DOI: 10.22122/jims.v37i558.12624 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هفتم/شماره‌ی ۵۵۸/هفته‌ی دوم اسفند ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵ تاریخ چاپ: ۱۳۹۸/۱۲/۸

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

بررسی تنوع آللی پلی‌مورفیسم VNTR در ژن مونوآمین اکسیداز A زنان و مردان جوان مشهدی

صدیقه‌سادات حجتی[۱]، عباسعلی گائینی[۲]، هادی روحانی[۳]، محمد شریعت‌زاده[۳]

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: فعالیت آنزیم مونوآمین اکسیداز A (MAOA) در اختلالات خلق و خو و فعالیت پایین همراه با رفتارهای پرخاشگرانه تغییر می‌یابد. ژن مونوآمین اکسیداز A که نقش مهمی در تخریب نوروترانسمیترهایی مانند سروتونین (نه اپی‌نفرین) و دوپامین بازی می‌کند، حاوی پلی‌مورفیسم‌هایی در ناحیه‌ی پروموتر خود است که بر کارایی رونویسی تأثیر می‌گذارد. همچنین، ژنوتیپ MA0A-VNTR با اعمال روان‌شناختی و سطح فعالیت بدنی مرتبط است. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر، تعیین تنوع ژنتیک و فراوانی آللی MAOA-VNTR در جمعیت جوان مشهدی و مقایسه‌ی آن با داده‌های مشابه از جمعیت‌های سایر کشورها بود

روش‌ها: از ۱۲۴ داوطلب (شامل ۵۶ مرد و ۶۸ زن با میانگین سن ۵/۷ ± ۲۴/۳ سال) مشهدی نمونه‌ی بزاق تهیه شد. DNA از نمونه‌ی سلول‌های گونه استخراج شد و ژنوتیپ MAOA با استفاده از Polymerase chain reaction (PCR) با پرایمرهای اختصاصی ژن شناسایی شدند. پلی‌مورفیسم‌ها توسط PCR با استفاده از پرایمرهای Forward: 5′ACAGCCTGACCGTGGAGAAG-3′ و Revers: 5′GAACGTGACGCTCCATTCGGA-3′ شناسایی شدند و منجر به محصولات ۳۲۱ جفت‌باز (آلل ۳ تکرار)، ۳۳۶ (آلل ۳/۵ تکرار)، ۳۵۱ (آلل ۴ تکرار) و ۳۸۱ (آلل ۵ تکرار) شد.

یافته‌ها: از نتایج ترتیب توالی ناحیه‌ی پروموتر ۳/۵R، ۴/۵R و ۵/۵ R تکرار با موفقیت به جای تکرارهای ۳R، ۴R و ۵R که توسط محققان قبلی معرفی شده بود، شناسایی شد. نتیجه‌ی ژنوتایپ MAOA-VNTR نشان داد که به ترتیب سه ژنوتیپ ۴/۵*۴/۵، ۳/۵*۳/۵ و ۴/۵*۳/۵، با حدود ۴۶/۷۷، ۲۶/۶۱ و ۲۰/۹۶ درصد و دو آلل ۳/۵ و ۴/۵ با ۳۷/۵۰ و ۵۸/۰۶ درصد شایع‌ترین آلل‌ها بودند. نتایج مطالعه‌ی حاضر در مقایسه با داده‌های دوازده جمعیت، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی آلل با سایر جمعیت‌های عراقی، آفریقایی، نیوزلندی (با منشأ اروپایی)، آلمانی، ایتالیایی، چینی و آمریکایی داشت ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: فراوانی آلل MAO-A بین گروه‌های نژادی متفاوت است و فراوانی آلل ۴/۵R در جمعیت مردان و زنان مطالعه‌ی حاضر بیشتر بود؛ در نتیجه، همان‌گونه که در مطالعات گذشته نیز تأیید شده است، افراد دارای آلل ۴/۵R به دلیل فعالیت بالای رونویسی ژن MAOA از سطح فعالیت بدنی، افسردگی و انگیختگی پایین‌تری برخوردار بودند.

واژگان کلیدی: مونوآمین اکسیداز A، ژنوتیپ، ناحیه‌ی VNTR

ارجاع: حجتی صدیقه‌سادات، گائینی عباسعلی، روحانی هادی، شریعت‌زاده محمد. **بررسی تنوع آللی پلی‌مورفیسم VNTR در ژن مونوآمین اکسیداز A زنان و مردان جوان مشهدی.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۸؛ ۳۷ (۵۵۸): ۱۴۲۱-۱۴۱۵

مقدمه

تجزیه و تحلیل ژنتیک در رفتار جمعیت‌ها و زمینه های پزشکی، دارای مزایای مختلفی است و تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیک جمعیت ها، یک مسأله‌ی اساسی در بیشتر مطالعات ژنتیک تکاملی و حفاظتی است (۱) و در ارایه‌ی اطلاعات مربوط به تغییر، تمایز و ساختار جمعیت مفید می‌باشد (۲). تغییرات ژنتیک در جمعیت‌ها، به طور معمول به عنوان تنوع ژن (هتروزیگوسیتی مورد انتظار) از داده‌های فراوانی ژن محاسبه می‌شود. به عنوان مثال، اندازه‌گیری‌های مبتنی بر تعداد انواع مختلف آلل در تفکیک جمعیت، به طور گسترده به ویژه در مطالعات ژنتیک حفاظتی استفاده می‌شوند (۱). نتایج مطالعات ژنتیک در ارایه‌ی اطلاعات در مورد ساختار و تغییرات ژنتیک سودمند هستند (۲).

