

## ارتباط بین فعالیت فیزیکی و نمایه توده بدنی با توجه به ژنوتیپ های مختلف رسپتور ملانوکورتین ۴ (MC4R)

آزاده خلیلی طهرانی: دانشجوی دوره کارشناسی ارشد، گروه تغذیه سلولی- مولکولی، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

مصطفی قربانی: استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران  
سعید حسینی: استادیار، مرکز تحقیقات چاقی و عادات غذایی، پژوهشکده علوم سلولی- مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

حمیده پیشوا: استادیار، گروه تغذیه سلولی- مولکولی، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران - نویسنده رابط:  
pishvahm@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۳/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۷/۱۹

### چکیده

زمینه و هدف: اختلال در سیستم مرکزی همئوستاز انرژی در اثر جهش های رسپتور ملانوکورتین ۴ (MC4R) بعنوان عامل مهمی در بروز چاقی محسوب می گردد. اگرچه فعالیت فیزیکی می تواند اثر ژن های مرتبط با چاقی را تضعیف کند اما تلاشهای محدودی در ارتباط با ژن MC4R صورت گرفته است. این مطالعه جهت تعیین ارتباط بین فعالیت فیزیکی و نمایه توده بدنی با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R (rs17782313) انجام گرفته است.

روش کار: جمعیتی متشکل از ۴۰۰ فرد بطور تصادفی از مطالعه جامع چند مرکزی پوکی استخوان (IMOS) انتخاب شدند. وزن و قد افراد اندازه گیری شد. اطلاعات فعالیت فیزیکی و رژیم غذایی توسط پرسشنامه های معتبر ارزیابی گردید. ژنوتیپ های مختلف MC4R با روش PCR-RFLP تعیین گردید. با استفاده از مدل رگرسیون خطی تعدیل شده، اثر احتمالی فعالیت فیزیکی بر نمایه توده بدنی با توجه به پلی مورفیسم MC4R (rs17782313) بررسی گردید.

نتایج: تنها در افراد با ژنوتیپ CT، بین نمایه توده بدنی و جنبه های مختلف فعالیت فیزیکی (hr/d و METs-hr/wk) همبستگی معنی دار آماری مشاهده گردید ( $p < 0.05$ )

نتیجه گیری: فعالیت فیزیکی بویژه در افراد هتروزیگوت پلی مورفیسم MC4R (rs17782313) می تواند نقش موثری در کاهش نمایه توده بدنی ایفا نماید.

واژگان کلیدی: نمایه توده بدنی، فعالیت فیزیکی، ملانوکورتین رسپتور ۴ (MC4R)، پلی مورفیسم

### مقدمه

جمله بیماری های قلبی - عروقی، دیابت نوع II، برخی از سرطان ها و اختلالات تنفسی مرتبط می باشد (Poirier et al. 2006). رایج ترین روش ارزیابی وزن در بزرگسالان بر اساس نمایه توده بدنی (BMI) صورت می گیرد، بطوری

امروزه چاقی بصورت یک اپیدمی جهانی در بزرگسالان و کودکان در حال گسترش است و به عنوان یک اختلال متابولیکی مزمن با بسیاری از بیماری ها از

Bauer et al. 2009; Corella et al. 2012; Qi et al. 2010; Liem et al. 2010).

مطالعه حاضر با شرکت ۴۰۰ فرد بزرگسال سالم به منظور تعیین ارتباط بین فعالیت فیزیکی و نمایه توده بدنی با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R انجام گرفته است. بدین ترتیب می توان با تشخیص اثر احتمالی پلی مورفیسم rs17782313 بر ارتباط فعالیت فیزیکی با تغییرات فنوتیپی به درمان مشخصی برای افراد چاق با استعداد ژنتیکی دست یافت.

