبدی نیزهمراه است (۳۰). Rotman و همکاران نیز ارتباط بین آللrs738409G با استئاتوزرا در جمعیت سفید پوستان آمریکایی تایید کردند (۱۶). همینطورTai CMگزارش داده است که ژنوتیپ PNPLA3 rs738409 GG استعداد ابتلا به NASH را در افراد آسیایی چاق مبتلا به NAFLD افزایش میدهد (۳۱).برخلاف مطالعات گذشته ، در مطالعه حاضر به دلیل تنوع قومیتی، داشتن آلل G به عنوان فاکتور خطر محسوب نشده است.

در مطالعه ای که در سال ۲۰۱۲ توسط ShamsulMohdZain انجام شد بیماران با ژنوتیپ GG کاهش قابل توجهی در سطح تری گلیسرید پلاسما در مقایسه با افراد با ژنوتیپ CC نشان داده اند(p =۰/۰۲۹)(۵). در مطالعه دیگری که Hotta و همکارانش انجام دادند ارتباط بین سن ، قند خون ناشتا ، تری گلیسرید، ALT، AST و سطح فیبروز را با ژنوتیپ های بیماران گزارش دادند و هیچ همراهی بین BMI و کلسترول و درجه استئاتوز با ژنوتیپ های بیماران نیافتند(۲۶). علاوه بر آن در مطالعات Valenti و همکارانش (۳۲) و Shen و همکارانش (۳۳) حاکی از آن است که هیچ ارتباطی بین سن ، جنس ، تری گلیسرید و BMI، دیابت، افزایش فشار خون، قند خون ناشتا، کلسترول با ژنوتیپ های مختلف وجود ندارد ولی میزان آنزیم ALT در ژنوتیپ ها ی مختلف این پلی مورفیسم اختلاف معنا داری با هم دارند.همچنین در مطالعه ای که بر روی بیماران آلمانی توسط Kantartzis و همکارانش صورت گرفت ارتباط معناداری بین پارامترهای دموگرافیکی و بالینی از جمله آنزیم ALT و AST بین سه ژنوتیپ یافت نشد(۳۴). در مطالعه ما نیز مطابق با مطالعات گذشته، هیچ ارتباطی بین سن، جنس، درجه بیماری، دور کمر، نسبت دور کمر به دور باسن، شاخص توده بدن، فشار خون سیستولی و دیاستولی، آنزیم های کبدی ALT و AST و همچنین قند خون ناشتا ، کلسترول، تری گلیسیرید و هورمون تیروئیدی TSH مشاهده نشد.

به طور خلاصه مطالعه حاضر با بررسی پلی مورفیسم rs738409 در ژن PNPLA3 نشان داد اگرچه ژنوتیپ CG به عنوان ژنوتیپ مستعد کننده بیماری کبد چرب غیر الکلی به نظر می رسد ولی این پلی مورفیسم با تعدیل سن در جمعیت جنوب کشور تاثیری بر روی بیماری کبد چرب غیر الکلی نداشت. همچنین با مطالعه پارامتر های بالینی و بیوشیمیایی، فاکتور خطری بین ژنوتیپ های مختلف این پلی مورفیسم در بین بیماران مشاهده نشد. سن افراد به عنوان یک فاکتور خطر در ابتلا به بیماری کبد چرب غیر الکلی نشان داده شد.

در پایان با توجه به نتایج بدست آمده،پیشنهاد می گردد این پلی مورفیسم در قومیت های دیگر ایران نیز بررسی شود و گروه کنترل و بیمار از نظر سن و جنس یکسان سازی شودو بهتر است در مطالعات آینده نمونه های کنترل و بیمار از یک جمعیت انتخاب شود. همچنین ژنهای دیگر و واریانت های دیگر ژن PNPLA3 در جمعیت مشابه مورد بررسی قرار گیرد.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

تشکر و قدردانی

با تقدیر و تشکر شایسته از مرکز تحقیقات گوارش دانشگاه علوم پزشکی شیراز واقع در بیمارستان نمازی شیراز که با همکاری در انجام این طرح ما را حمایت کردند.همچنین از سرکار خانم معصومه دارایی و سرکار خانم زهرا موسوی به دلیل یاری ها و راهنمایی های ارزشمندشان کمال تشکر و قدردانی را داریم.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را اعلام نکرده اند.