پلی‌مورفیسم MAO-A VNTR کاندیدای مناسبی برای مطالعات

۱- دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزش، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

۲- استاد، گروه فیزیولوژی ورزش، دانشکده‌ی تربیت بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- استادیار، گروه فیزیولوژی ورزش، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤول: صدیقه‌سادات حجتی؛ دانشجوی دکتری تخصصی، گروه فیزیولوژی ورزش، پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی، تهران، ایران

Email: s.sadat.hojjati@gmail.com

رفتاری است؛ چرا که نقش آن در ژن همراهی انتقال عصبی است که با طیفی از اختلالات و رفتارها نظیر پرخاشگری، تکانشی، وابستگی به الکل، خشونت و اختلال دوقطبی در ارتباط است (۷-۳). تاریخچه‌ی مونوآمین اکسیداز (MAO) در سال ۱۹۲۸ شروع گردید، هنگامی که Hare، نتایجی از مطالعه‌ی خود روی یک آنزیم جدید منتشر کرد که این آنزیم، دآمیناسیون اکسیداتیو تیرامین را کاتالیز می‌کرد (۸)؛ آنزیم توسط Hare، تیرامین اکسیداز نامیده شد. بعدها، دیده شد که نه تنها ترامین را متابولیزه می‌کند، بلکه سایر آمین ها نظیر نوراپی‌نفرین و اپی‌نفرین را نیز متابولیزه می‌کند. Zeller در سال ۱۹۳۸ اولین نفری بود که نام مونوآمین اکسیداز را انتخاب کرد (۹). مونوآمین اکسیداز، آنزیمی است که هدف آن تجزیه‌ی انتقال دهنده‌های عصبی مانند دوپامین و سروتونین است (۱۰).

در سال ۱۹۶۸، Johnston کشف کرد که دو شکل از MAO (MAO-A و MAO-B) وجود دارد (۱۱). هر دو ایزوفرم در سوبستراها، مهار کننده ها، توزیع مورفولوژیکی و نقش فیزیولوژیکی متفاوت هستند. ایزوآنزیم‌های A و B مونوآمین اکسیداز، پروتئین‌های متصل به میتوکندری هستند که دآمیناسیون اکسیداتیو آمین های رژیم غذایی و ترانسمیترهای مونوآمین را کاتالیز می‌کند. تحت شرایط فیزیولوژیک، MAO-A به صورت ترجیحی سروتونین و نوراپی نفرین را اکسید می‌کند؛ MAO-B فنیل تیلامین را اکسید می‌کند و دوپامین و تیرامین سوبستراهای هر ۲ آنزیم هستند (۱۲). این دو شکل مونوآمین اکسیداز A روی بازوی کوتاه کروموزوم X بین باندهای Xp11.23 و Xp11.4 قرار گرفته‌اند (۲). بر اساس مطالعه‌ی Mirowska-Guzel و Balkowiec-Iskra، این دو ژن، شامل ۱۵ اگزون هستند و سازمان‌دهی اگزون–اینترون همسان دارند که مطرح می‌شود نوع A و B ژن MAO از نسخه‌برداری یک ژن اجدادی مشترک نشأت گرفته‌اند (۱۲).

MAO-A به طور عمده در نرون‌های کاتاکولامینرژیک دیده شده و MAO-B شکل فراوان‌تر در نرون های سرتونرژیک و هیستامینرژیک و سلول های گلیال است. در مغز، بالاترین غلظت MAO-A در لوکوس سیرولئوس دیده شده و MAO-B در هسته‌ی رافه (Raphe Nuclei) دیده شده است. فعالیت این آنزیم، تا حدی به صورت ژنتیک تنظیم می‌گردد (۲). ژن MAO-A دارای یک پلی‌مورفیسم VNTR عملکردی ۳۰ جفت‌بازی در ناحیه‌ی پروموتر با ۲، ۳، ۴ و ۵ یا ۶، ۷، ۲، ۸ کپی است (۱۳، ۴). آلل های تکرار ۳ و ۴ در میان جمعیت انسانی شایع‌تر می‌باشند. آلل های این پلی‌مورفیسم، به طور معمول به دو دسته گروه‌بندی می‌شوند: یک گروه حاوی آلل‌هایی (آلل‌های ۲، ۳ و ۵) است که با فعالیت پایین آنزیم و گروه دیگر، حاوی آلل‌هایی (آلل های ۳/۵ و ۴) هستند که با فعالیت بالای آنزیم همراه هستند (۱۴). آلل های MAOA با فعالیت بالا دارای رونویسی ۱۰-۲ برابر بیشتر نسبت به آلل‌های MAOA با فعالیت پایین می‌شوند (۱۵، ۵).