### روش کار

شرکت کنندگان: در این مطالعه مقطعی توصیفی - تحلیلی، ۴۰۰ فرد متشکل از ۲۰۰ مرد و ۲۰۰ زن با میانگین سنی  $42.53 \pm 13.39$  شرکت کردند. شایان ذکر است که افراد شرکت کننده در مطالعه حاضر بطور تصادفی از میان ۱۱۰۰ فرد شرکت کننده در فاز سوم مطالعه جامع چند مرکزی بوکی استخوان (IMOS) در شهر اراک انتخاب شدند. مطالعه IMOS توسط پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران صورت گرفته است (Larijani et al. 2006). در مراجعه اول شاخص های تن سنجی شامل وزن و قد اندازه گیری شده و سپس نمایه توده بدنی محاسبه گردید. اطلاعات عمومی و فعالیت فیزیکی به ترتیب توسط پرسشنامه مشخصات عمومی و پرسشنامه جهانی فعالیت فیزیکی (GPAQ) از طریق مصاحبه تکمیل گردید. پرسشنامه ثبت سه روزه غذا به منظور گردآوری اطلاعات مربوط به دریافت غذایی، پس از آموزش های لازم، جهت تکمیل به افراد تحویل داده شد و در مراجعه بعدی کنترل و تحویل گرفته شد. ژنوتیپ های مختلف MC4R (rs17782313)، در تمامی شرکت کنندگان، با روش PCR-RFLP تعیین گردید. لازم به ذکر است که مطالعه حاضر توسط کمیته اخلاق پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تایید قرار گرفته است. همچنین کلیه شرکت کنندگان در ابتدا از ماهیت مطالعه اطلاع کامل یافته و فرم رضایتنامه آگاهانه توسط آنان تکمیل گردید.

که اضافه وزن و درجات چاقی بر اساس آن تعریف شده است (Ogden et al. 2010). رژیم غذایی ناسالم، کاهش فعالیت فیزیکی و عوامل ژنتیکی تعیین کننده های اصلی بروز چاقی محسوب می گردند (Yang et al. 2007).

مطالعاتی که در زمینه نقشه ژنتیکی چاقی انسان انجام گرفته است حاکی از این می باشد که حد اقل ۲۵۰ ژن در ایجاد چاقی نقش دارند (Chagnon et al. 2003). ژن رسپتور ملانوکورتین ۴ (MC4R) بیان کننده یک رسپتور پروتئینی حاوی ۳۲۳ اسید آمینه و تک آگزونه می باشد (Razquin et al. 2011). جهش های ژن MC4R سبب نقصان جزئی و یا کامل عملکرد این رسپتور گردیده و با ایجاد اختلال در سیستم همئوستاز انرژی، شایع ترین دلیل چاقی منوزنیک و جزء مهم چاقی پلی ژنیک محسوب می گردند (Rossi et al. 2011; Valette et al. 2013). طبق شواهد متعدد rs17782313 از میان پلی مورفیسم های ژن MC4R، معنی دارترین پلی مورفیسم مرتبط با چاقی گزارش شده است (Corella et al. 2012). اگرچه مکانیسمی که پلی مورفیسم rs17782313 را با نمایه توده بدنی بیشتر، مرتبط می سازد همچنان ناشناخته است، اما در برخی مطالعات ژنتیکی - مولکولی و تجربی ارتباط معنی داری بین rs17782313 و انرژی دریافتی بیشتر از یک سو و انرژی هزینه شده کمتر از سوی دیگر نشان داده شده است (Balthasar et al. 2005; Corella et al. 2012).

شواهد حاکی از آن است که فعالیت فیزیکی به واسطه افزایش فعالیت نوروترانسمیتری در مغز و همچنین اثر بر بیان برخی ژن ها می تواند اثر ژن های مرتبط با چاقی را تضعیف کند (Kremer et al. 2014; Xi et al. 2011). با این وجود یافته های حاصل از مطالعات محدودی که در زمینه ارتباط بین فعالیت فیزیکی و ژنوتیپ های مختلف MC4R صورت گرفته است، بصورت ضد و نقیض می باشند (Xi et al. 2011; )

گردید. پس از انجام الکتروفورز محصول PCR-RFLP آلل C بصورت قطعه ۱۳۷ جفت باز (Base pair) ظاهر شد در حالی که آلل T توسط آنزیم BclI به قطعات ۳۰ و ۱۰۷ جفت باز تقسیم گردید. شایان ذکر است که جهت تعیین طول باند های محصولات هضم شده از 50 bp DNA Ladder Ready to load (Smibio, Taiwan) و جهت کنترل منفی از محصول PCR استفاده گردید. همچنین جهت تایید محصول PCR ژن MC4R (Sequencing) انجام گرفت.

