

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

صدیقه‌سادات حجتی^۱، عباسعلی گائینی^۲، هادی روحانی^۳، محمد شریعت‌زاده^۴

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: فعالیت آنزیم مونوآمین اکسیداز A (MAOA) در اختلالات خلق و خو و فعالیت پایین همراه با رفتارهای پرخطرانه تغییر می‌یابد. ژن مونوآمین اکسیداز A که نقش مهمی در تخریب نوروترانسمیترهایی مانند سروتونین (نه اپی‌نفرین) و دوپامین بازی می‌کند، حاوی پلی مورفسم‌هایی در ناحیه‌ی پروموتور خود است که بر کارایی رونویسی تأثیر می‌گذارد. همچنین، ژنوتیپ MAOA-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 $24/3 \pm 5/7$ 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. پلی مورفسم‌ها توسط PCR با استفاده از پرایمرهای 'Forward: 5'ACAGCTGACCGTGGAGAAG-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 پروموتور ۳/۵R، ۴/۵R و ۵/۵R 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*۳/۵، ۳/۵*۳/۵ و ۳/۵*۴/۵، 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 ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: فراوانی آلل MAOA-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 انگیزگی پایین‌تری برخوردار بودند.

واژگان کلیدی: مونوآمین اکسیداز A، ژنوتیپ، ناحیه‌ی VNTR

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

تنوع ژن (هتروزیگوسیتی مورد انتظار) از داده‌های فراوانی ژن محاسبه می‌شود. به عنوان مثال، اندازه‌گیری‌های مبتنی بر تعداد انواع مختلف آلل در تکلیک 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). پلی مورفسم MAOA-VNTR کاندیدای مناسبی برای مطالعات

مقدمه

تجزیه و تحلیل ژنتیک در رفتار جمعیت‌ها و زمینه‌های پزشکی، دارای مزایای مختلفی است و تجزیه و تحلیل ساختار ژنتیک جمعیت‌ها، 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

- 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، دامیناسیون اکسیداتیو تیرامین را کاتالیز می کرد (۸)؛ آنزیم توسط Hare، تیرامین اکسیداز نامیده شد. بعدها، دیده شد که نه تنها تیرامین را متابولیزه می کند، بلکه سایر آمین ها نظیر نوراپی نفرین و اپی نفرین را نیز متابولیزه می کند. Zeller در سال ۱۹۳۸ اولین نفری بود که نام مونوآمین اکسیداز را انتخاب کرد (۹). مونوآمین اکسیداز، آنزیمی است که هدف آن تجزیهی انتقال دهنده های 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. ایزوآنزیم های A و B مونوآمین اکسیداز، پروتئین های متصل به میتوکندری هستند که دامیناسیون اکسیداتیو آمین های رژیم غذایی و ترانس میترهای مونوآمین را کاتالیز می کند. تحت شرایط فیزیولوژیکی، MAO-A به صورت ترجیحی سروتونین و نوراپی نفرین را اکسید می کند؛ MAO-B فنیل تیلامین را اکسید می کند 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 گرفته اند (۲). بر اساس مطالعهی Mirowska-Guzel و Balkowiec-Iskra، این دو ژن، شامل ۱۵ اگزون هستند و سازمان دهی اگزون-ایترون همسان دارند که مطرح می شود نوع A و B ژن MAO از نسخه برداری یک ژن اجدادی مشترک نشأت گرفته اند (۱۲).

MAO-A به طور عمده در نرون های کاتاکولامینرژیک دیده شده و MAO-B شکل فراوان تر در نرون های سرتونرژیک و هیستامینرژیک و سلول های گلیال است. در مغز، بالاترین غلظت MAO-A در لوکوس سیروئوس دیده شده و MAO-B در هسته ی رافه (Raphe Nuclei) دیده شده است. فعالیت این آنزیم، تا حدی به صورت ژنتیک تنظیم می گردد (۲). ژن MAO-A دارای یک پلی مورفیسم VNTR عملکردی ۳۰ جفت بازی در ناحیهی پرموتر با ۲، ۳، ۴ و ۵ یا ۶، ۷، ۸، ۲ کپی است (۱۳، ۴). آلل های تکرار ۳ و ۴ در میان جمعیت انسانی شایع تر می باشند. آلل های این پلی مورفیسم، به طور معمول به دو دسته گروه بندی می شوند: یک گروه حاوی آلل هایی (آلل های ۲، ۳ و ۵) است که با فعالیت پایین آنزیم و گروه دیگر، حاوی آلل هایی (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

آلل های MAOA با فعالیت پایین می شوند (۱۵، ۵).