محققان مطرح کرده‌اند که حامل آلل‌های با فعالیت پایین MAOA در شرایط تحریک‌آمیز نسبت به همتایان خود با فعالیت بالای MAOA، واکنش تهاجمی‌تر (پرخاشگر) را نشان می‌دهند. افراد با فعالیت بالای MAOA، بدرفتاری را بهتر تحمل می‌کنند و همچنین، به احتمال زیاد رفتارهای ضد اجتماعی در آن‌ها کمتر دیده می‌شود (۱۶). آلل‌ها با فعالیت پایین MAO-A به اندازه‌ی آلل‌ها با فعالیت بالای MAO-A در متابولیسم انتقال دهنده های عصبی مؤثر نیستند (۲). در نتیجه، آلل های با فعالیت پایین MOA-A به طور معمول آلل خطر برای پاتولوژی‌های مختلف روانی و خشونت شدید در نظر گرفته می‌شوند (۱۸-۱۷). همچنین، آلل‌های با فعالیت پایین MAO-A با غلظت بالاتر دوپامین همراه هستند و در نتیجه، این افراد دارای میزان فعالیت بدنی بالاتری هستند (۱۰)؛ چرا که سطوح بالای MAO-A باعث افزایش تجزیه‌ی دوپامین می‌گردد و در نتیجه، پیام‌رسانی دوپامین را کاهش می‌دهد (۱۹).

از این رو، مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین تغییرات ژنتیک و فراوانی آللیک MAOA-VNTR در جمعیت مرد و زن جوان و مقایسه‌ی نتایج با داده‌های مشابه از سایر جمعیت‌های جهان انجام شد.

روش‌ها

پژوهش حاضر، مطالعه‌ای کاربردی است که به صورت تجربی انجام گرفت. DNA از سلول های Cheek نمونه ی بزاق ۱۲۴ آزمودنی با استفاده از کیت شرکت اورا ژن استخراج گردید. نمونه‌های بزاق (۳ میلی‌لیتر) از هر آزمودنی جمع آوری شد و محلول نگه‌دارنده به میزان ۳ میلی‌لیتر به آن‌ها اضافه گردید و به آزمایشگاه منتقل شد.

طراحی پرایمر: جهت طراحی پرایمرها از نرم‌افزار Oligo7 استفاده شد. پس از طراحی پرایمرها جهت اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها، از نرم‌افزار Primer-blast موجود در پایگاه داده‌ی National center for biotechnology information (NCBI) استفاده شد (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi). پس از اطمینان از ویژگی عملکرد پرایمرها، پرایمرها جهت سنتز از شرکت سیناکلون سفارش داده شدند.

پرایمرهای دریافتی به صورت لیوفیلیزه (Lyophilized) بودند که با افزودن مقادیر مشخص آب با توجه به اطلاعات همراه پرایمر به غلظت ۱۰۰میکرومولار رسانده شدند و به عنوان محلول اصلی (Stock solution) مورد استفاده قرار گرفتند. از این محلول، رقت ۰/۱ تهیه و به عنوان محلول کاری (Working solution) استفاده شد. تمامی استوک‌های (Stocks) تهیه شده در دمای ۲۰- درجه ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی پلی‌مورفیسم‌ها

نام ژن	توالی پرایمر	طول محصول PCR (جفت‌باز)
MAOA	F: 5'- ACGGCTGGCCAAGTTGTCTA-3' R: 5'- GAACGGACGCTCCATTCGGA-3'	۳۱۴-۳۸۴

سپس، برای جفت پرایمر طراحی شده، از واکنش PCR شیب دمایی جهت یافتن بهترین دمای اتصال پرایمر استفاده شد.

PCR: Polymerase chain reaction

نام کلیه‌ی پرایمرها به همراه توالی آن‌ها و طول قطعات مورد انتظار آن‌ها در جدول ۱ آمده است. پرایمر Polymerase chain reaction (PCR) استفاده شده برای تقویت پلی‌مورفیسم‌ها F: 5'- ACGGCTGGCCAAGTTGTCTA-3' و R: 5'- GAACGGACGCTCCATTCGGA-3' بود.

مراحل آماده کردن پرایمر: در یک میکروتیوب استریل ۰/۲ میلی‌لیتری ۱ میکرولیتر DNA (۲۰۰ نانومول در میکرولیتر)، ۷/۵ میکرولیتر Master mix 2x، ۰/۸ میکرولیتر پرایمر بالادست و ۰/۸ میکرولیتر پایین‌دست (۵ پیکومتر)، ۵ میکرولیتر آب دیونیزه و دستگاه چرخه ی دمایی ABI اضافه گردید. میکروتیوب در دستگاه چرخه‌ی دمایی گذاشته شد و PCR در فرایندهایی شامل ۱ چرخه، دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه ی سانتی‌گراد برای ۷ دقیقه؛ ۳۵ چرخه، دناتوراسیون در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه، Annealing در ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت ۳۰ ثانیه، Extension در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ۶۰ ثانیه و ۱ چرخه‌ی Final extension در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت ۷ دقیقه انجام شد.

پس از اتمام واکنش، ۳ میکرولیتر از محصول PCR جهت اطمینان از تکثیر بهینه بر روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز شد و مورد بررسی قرار گرفت.

پس از مشخص شدن دمای مناسب برای یک جفت پرایمر سنتز شده، PCR تمامی نمونه‌ها با شرایط ایده آل انجام شد و برای تأیید تکثیر صحیح قطعه ی مورد نظر، ۲ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۰/۱ درصد برده شد.