اندازه های تن سنجی: وزن افراد با استفاده از ترازو (GMbH, Hamburg, Germany) در هنگام صبح و در حالت ناشتا، با حداقل لباس و بدون کفش و با دقت ۰/۱ کیلوگرم اندازه گیری گردید. قد با استفاده از قدسنج (Seca, Germany) در حالت ایستاده و بدون کفش و با دقت ۰/۵ سانتی متر اندازه گیری شد. سپس نمایه توده بدنی افراد با تقسیم وزن برحسب کیلوگرم بر مجذور قد بر حسب متر مربع محاسبه گردید.

ارزیابی فعالیت فیزیکی: اطلاعات مربوط به فعالیت فیزیکی با استفاده از پرسشنامه جهانی فعالیت فیزیکی (GPAQ) تکمیل گردید. این پرسشنامه توسط سازمان جهانی بهداشت (WHO) طراحی شده و پایایی و روایی آن در جمعیت ایرانی توسط استقامتی و همکاران تایید گردیده است (Esteghamati et al. 2009). پرسشنامه جهانی فعالیت فیزیکی متشکل از ۱۶ سؤال بوده که فعالیت های مربوط به شغل، تفریح و تحرک را مشخص می کند. مزیت دیگر آن محاسبه انرژی هزینه شده و شدت فعالیت فیزیکی بر حسب METs می باشد. لازم به ذکر است که یک MET برابر یک کیلو کالری به ازاء کیلوگرم وزن بدن در هر ساعت بوده و معادل انرژی هزینه شده در حالت نشسته می باشد. طبق دستورالعمل ارائه شده از سوی WHO، انرژی هزینه شده در فعالیت فیزیکی با شدت متوسط و شدید به ترتیب چهار برابر و هشت برابر انرژی هزینه شده در حالت نشسته در نظر گرفته می شود (WHO 2008). در مطالعه حاضر داده های حاصل از پرسشنامه

ارزیابی ژنتیکی: استخراج DNA ژنومی از نمونه خون کامل توسط کیت (GeneAll, Exgene<sup>TM</sup> Cell SV kit, Korea) و بر اساس دستورالعمل مربوطه انجام گردید. ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی MC4R (rs17782313) حاصل جانشینی باز سیتوزین به تیمین با روش PCR-RFLP به شرح زیر تعیین گردید. انجام PCR جهت تکثیر قطعه مشخص DNA ژنومیک توسط پرایمر F (Forward) 5'AAGTTCTACCTACCATGTTCTTGG3 و پرایمر R (Reverse) 5'TTCCCCCTGAAGCTTTTCTTGTTCAT TTTGAT3' (Macro-gene, Korea) صورت گرفت (Zlatohlavek et al. 2013). واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ μl حاوی ۰/۵ μl پرایمر R، ۲۰۰ ng DNA ژنومی استخراج شده و ۱۰ μl پرمیکس (Amplicon, Germany) انجام گردید. واکنش PCR متشکل از مرحله دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵°C به مدت ۲ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل از مراحل دناتوراسیون (Denaturation) در دمای ۹۵°C به مدت ۳۰ ثانیه، مرحله جفت شدن (Annealing) در دمای ۵۸°C به مدت ۳۰ ثانیه، و مرحله گسترش (Extention) در دمای ۷۲°C به مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت مرحله گسترش پایانی در دمای ۷۲°C به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. هضم آنزیمی با حجم نهایی ۲۰ μl حاوی ۷ μl محصول PCR، ۰/۵ μl آنزیم BclI (Fermentas, Germany) و ۲ μl بافر G بصورت over night در دمای ۵۶°C انجام گرفت و سپس واکنش در دمای صفر درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه متوقف گردید. محصول هضم شده جهت الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲٪ (Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim, Germany) حاوی رنگ DNA (Pars Tous, Iran) Green Viewer U.V.P) قرار داده شد. در نهایت، تصویر حاصل در دستگاه ژل داگ (Company, Cambridge, UK) مشاهده و ثبت

$$n = \frac{(Z_{1-\alpha/2} + Z_{1-\beta})^2 \times (p_1q_1 + p_0q_0)}{(p_1 - p_0)^2}$$