محققان مطرح کرده اند که حامل آلل های با فعالیت پایین MAOA در شرایط تحریک آمیز نسبت به همتایان خود با فعالیت بالای MAOA، واکنش تهاجمی تر (پر خاشگر) را نشان می دهند. افراد با فعالیت بالای MAOA، بدر رفتاری را بهتر تحمل می کنند و همچنین، به احتمال زیاد رفتارهای ضد اجتماعی در آن ها کمتر دیده می شود (۱۶). آلل ها با فعالیت پایین MAO-A به اندازهی آلل ها با فعالیت بالای MAO-A در متابولیسم انتقال دهنده های عصبی مؤثر نیستند (۲). در نتیجه، آلل های با فعالیت پایین MAO-A به طور معمول آلل خطر برای پاتولوژی های مختلف روانی و خشونت شدید در نظر گرفته می شوند (۱۷-۱۸). همچنین، آلل های 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 می گردد و در نتیجه، پیام رسانی دوپامین را کاهش می دهد (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 داده های مشابه از سایر جمعیت های جهان انجام شد.

روش ها

پژوهش حاضر، مطالعه ای 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. نمونه های بزاق (۳ میلی لیتر) از هر آزمودنی جمع آوری شد و محلول نگه دارنده به میزان ۳ میلی لیتر به آن ها اضافه گردید و به آزمایشگاه منتقل شد.

طراحی پرایمر: جهت طراحی پرایمرها از نرم افزار Oligo7 استفاده شد. پس از طراحی پرایمرها جهت اطمینان از اختصاصی بودن پرایمرها، از نرم افزار 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 ۱۰۰ میکرومولار 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 استوک های (Stocks) تهیه شده در دمای ۲۰- درجه ی سانتی گراد نگهداری شدند.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت بررسی پلی مورفیسیمها

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

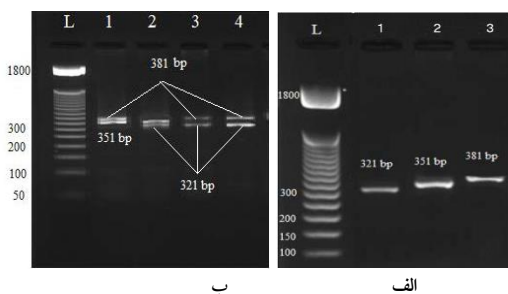
سپس، برای جفت پرایمر طراحی شده، از واکنش PCR شیب دمایی جهت یافتن بهترین دمای اتصال پرایمر استفاده شد.

PCR: Polymerase chain reaction

توالی یابی به شرکت سیناکلون (تهران) فرستاده شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۱ (version 21, IBM Corporation, Armonk, NY) انجام گردید. متغیرهای طبقه بندی شده به صورت فراوانی و درصد ارائه شدند. برای مقایسه ی بین درصد (فراوانی) برخی از جمعیت ها با داده های موجود، از آزمون χ^2 و Fisher's exact استفاده گردید. سطح معنی داری برای تمامی آزمون ها $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته ها

در جدول ۲، اطلاعات دموگرافیک در ارتباط با میانگین سنی، قد، وزن، شاخص توده ی بدنی و تعداد افراد شرکت کننده در پژوهش گزارش شده است. محصولات PCR شامل ۳۲۱ (آل ۳ تکرار)، ۳۵۱ (آل ۴ تکرار) و ۳۸۱ (آل ۵ تکرار) می باشند (شکل ۱).



شکل ۱. الگوی الکتروفورس محصول PCR برای ژن MAOA

الف: VNTRs متفاوت ژن هموزیگوت MAOA

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

ب: VNTRs متفاوت هتروزیگوت ژن MAOA

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

جدول ۲. اطلاعات مربوط به ویژگی های دموگرافیک آزمودنی ها

| تعداد | سن (سال) | وزن (کیلوگرم) | قد (سانتی متر) | شاخص توده ی بدنی (kg/m^2) |
|----------|------------------|-------------------|-----------------|-------------------------------|
| مردان ۵۶ | 24.16 ± 4.51 | 71.30 ± 11.50 | 1.76 ± 0.06 | 22.99 ± 3.29 |
| زنان ۶۸ | 24.55 ± 6.58 | 61.10 ± 11.60 | 1.63 ± 0.05 | 23.09 ± 4.69 |
| کل ۱۲۴ | 24.30 ± 5.70 | 65.77 ± 12.65 | 1.68 ± 0.09 | 23.04 ± 4.10 |

نام کلیه ی پرایمرها به همراه توالی آن ها و طول قطعات مورد انتظار آن ها در جدول ۱ آمده است. پرایمر Polymerase chain reaction (PCR) استفاده شده برای تقویت پلی مورفیسیمها 5'-ACGGCTGGCCAAGTTGTCTA-3' F و 5'-GAACGGACGCTCCATTCGGA-3' R بود.