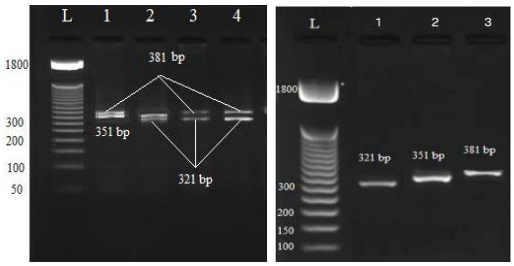
تعیین ژنوتیپ ژن MAOA نظر به این که پلی مورفیسم ژن MAOA مورد بررسی در این پژوهش، دارای یک VNTR به طول ۳۰ جفت‌باز می باشد، این پلی‌مورفیسم‌ها بین ۵-۲ کپی متغیر می‌باشند. جهت تعیین ژنوتیپ قطعه ی مورد نظر، محصول PCR روی ژل آکریل آمید ۱۲ درصد الکتروفورز شدند و سپس، ژنوتیپ های مورد نظر برای هر فرد یادداشت شدند و سه نمونه با ژنوتیپ های مختلف برای توالی‌یابی به شرکت سیناکلون (تهران) فرستاده شدند.

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام گردید. متغیرهای طبقه‌بندی شده به صورت فراوانی و درصد ارایه شدند. برای مقایسه‌ی بین درصد (فراوانی) برخی از جمعیت‌ها با داده های موجود، از آزمون χ^2 و Fisher's exact استفاده گردید. سطح معنی‌داری برای تمامی آزمون‌ها $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در جدول ۲، اطلاعات دموگرافیک در ارتباط با میانگین سنی، قد، وزن، شاخص توده‌ی بدنی و تعداد افراد شرکت کننده در پژوهش گزارش شده است.

محصولات PCR شامل ۳۲۱ (آلل ۳ تکرار)، ۳۵۱ (آلل ۴ تکرار) و ۳۸۱ (آلل ۵ تکرار) می‌باشند (شکل ۱).



ب الف

شکل ۱. الگوی الکتروفورز محصول PCR برای ژن MAO

الف: VNTRs متفاوت ژن هموزیگوت MAOA

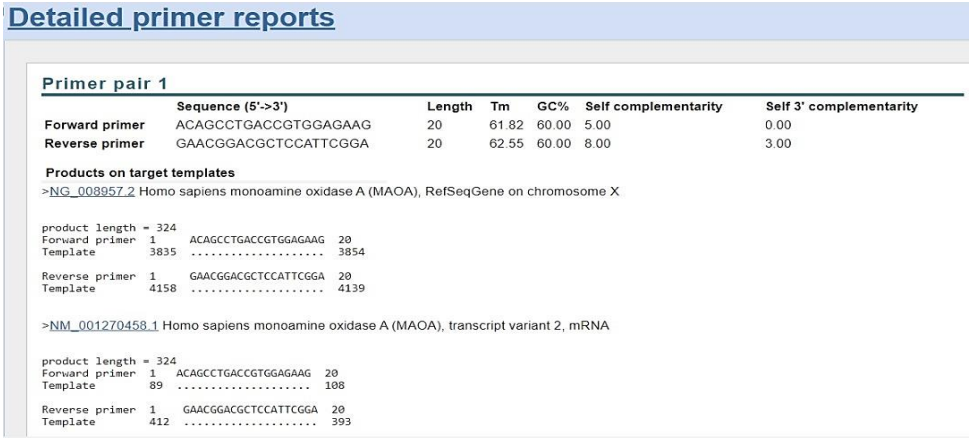
– خط L: نردبان DNA (۵۰ جفت‌باز)؛ – خط ۱: باند ۳۲۱ جفت‌باز، هموزیگوت ژنوتیپ ۳/۵*۳/۵؛ – خط ۲: ۳۵۱ جفت‌باز، هموزیگوت ژنوتیپ ۴/۵*۴/۵؛ – خط ۳: ۳۸۱ جفت‌باز، هموزیگوت ژنوتیپ ۵/۵*۵/۵

ب: VNTRs متفاوت هتروزیگوت ژن MAOA

– خط L: نردبان DNA (۵۰ جفت‌باز)؛ – خط ۱: هر دو باند ۳۸۱ و ۳۵۱، هتروزیگوت ژنوتیپ ۴/۵*۵/۵ تکرار؛ – خط ۲: هر دو باند ۳۵۱ و ۳۲۱، هتروزیگوت ژنوتیپ ۳/۵*۴/۵؛ – خط ۳ و ۴: هر دو باند ۳۸۱ و ۳۲۱، هتروزیگوت ژنوتیپ ۳/۵*۵/۵

جدول ۲. اطلاعات مربوط به ویژگی‌های دموگرافیک آزمودنی‌ها

	تعداد	سن (سال)	وزن (کیلوگرم)	قد (سانتی‌متر)	شاخص توده‌ی بدنی (kg/m^2)
مردان	۵۶	۲۴/۱۶ ± ۴/۵۱	۷۱/۳۰ ± ۱۱/۵۰	۱/۷۶± ۰/۰۶	۲۲/۹۹ ± ۳/۲۹
زنان	۶۸	۲۴/۵۵ ± ۶/۵۸	۶۱/۱۰ ± ۱۱/۶۰	۱/۶۳ ± ۰/۰۵	۲۳/۰۹ ± ۴/۶۹
کل	۱۲۴	۲۴/۳۰ ± ۵/۷۰	۶۵/۷۷ ± ۱۲/۶۵	۱/۶۸ ± ۰/۰۹	۲۳/۰۴ ± ۴/۱۰