با  $BMI \geq 25$  و  $BMI < 25$  نفر با  $BMI < 25$  در مردان و ۱۰۰ نفر با  $BMI \geq 25$  و  $BMI < 25$  نفر در زنان (مجموعاً ۴۰۰ نفر) تعیین گردید.

آنالیز آماری: تعادل هاردی-وینبرگ با توجه به فراوانی ژنوتیپ های مختلف MC4R با استفاده از آزمون  $\chi^2$  محاسبه گردید. با استفاده از تست Kolmogorov-Smirnov نرمال بودن توزیع متغیرها در گروه های مورد مطالعه ارزیابی شد. توزیع متغیرهای کمی در گروه ها بر اساس  $Mean \pm SD$  ارائه گردید. البته با توجه به پراکندگی داده های فعالیت فیزیکی، جهت مقایسه توزیع فعالیت فیزیکی در گروه های مورد مطالعه از میانه به جای میانگین و از دامنه میان چارکی (IQR) به جای انحراف معیار استفاده گردید.

تفاوت توزیع متغیرهای کمی در گروه های مورد مطالعه با توجه به سه گروه ژنوتیپی پلی مورفیسم MC4R (CC و CT، TT) با استفاده از آزمون های One-Way ANOVA و Kruskal-Wallis به ترتیب برای متغیرها با توزیع نرمال و بدون توزیع نرمال انجام گردید. تفاوت توزیع متغیرهای کیفی با توجه به ژنوتیپ های مختلف با استفاده از آزمون  $\chi^2$  صورت گرفت. ارتباط بین مدت فعالیت فیزیکی و فعالیت فیزیکی کل (بعنوان متغیرهای مستقل) و نمایه توده بدنی (بعنوان متغیر وابسته) با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R با استفاده از رگرسیون خطی مورد بررسی قرار گرفت. در مدل اول ارتباط خام (بدون تطبیق) این دو متغیر بررسی شد و در مدل دوم، این ارتباط برای سن، جنس و انرژی دریافتی با استفاده از روش Enter تطبیق شد. نتایج رگرسیون خطی به صورت بتا و فاصله اطمینان ۹۵٪ گزارش گردید. در تحلیل های مطالعه حاضر سطح معنی داری  $p < 0.05$  در نظر گرفته شد. جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS (Chicago, IL, USA) نسخه ۲۰ استفاده گردید.

## GPAQ Analysis Guide با استفاده از

ارزیابی شده و فعالیت فیزیکی از دو جنبه مدت فعالیت فیزیکی بر حسب hr/d و همچنین فعالیت فیزیکی کل (از نظر شدت و مدت) بر حسب METs-hr/wk بررسی گردید.

ارزیابی دریافت غذایی: اطلاعات مربوط به دریافت غذایی با استفاده از پرسشنامه ثبت سه روزه غذا گردآوری گردید. نوع و مقدار غذا و نوشیدنی مصرفی توسط شرکت کنندگان در طی سه روز (دو روز معمول هفته و یک روز تعطیل) و در هر ساعت شبانه روز ثبت گردید. بدین ترتیب در پرسشنامه مذکور اطلاعات دقیقی را از نظر مقدار غذای مصرفی مانند نان، سبزیجات، میوه ها، دسر ها، تنقلات، کیک ها و شیرینی ها، نوع محصولات لبنی و گوشت ها با محتوای چربی متفاوت، نوع روغن مصرفی در پخت غذا، روش پخت، اجزاء غذاهای خانگی و همچنین میزان غذای باقیمانده پس از صرف غذا، در مدت سه روز جمع آوری گردید. در این مطالعه جهت تعیین محتوای انرژی مواد غذایی ثبت شده در پرسشنامه از نرم افزار (Hearst Corp. San Nutritionist IV, Bruno, CA) استفاده گردید.