مراحل آماده کردن پرایمر: در یک میکروتیوب استریل ۰/۲ میلی لیتری ۱ میکرولیتر DNA (۲۰۰ نانومول در میکرولیتر)، ۷/۵ میکرولیتر Master mix 2x، ۰/۸ میکرولیتر پرایمر بالادست و ۰/۸ میکرولیتر پایین دست (۵ پیکومتر)، ۵ میکرولیتر آب دیونیزه و دستگاه چرخه ی دمایی ABI اضافه گردید. میکروتیوب در دستگاه چرخه ی دمایی گذاشته شد و PCR در فرایندهایی شامل ۱ چرخه، دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه ی سانتی گراد برای ۷ دقیقه؛ ۳۵ چرخه، دناتوراسیون در ۹۴ درجه ی سانتی گراد برای ۳۰ ثانیه، Annealing در ۶۰ درجه ی سانتی گراد برای مدت ۳۰ ثانیه، Extension در ۷۲ درجه ی سانتی گراد برای ۶۰ ثانیه و ۱ چرخه ی Final extension در ۷۲ درجه ی سانتی گراد 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 الکتروفورس شد و مورد بررسی قرار گرفت.

پس از مشخص شدن دمای مناسب برای یک جفت پرایمر سنتز شده، PCR تمامی نمونه ها 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 مورفیسیم ژن MAOA مورد بررسی در این پژوهش، دارای یک VNTR به طول ۳۰ جفت باز می باشد، این پلی مورفیسیمها بین ۵-۲ کپی متغیر می باشند. جهت تعیین ژنوتیپ قطعه ی مورد نظر، محصول PCR روی ژل آکریل امید ۱۲ درصد الکتروفورس شدند و سپس، ژنوتیپ های مورد نظر برای هر فرد یادداشت شدند و سه نمونه با ژنوتیپ های مختلف برای

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 | GAACGGACGCTCCATTGGGA | 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

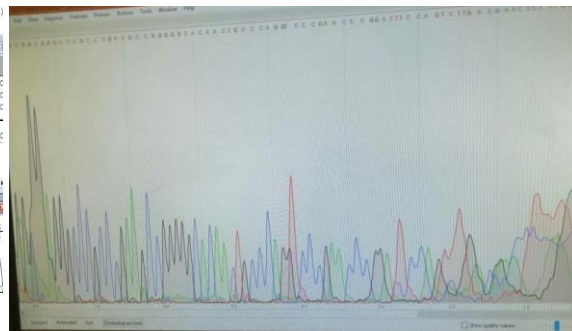
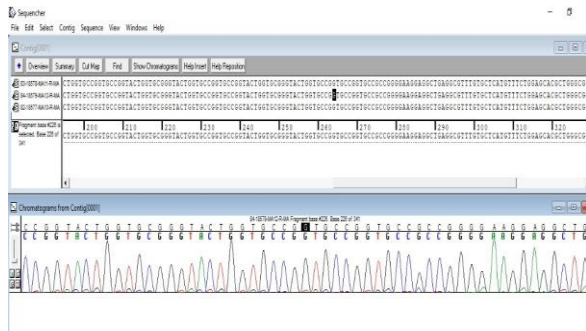
Reverse primer 1 GAACGGACGCTCCATTGGGA 20
 Template 4158 4139

->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 GAACGGACGCTCCATTGGGA 20
 Template 412 393

الف. نتیجهی بلاست پرایمرها



ج. نتیجهی هم‌ردیفی سه نمونه که برای توالی‌یابی فرستاده شد

ب. نتیجهی توالی‌یابی

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

داد که بیشترین فراوانی ژنوتیپ ۴/۵*۴/۵ (۴۶/۷۷ درصد)، ۳/۵*۳/۵ (۲۶/۶۱ درصد) و ۳/۵*۴/۵ (۲۰/۹۶ درصد) می‌باشد و بیشترین فراوانی آلی مربوط به آلل‌های ۴/۵ و ۳/۵ (۹۵ درصد) می‌باشد.