Detailed primer reports

Primer pair 1

	Sequence (5'->3')	Length	Tm	GC%	Self complementarity	Self 3' complementarity
Forward primer	ACAGCCTGACCGTGGAGAAG	20	61.82	60.00	5.00	0.00
Reverse primer	GAACGGACGCTCCATTCGGA	20	62.55	60.00	8.00	3.00

Products on target templates

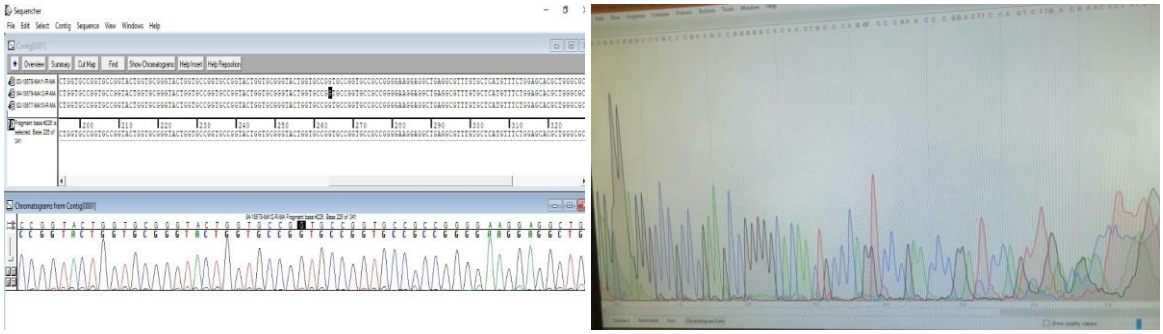
>NG_008957.2 Homo sapiens monoamine oxidase A (MAOA), RefSeqGene on chromosome X

```
product length = 324
Forward primer  1     ACAGCCTGACCGTGGAGAAG  20
Template        3835  ....................  3854

Reverse primer  1     GAACGGACGCTCCATTCGGA  20
Template        4158  ....................  4139
```

>NM_001270458.1 Homo sapiens monoamine oxidase A (MAOA), transcript variant 2, mRNA

```
product length = 324
Forward primer  1   ACAGCCTGACCGTGGAGAAG  20
Template        89  ....................  108

Reverse primer  1    GAACGGACGCTCCATTCGGA  20
Template        412  ....................  393
```

الف. نتیجه‌ی بلاست پرایمرها



ب. نتیجه‌ی توالی‌یابی **ج. نتیجه‌ی هم‌ردیفی سه نمونه که برای توالی‌یابی فرستاده شد**

شکل ۲. الف) نتیجه‌ی بلاست پرایمرها، ب) نتیجه‌ی توالی‌یابی، ج) نتیجه‌ی هم‌ردیفی سه نمونه که برای توالی‌یابی فرستاده شد

شکل ۲، نشان دهنده‌ی نتیجه‌ی بلاست پرایمرها، نتیجه‌ی توالی‌یابی؛ نتیجه‌ی هم‌ردیفی سه نمونه که برای توالی‌یابی فرستاده شد، می‌باشد.

تعداد و درصد فراوانی ژنوتیپ پلی‌مورفیسم MAOA-VNTR آزمودنی‌های مطالعه در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی ژنوتیپ ۴/۵*۴/۵ (۴۶/۷۷ درصد)، ۳/۵*۳/۵ (۲۶/۶۱ درصد)، ۳/۵*۴/۵ (۲۰/۹۶ درصد)، ۵/۵*۵/۵ (۳/۲۲ درصد) و ژنوتایپ‌های ۲*۴/۵، ۳/۵*۵/۵ و ۴/۵*۵/۵ دارای فراوانی ۰/۸ درصدی بودند و فراوانی آللی مربوط به آلل‌های ۴/۵ و ۳/۵ (۵۸/۰۶ و ۳۷/۵ درصد به ترتیب) و آلل ۵/۵ دارای ۴/۰۳ درصد و آلل ۲ دارای ۰/۴ درصد فراوانی می‌باشند.

فراوانی آلل در این مطالعه و نتایج پژوهش‌های سایر محققان، در جدول ۴ آمده است. بر این اساس، بیشترین فراوانی آللی مربوط به آلل‌های 4R و 3R در بین جمعیت‌های مختلف بوده است.

بحث

توزیع ژنوتیپ پلی‌مورفیسم MAOA-VNTR و فراوانی آللی در جمعیت جوان مطالعه‌ی حاضر در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین فراوانی ژنوتیپ ۴/۵*۴/۵ (۴۶/۷۷ درصد)، ۳/۵*۳/۵ (۲۶/۶۱ درصد) و ۴/۵*۳/۵ (۲۰/۹۶ درصد) می‌باشد و بیشترین فراوانی آللی مربوط به آلل‌های ۴/۵ و ۳/۵ (۹۵ درصد) می‌باشد.