References

1. Nasiri Toosi M, Shams Ardekani MR, Minaei MB, Nazim I, Esfahani MM, Khadem E. Fatty Liver Disease from the Perspective of Traditional Iranian Medicine. Quran Med. 2012; 1(4):117-8.
2. Savadkooh F, Hosseini Tabatabai MT, Shahabinejad S. The prevalence of fatty liver on ultrasound patients without a history of liver disease and its association with cholesterol and triglyceride. TabibShargh. 2003; 5(3): 177-183. [Article in Persian]
3. Orangi E, Ostadrahimi AR, Mahdavi R, Svmy MH, Tarzmani MK. Indicators related to oxidative stress and antioxidant status in patients with nonalcoholic fatty liver. J EndocrinolMetab. 2010;12(5): 499-493. [Article in Persian]
4. Valenti L , Alisi A, Galmozzi E, Bartuli A, Del Menico B, AlterioA, et al. I148M Patatin-Like Phospholipase Domain-Containing 3 Gene Variant and Severity of Pediatric Nonalcoholic Fatty Liver Disease.HEPATOLOGY. 2010; 52(4): 1274-1279
5. Zain SM, Mohamed R, Mahadeva S, Cheah PL, Rampal S, Basu RC, et al. A multi-ethnic study of a *PNPLA3* gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease. Hum Genet. 2012; 131(7):1145–1152.
6. Romeo S, Huang-Doran I, Baroni MG, Kotronen A. Unravelling the pathogenesis of fatty liver disease: patatin-like phospholipase domain-containing 3 protein. Curr Opin Lipidol. 2010; 21(3):247–252.
7. Pan MH, Lai CS, Tsai ML, Ho CT. Chemoprevention of nonalcoholic fatty liver disease by dietary natural compounds. Mol Nutr Food Res. 2014;58(1):147–71.
8. Smith BW, Leon A, Adams LA. Non-alcoholic fatty liver disease. Clin Lab Sci. 2011; 48(3): 97–113.
9. Kotronen A, Peltonen M, Hakkarainen A, Sevastianova K, Bergholm R, Johansson LM, et al. Prediction of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Liver Fat Using Metabolic and Genetic Factors. Gastroenerology. 2009;137(3):865–872.
10. Sohrabpour A, Rezvan H, Amini-Kafiabad S, Dayhim MR, MeratSh, Pourshams A. Prevalence of nonalcoholic steatohepatitis in Iran: a population based study. Middle East J Dig. 2011;2(1):14-19.
11. Alavian SM, Mohammad-Alizadeh AH, Esna-Ashari F, Ardalan G, Hajarizadeh B. Non-alcoholic fatty liver disease prevalence among school-aged children and adolescents in Iran and its association with biochemical and anthropometric measures. Liver Int. 2009;29(2):159-63.
12. Bagheri Lankarani K, Ghaffarpasand F, Mahmoodi M, Lotfi M, Zamiri N, Heydari T, et al. Non Alcoholic Fatty Liver Disease in Southern Iran: A Population Based Study.Hepat Mon. 2013; 13(5): 1-7.
13. Hassan MM, Kaseb A, Li D, Patt YZ, Vauthey JN, Thomas MB, et al. Association between hypothyroidism and hepatocellular carcinoma: a case-control study in the United States. Hepatology. 2009;49(5):1563-70.
14. Torres DM, Harrison SA. Diagnosis and therapy of nonalcoholic steatohepatitis. Gastroenterology. 2008;134(6):1682-1698.
15. Jamali R, Khonsari M, Khoshnia M, Jafari E, BahramKalhori A, Abolghasemi H, et al., Persistent alanine aminotransferase elevation among Iranian general population: prevalence and causes. World J Gastroenterol. 2008;14(18): 2867-2871.
16. Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (*PNPLA3)* with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. HEPATOLOGY. 2010;52(3):894-903.
17. Daly AK, Ballestri S, Carulli L, Loria P, Day Ch P. Genetic determinants of susceptibility and severity in nonalcoholic fatty liver disease. Expert Rev GastroenterolHepatol. 2011;5(2), 253–263.
18. Baulande S, LasnierF, Lucas M, Pairault J. A transmembrane protein corresponding to a novel dietary- and obesity-linked mRNA speci_cally expressed in the adipose lineage. J Biol Chem. 2001;276(36): 33336-33344.
19. Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, et al. Genetic variation in *PNPLA3*