جدول ۳. توزیع ژنوتیپ پلی مورفیسم MAO-A VNTR با فراوانی آلی

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

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

تعداد و درصد فراوانی ژنوتیپ پلی مورفیسم 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)، ۴/۵*۴/۵ (۴۶/۷۷ درصد) و ژنوتایپ‌های ۲*۴/۵، ۳/۵*۵/۵ و ۴/۵*۵/۵ دارای فراوانی ۰/۸ درصدی بودند و فراوانی آلی 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 آلی مربوط به آلل‌های 4R و 3R در بین جمعیت‌های مختلف بوده است.

بحث

توزیع ژنوتیپ پلی مورفیسم MAOA-VNTR و فراوانی آلی در جمعیت جوان مطالعهی حاضر در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان

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

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

a. هیچ داده‌ای، مقایسه نشد.

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 اپی ژنتیک تصادفی یکی از دو آلل MAOA-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 پروموتور پایین تر آلل ۲ تکرار در مقایسه با سایر آلل‌ها مربوط باشد (۲۰). از این رو، به دلیل درصد پایین تر (کمتر از ۱ درصد) در جوامع، ارتباط احتمالی این آلل‌ها با فنوتیپ‌های ضد اجتماعی ممکن نیست کشف گردد.

در مجموع، فراوانی آلل MAOA-A بین گروه‌های نژادی متفاوت است و فراوانی آلل ΔR/۴ 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 آلی چین پلی مورفیسم‌هایی از نظر جمعیت و قومیت خاص است و برخی از عوامل مانند زمینه‌ی ژنتیک، ممکن است بر فراوانی آلل در

همچنین، فراوانی آلی 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 معنی داری بین مطالعه‌ی حاضر با جمعیت‌های اسپانیایی/لاتین، آسیا/جزایر اقیانوس آرام و آمریکایی-آفریقایی وجود نداشت (جدول ۴). از طرف دیگر، تفاوت معنی داری بین آلل‌های جمعیت مطالعه‌ی حاضر و جمعیت‌های عراقی، آفریقایی، نیوزلندی، آلمانی، ایتالیایی، چینی و آمریکایی دیده شد ($P < 0/05$).

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 آلل‌های 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 پلی مورفیسم عملکردی MAOA-VNTR ممکن است نقش مهمی را در تنوع رفتاری یا فیزیولوژیکی انسان‌ها نداشته باشد. علاوه بر این، فراوانی بالای آلل ۴ تکرار MAOA-A در جمعیت ما و به احتمال زیاد سایر تحقیقات، نیاز به توضیح دارد؛ با توجه به این که ژن MAOA روی کروموزوم X واقع شده است 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 می دانند 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.

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

References

- Caballero A, Garcia-Dorado A. Allelic diversity and its implications for the rate of adaptation. *Genetics* 2013; 195(4): 1373-84.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Nishioka SIA, Perin EA, Sampaio AS, Cordeiro Q, Cappi C, Mastrosoza 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.
- Hare ML. Tyramine oxidase: A new enzyme system in liver. *Biochem J* 1928; 22(4): 968-79.
- Zeller EA. Über den enzymatischen Abbau von Histamin und Diaminen. 2. Mitteilung. *Helvetica Chimica Acta* 1938; 21(1): 880-90.
- 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>
- Johnston JP. Some observations upon a new inhibitor of monoamine oxidase in brain tissue. *Biochem Pharmacol* 1968; 17(7): 1285-97.
- Mirowska-Guzel D, Balkowiec-Iskra E. The role of monoamine oxidase in humans and its metabolism. *Psychiatr Ann* 2014; 44(11): 495-501.
- Sabol SZ, Hu S, Hamer D. A functional polymorphism in the monoamine oxidase A gene promoter. *Hum Genet* 1998; 103(3): 273-9.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Vaske J. The role of genes and abuse in the etiology of offending [PhD Thesis]. Cincinnati, OH: University of Cincinnati; 2009.
- Good DJ, Li M, Deater-Deckard K. A genetic basis for motivated exercise. *Exerc Sport Sci Rev* 2015; 43(4): 231-7.
- 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.

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

Sedigheh Sadat Hojjati¹, Abbas Ali Gaeini², Hadi Rohani³, Mohammad Shariatzadeh³

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: Saliva 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'GAACGTGACGCTCCATTTCGGA-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