جدول ۳. توزیع ژنوتیپ پلی‌مورفیسم MAO-A VNTR با فراوانی آللی

پلی‌مورفیسم MAO-AVNTR	تعداد (درصد)
ژنوتیپ ۲*۴/۵	۱ (۰/۸۰)
ژنوتیپ ۳/۵*۳/۵	۳۳ (۲۶/۶۱)
ژنوتیپ ۳/۵*۴/۵	۲۶ (۲۰/۹۶)
ژنوتیپ ۴/۵*۴/۵	۵۸ (۴۶/۷۷)
ژنوتیپ ۳/۵*۵/۵	۱ (۰/۸۰)
ژنوتیپ ۴/۵*۵/۵	۱ (۰/۸۰)
ژنوتیپ ۵/۵*۵/۵	۴ (۳/۲۲)
تعداد کل	۱۲۴
آلل	
۲R	۱ (۰/۴۰)
۳/۵R	۹۳ (۳۷/۵۰)
۴/۵R	۱۴۴ (۵۸/۰۶)
۵/۵R	۱۰ (۴/۰۳)

جدول ۴. شمارش فراوانی آلل‌ها برای MAOA-VNTR در جمعیت‌ها و قومیت‌های مختلف

جمعیت	تعداد	فراوانی آلل MAOA VNTR						منبع
		۱/۵R	۲R	۳R	۳/۵R	۴R	۵R	مقدار P	
مطالعه‌ی حاضر	۲۴۸	۰	۱	۹۳	۰	۱۴۴	۱۰	---	
عراق	۴۴۰	۱۰	۰	۳۱۴	۰	۴۵۸	۹۸	۰/۰۰۰	۲
اسپانیایی/لاتین	۹۲	۰	۰	۲۷	۰	۶۵	۰	۰/۲۹	۱۳
آفریقایی	۱۹۶	۰	۰	۵۵	۰	۱۳۴	۷	۰/۰۰۰	۲۳
سفید/غیر اسپانیایی	۱۶۲۹	۰	۰	۵۲۹	۸	۱۰۵۶	۲۶	A	۱۳
نیوزلندی، اروپایی	۱۰۴۰	۰	۳	۶۵۸	۹	۱۲۳۸	۳۲	۰/۰۰۰	۱۷
آلمانی، اروپایی	۱۳۱	۰	۰	۴۷	۱	۸۰	۳	۰/۰۰۰	۲۴
آلمانی، اروپایی	۳۹۰	۰	۳	۱۴۰	۳	۲۳۸	۶	۰/۰۰۰	۱۵
ایتالیایی، منشأ اروپایی	۱۸۰	۰	۳	۷۲	۰	۱۰۲	۳	۰/۰۰۰	۲۴
چینی	۲۱۴	۰	۱	۱۲۲	۰	۹۰	۱	۰/۰۰۰	۲۵
آسیایی/جزایر اقیانوس آرام	۸۲	۰	۰	۵۰	۱	۳۱	۰	۰/۷۲	۱۳
آمریکایی- آفریقایی	۸۸	۰	۰	۵۲	۲	۳۲	۲	۰/۸۶	۱۳
آمریکایی	۶۲۰	۰	۰	۲۲۴	۱۸	۳۷۵	۳	۰/۰۰۰	۲۶

a. هیچ داده‌ای، مقایسه نشد.

همچنین، فراوانی آللی نتایج مطالعه‌ی حاضر و سایر محققان در جدول ۴ آمده است. شایان ذکر است که فراوانی آلل بالاتر ۴ تکرار در راستای چندین مطالعه‌ی قبلی بوده است و نشانگر این موضوع است که توزیع فراوانی آلل در بین مطالعات، دارای شباهت است. هیچ تفاوت معنی‌داری بین مطالعه‌ی حاضر با جمعیت‌های اسپانیایی/لاتین، آسیا/جزایر اقیانوس آرام و آمریکایی- آفریقایی وجود نداشت (جدول ۴). از طرف دیگر، تفاوت معنی‌داری بین آلل های جمعیت مطالعه‌ی حاضر و جمعیت های عراقی، آفریقایی، نیوزلندی، آلمانی، ایتالیایی، چینی و آمریکایی دیده شد ($P < ۰/۰۵$).

در بین قفقازی‌ها، فراوانی آلل ۴ تکرار VNTR دو برابر فراوانی آلل ۳ تکرار بود (۱۰). در جمعیت عراقی نیز فراوانی آلل ۴ تکرار، حدود ۱/۵ برابر آلل ۳ تکرار بود. در مقابل، Sabol و همکاران، فراوانی ۶۱ درصد برای آلل ۳ تکرار، ۳۷/۸ درصد برای آلل ۴ تکرار را در آزمودنی‌های آسیایی و جزایر اقیانوس آرام نشان دادند (۱۳). تمامی این نتایج و نتایج مطالعه‌ی حاضر، به طور مداوم نشان می‌دهند که آلل های ۳ و ۴ تکرار در جمعیت آسیایی، دو آلل شایع هستند. واضح است که در توزیع فراوانی آلل‌های ۳ و ۴ تکرار در گروه‌های مختلف قومیتی یا نژادی، تغییرات اساسی وجود دارد. این اختلافات، حاکی از آن است که پلی‌مورفیسم عملکردی MAOA-VNTR ممکن است نقش مهمی را در تنوع رفتاری یا فیزیولوژیکی انسان ها نداشته باشد. علاوه بر این، فراوانی بالای آلل ۴ تکرار MAO-A در جمعیت ما و به احتمال زیاد سایر تحقیقات، نیاز به توضیح دارد؛ با توجه به این که ژن MAO روی کروموزوم X واقع شده است و مردان تنها در یک کروموزوم X مشارکت می‌کنند، کروموزوم X ممکن است که در فراوانی آلل‌ها در بین مردان و زنان نقش داشته باشد. در نتیجه، سهم ژنتیک برخی مطالعات ممکن است بیشتر یا کمتر، از جمعیت زنان نشأت گرفته باشد. بنابراین، به نظر می‌رسد این تفاوت فراوانی‌ها در نسبت آلل ۳ تکرار یا بالاتر بودن آلل ۴ تکرار به دلیل تفاوت در نسبت زنان به مردان نیز باشد. در واقع، زنان هتروزیگوت به دلیل غیر فعال شدن اپی‌ژنتیک تصادفی یکی از دو آلل MAO-A، اغلب یک فنوتیپ میانی را نشان می‌دهند که ممکن است منجر به نتایج گمراه کننده در مطالعات همراهی (Association) گردد.