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. Nat Genet. 2008 ;40(12), 1461–1465.
20. Sanyal AJ. AGA technical review on nonalcoholic fatty liver disease. Gastroenterology. 2002;123(5): 1705–25.
21. Chang CY. Understanding the relationship between *PNPLA3*, NAFLD and insulin resistance: do ethnic differences bring more questions or more answers. Liver International. 2011;31(9):1246-9.
22. Hoekstra M, Li Z, Kruijt JK, Van Eck M, Van Berkel TJ, Kuiper J. The expression level of non-alcoholic fatty liver disease-related gene *PNPLA3* in hepatocytes is highly influenced by hepatic lipid status. J Hepatol. 2010;52(2): 244–251.
23. Zimmermann R, Strauss JG, Haemmerle G, Schoiswohl G, Birner-Gruenberger R, Riederer M, et al. Fat mobilization in adipose tissue is promoted by adipose triglyceride lipase. Science. 2004;306(5700):1383-1386.
24. Li Q, Qu HQ, Rentfro AR, Grove ML, Mirza S, Lu Y, et al. *PNPLA3* Polymorphisms and Liver Aminotransferase Levels in a Mexican American Population. Clin Invest Med. 2012;35 (4): 237-E245.
25. Bhatt SP, Nigam P, Misra A, Guleria R, Pandey RM, Pasha MA. Genetic Variation in the Patatin-Like Phospholipase Domain-Containing Protein-3 (PNPLA-3) Gene in Asian Indians with Nonalcoholic Fatty Liver Disease.MetabSyndrRelatDisord. 2013; 11(5):329–335
26. Hotta K, Yoneda M, Hyogo H, Ochi H, Mizusawa S, Ueno T, et al. Association of the rs738409 polymorphism in *PNPLA3* with liver damage and the development of nonalcoholic fatty liver disease. BMC Med Genet. 2010; 11:172.
27. Tung T, Chiu W, Lin T, Shih H, Hsu C. An Exploration of Prevalence and Associated Factors of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in the Taiwanese Police Service. Iran J Public Health. 2011; 40(4): 54-62.
28. Eshraghian A, Dabbaghmanesh MH, Eshraghian H, Fattahi MR, RanjbarOmrani GH. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Cluster of Iranian Population: Thyroid Status and Metabolic Risk Factors. Arch Iran Med. 2013;16(10):584-9.
29. Ying X, Jiang Y, Qian Y, Jiang Zh, SongZh, Zhao Ch. Association between Insulin Resistance, Metabolic Syndrome and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Chinese Adults. Iran J Public Health. 2012;41(1): 45-49.
30. Sookoian S, Castano GO, Burgueno AL, Fernandez GT, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. J Lipid Res. 2009; 50(10):2111-2116.
31. Tai CM, Huang CK, Tu HP, Hwang JC, Chang CY, Yu ML. *PNPLA3* genotype increases susceptibility of nonalcoholic steatohepatitis among obese patients with nonalcoholic fatty liver disease. SurgObesRelat Dis. 2015;11(4):888-94.
32. Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, Galmozzi E, Rametta R, Dongiovanni P, et al. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Hepatology. 2010;51(4):1209-1217.
33. Shen J, Wong G, Chan HY, Chan HY, Yeung DKW, Chan RSM, et al. *PNPLA3* gene polymorphism accounts for fatty liver in community subjects without metabolic syndrome. Aliment PharmacolTher. 2014;39(5);532-539.
34. Kantartzis K, Peter A, Machicao F, Machann J, Wagner S, Konigsrainer I, et al. Dissociation between fatty liver and insulin resistance in humans carrying a variant of the patatin-like phospholipase 3 gene. Diabetes. 2009;58(11):2616-2623.

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]
[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]

Original Article

Association of *PNPLA3* Gene Polymorphism (rs738409) and Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Southern Iranian Population

Choobini N [1], Azarpira N [2*], Mashayekhi MR[1]

1 -Department of Biology, Tabriz Branch, Islamic Azad University, Tabriz, Iran
2 -Transplant Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran

Received: 30 Nov 2015 Accepted: 18 Apr 2016

Abstract

Background & Objective: Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the spectrum of NAFLD ranges from simple steatosis to hepatocellular carcinoma. Genetic factors play an important role in developing the disease. Single nucleotide polymorphism (C> G) rs738409 of PNPLA3 gene increase liver fat content and metabolic disorders associated with liver damage. In this study, the relationship between this gene polymorphism with NAFLD and demographic and clinical characteristics were evaluated in the south Iranian population.

Materials & Method: In this case-control study, 95 patients and 183 control subjects were studied. Blood samples from a cohort of Kavar were collected and normal blood donors from Shiraz blood transfusion center. The polymorphism genotypes were determined by PCR-RFLP.

Results: Our results showed that there is significant association in genotype and sex parameter between patients and control subject (P-value(CG)=0.01, (SEX)< 0.005). Also we identified that there is no association between genotypes with demographic and clinical parameters.

Conclusion: In the present study, G allele wasn't a risk allele and CG genotype Carriers had a 2.63-fold (95% CI, 1.16 to 5.98, p-value = 0.01) increased risk of NAFLD. Age were identified as a risk factor for NAFLD in this study and by adjusting the variable age and three genotypes, it showed that by considering the age factor, the genotype didn't have a role in disease development. Also the no association between genotypes with demographic and clinical parameters was identified

Keywords: Nonalcoholic fatty liver disease, *PNPLA3*, Polymorphism

[*] **Corresponding author: Negar Azarpira,** Transplant Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran
Email: negarazarpira@yahoo.com

[Downloaded from jabs.fums.ac.ir on 2026-11-24]

[DOR: 20.1001.1.22285105.2016.6.1.5.7]