آلل‌های ۲ و ۵ تکرار نیز آلل‌های نادری بودند که علاوه بر جمعیت ما در چندین جمعیت دیگر (نیوزلند، آلمان، ایتالیا و چین) نیز دیده شدند (جدول ۴). تحقیقات محدودی وجود دارد که نشان می‌دهند ممکن است ناهمگونی در عملکرد آلل‌های فعالیت پایین MAOA به فعالیت پروموتر پایین‌تر آلل ۲ تکرار در مقایسه با سایر آلل‌ها مربوط باشد (۲۰). از این رو، به دلیل درصد پایین‌تر (کمتر از ۱ درصد) در جوامع، ارتباط احتمالی این آلل‌ها با فنوتیپ‌های ضد اجتماعی ممکن نیست کشف گردد.

در مجموع، فرآوانی آلل MAO-A بین گروه های نژادی متفاوت است و فراوانی آلل ۴/۵R در جمعیت مردان و زنان جوان مطالعه‌ی حاضر بیشتر بود. از این رو، نتایج متفاوت مطالعه‌ی حاضر در مقایسه با برخی از مطالعات، نشان می‌دهد که فراوانی آللی چنین پلی‌مورفیسم‌هایی از نظر جمعیت و قومیت خاص است و برخی از عوامل مانند زمینه‌ی ژنتیک، ممکن است بر فراوانی آلل در

جمعیت‌های متفاوت تأثیر بگذارد. بدین ترتیب، مطالعات بیشتر با استفاده از گروه‌های بزرگ‌تر پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این مطالعه، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزش مصوب گروه فیزیولوژی ورزش پژوهشگاه تربیت بدنی و علوم ورزشی تهران با کد اخلاق IR.SSRC.REC.1398.096 می‌باشد و در آن تمام موازین اخلاقی حاکم بر یک مطالعه نظیر رضایت آگاهانه، محرمانگی و رازداری و نیز حراست از اطلاعات آزمودنی ها به طور کامل رعایت شده است. پژوهشگران بر خود لازم می‌دانند از جناب آقای دکتر رحیمی به خاطر ارایه‌ی نظرات ارزشمند و مؤثر، صمیمانه سپاسگزاری نمایند. و هزینه‌ی مالی اجرای آن، به صورت شخصی تأمین گردیده است. این مطالعه با هزینه‌ی شخصی پژوهشگران و بدون حمایت مالی سازمان یا نهاد خاص انجام شده است.

References

1. Caballero A, Garcia-Dorado A. Allelic diversity and its implications for the rate of adaptation. Genetics 2013; 195(4): 1373-84.
2. Al Tayie SR, Ali AA. Allelic Diversity of VNTR polymorphism in Monoamine Oxidase A (MAOA) gene in Iraqi Population. Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 10(12): 3099-102.
3. Contini V, Marques FZ, Garcia CE, Hutz MH, Bau CH. MAOA-uVNTR polymorphism in a Brazilian sample: Further support for the association with impulsive behaviors and alcohol dependence. Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2006; 141B(3): 305-8.
4. Huang YY, Cate SP, Battistuzzi C, Oquendo MA, Brent D, Mann JJ. An association between a functional polymorphism in the monoamine oxidase a gene promoter, impulsive traits and early abuse experiences. Neuropsychopharmacology 2004; 29(8): 1498-505.
5. Caspi A, McClay J, Moffitt TE, Mill J, Martin J, Craig IW, et al. Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children. Science 2002; 297(5582): 851-4.
6. Eslami Amirabadi MR, Rajezi ES, Davari-Ashtiani R, Khademi M, Emamalizadeh B, Movafagh A, et al. Monoamine oxidase a gene polymorphisms and bipolar disorder in Iranian population. Iran Red Crescent Med J 2015; 17(2): e23095.
7. Nishioka SlA, Perin EA, Sampaio AS, Cordeiro Q, Cappi C, Mastrorosa RS, et al. The role of the VNTR functional polymorphism of the promoter region of the MAOA gene on psychiatric disorders. Archives of Clinical Psychiatry (Sao Paulo) 2011; 38(1): 34-42.
8. Hare ML. Tyramine oxidase: A new enzyme system in liver. Biochem J 1928; 22(4): 968-79.
9. Zeller EA. Über den enzymatischen Abbau von Histamin und Diaminen. 2. Mitteilung. Helvetica Chimica Acta 1938; 21(1): 880-90.
10. Kinney EM, Coste SC, Reinke, C. Examination of the monoamine oxidase a gene promoter on motivation to exercise and levels of voluntary physical activity [Online]. [cited 2017]; Available from: URL: https://digitalcommons.linfield.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1231&context=symposium
11. Johnston JP. Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue. Biochem Pharmacol 1968; 17(7): 1285-97.
12. Mirowska-Guzel D, Balkowiec-Iskra E. The role of monoamine oxidase in humans and its metabolism. Psychiatr Ann 2014; 44(11): 495-501.
13. Sabol SZ, Hu S, Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. Hum Genet 1998; 103(3): 273-9.
14. Balciuniene J, Emilsson L, Oreland L, Pettersson U, Jazin E. Investigation of the functional effect of monoamine oxidase polymorphisms in human brain. Hum Genet 2002; 110(1): 1-7.
15. Kuepper Y, Grant P, Wielpuetz C, Hennig J. MAOA-uVNTR genotype predicts interindividual differences in experimental aggressiveness as a function of the degree of provocation. Behav Brain Res 2013; 247: 73-8.
16. Reti IM, Xu JZ, Yanofski J, McKibben J, Uhart M, Cheng YJ, et al. Monoamine oxidase A regulates antisocial personality in whites with no history of physical abuse. Compr Psychiatry 2011; 52(2): 188-94.
17. McDermott R, Tingley D, Cowden J, Frazzetto G, Johnson DD. Monoamine oxidase A gene (MAOA) predicts behavioral aggression following provocation. Proc Natl Acad Sci USA 2009; 106(7): 2118-23.
18. Vaske J. The role of genes and abuse in the etiology of offending [PhD Thesis]. Cincinnati, OH: University of Cincinnati; 2009.
19. Good DJ, Li M, Deater-Deckard K. A genetic basis for motivated exercise. Exerc Sport Sci Rev 2015; 43(4): 231-7.
20. Guo G, Ou XM, Roettger M, Shih JC. The VNTR 2 repeat in MAOA and delinquent behavior in adolescence and young adulthood: associations and MAOA promoter activity. Eur J Hum Genet 2008; 16(5): 626-34.

DOI: *10.22122/jims.v37i558.12624* *Published by Vesnu Publications*

Journal of Isfahan Medical School **Vol. 37, No. 558, 2nd Week, March 2020**

Received: 13.01.2020 Accepted: 04.02.2020 Published: 27.02.2020

Allelic Diversity of VNTR Polymorphism in Monoamine Oxidase A (MAOA) Gene in Young Women and Men in Mashhad, Iran

Sedigheh Sadat Hojjati[1], Abbas Ali Gaeini[2], Hadi Rohani[3], Mohammad Shariatzadeh[3]

Original Article

Abstract

Background: Monoamine oxidase A (MAOA) enzyme activity is changed in mood disorders, as well as lower activity associated with criminal and aggressive behaviors. The MAOA gene, which plays a vital role in degradation of neurotransmitters such as serotonin, norepinephrine, and dopamine, contains a polymorphism in its promoter region that affects transcriptional efficiency. Moreover, MAOA-VNTR genotype has been related with both physical activity level and psychological measures. The aim of the current study was to determine the genetic variation and allelic frequency of the MAOA-VNTR in young population, and to compare the result with similar data from other populations.

Methods: Salvia samples were obtained from 124 volunteers in Mashhad, Iran (age: 24.3 ± 5.7 years, 55 men and 67 women). DNA was extracted from the cheek cell, and the MAOA genotype was identified using polymerase chain reaction (PCR) with gene specific primers. The polymorphism was detected by PCR using primers: Forward: 5′ACAGCCTGACCGTGGAGAAG-3′ and Revers: 5′GAACGTGACGCTCCATTCGGA-3′, and resulted in following products: 321 (3-repeat allele), 336 (3.5-repeat allele), 351 (4-repeat allele), and 381 (5-repeat allele).

Findings: From the sequencing results, 3.5R, 4.5R and 5.5R repeats were successfully identified instead of the 3R, 4R, 5R repeats which were identified by previous researchers. The result of the MAOA-VNTR genotyping revealed that the three common genotype were 4.5*4.5, 3.5*3.5, and 3.5*4.5 with frequency of 46.77%, 26.61%, and 20.96%, respectively, and the two common alleles were 4.5R and 3.5R with frequency of 37.50% and 58.06% respectively. The result of our study, compared with data of twelve populations, showed a significant difference between allele frequencies of Iranian samples with Iraqi, Afrikaner, New Zealand (European origin), German, Italian, Chinese and American populations ($P < 0.05$).

Conclusion: The frequency of MAOA allele is different between racial groups, and the frequency of the 4.5R allele is greater in the men and women populations of our study. As a result, as previously confirmed, individuals with the 4.5R allele have lower levels of physical activity, depression, and arousal due to high MAOA gene transcription activity.

Keywords: Monoamine oxidase A, Genotype, VNTR region

Citation: Hojjati SS, Gaeini AA, Rohani H, Shariatzadeh M. **Allelic Diversity of VNTR Polymorphism in Monoamine Oxidase A (MAOA) Gene in Young Women and Men in Mashhad, Iran.** J Isfahan Med Sch 2020; 37(558): 1415-21.

1- PhD Student, Department of Exercise Physiology, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran
2- Professor, Department of Exercise Physiology, School of Physical Activity and Sport Sciences, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Assistant Professor, Department of Exercise Physiology, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran
Corresponding Author: Sedigheh Sadat Hojjati; PhD Student, Department of Exercise Physiology, Sport Sciences Research Institute, Tehran, Iran; Email: s.sadat.hojjati@gmail.com