روش تعیین حجم نمونه: از آنجایی که مطالعه اصلی بر روی دو ژن (Neuropeptide Y) NPY و (Melanocortin Receptor 4) صورت گرفته است، حجم نمونه بر اساس ژن NPY با فراوانی آلی کمتر تعیین گردید. با توجه به این که فراوانی آلی مینور ژن NPY در افراد با اضافه وزن برابر ۶۰٪ - ۵۰٪ و در افراد نرمال برابر ۳۱٪ - ۳۰٪ می باشد (van Rossum et al. 2006)، حجم نمونه مورد نیاز محاسبه گردید. به منظور تعیین P0 و P1 فرمول حجم نمونه، از کمترین تفاوت اندازه های فوق یعنی ۵۰٪ و ۳۱٪ استفاده گردید. با کاربرد فرمول حجم نمونه در مطالعات تحلیلی (فرمول زیر) و در نظر گرفتن میزان خطای نوع اول  $\alpha = 0.05$  و خطای نوع دوم  $\beta = 0.20$ ، حجم نمونه برابر ۹۲ فرد در هر گروه تعیین گردید.

## نتایج

تعداد هاردی- واینبرگ در ژنوتیپ های مختلف MC4R (TT، CT و CC) در جمعیت مورد مطالعه برقرار می باشد ( $p = 0/58$ ). در این بررسی میانگین سنی افراد شرکت کننده در مطالعه برابر  $12/61 \pm 43/84$  بوده و هیچگونه ارتباط معنی داری بین متغیر سن و ژنوتیپ های مختلف MC4R مشاهده نگردید. همچنین فراوانی مردان در گروه های ژنوتیپی TT، CT و CC به ترتیب برابر  $39/4\%$ ،  $31/2\%$  و  $29/4\%$  بوده و ارتباط آماری معنی داری بین توزیع جنس در گروه های ژنوتیپی نشان داده نشد. سایر ویژگی های عمومی افراد با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R در جدول ۱ ارائه گردیده است. همانگونه که در جدول ۱ ملاحظه می گردد تنها بین میزان انرژی دریافتی و ژنوتیپ های مختلف MC4R اختلاف معنی دار آماری وجود دارد ( $p < 0/05$ ) همچنین بر اساس آنالیز Tukey Post Hoc (به دلیل برابری واریانس ها) به منظور مقایسه بین گروهی مشاهده گردید که میزان انرژی دریافتی در ژنوتیپ TT با ژنوتیپ CC دارای اختلاف معنی دار آماری می باشد ( $p < 0/05$ ). (جدول ۱).

به منظور بررسی همبستگی جنبه های مختلف فعالیت فیزیکی با نمایه توده بدنی با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R از مدل رگرسیون خطی چند متغیره استفاده گردید. همانگونه که در جدول شماره ۲ مشاهده می گردد بر اساس مدل رگرسیون خطی چند متغیره هم در مدل خام و هم در مدل تعدیل شده (بر اساس سن، جنس و انرژی دریافتی) همبستگی معنی داری بین میزان نمایه توده بدنی و مدت فعالیت فیزیکی ( $hr/d$ ) در ژنوتیپ CT نسبت به سایر ژنوتیپ ها وجود دارد ( $p < 0/05$ ).

همچنین در جدول ۳ نیز بین میزان نمایه توده بدنی و فعالیت فیزیکی کل هم در مدل خام و هم در مدل تعدیل شده (بر اساس سن، جنس و انرژی دریافتی)

همبستگی معنی داری بین میزان نمایه توده بدنی و فعالیت فیزیکی کل ( $METs-hr/wk$ ) در ژنوتیپ CT نسبت به سایر ژنوتیپ ها مشاهده می گردد ( $p < 0/05$ ).

## بحث

چاقی عمدتاً بصورت یک اختلال پیچیده حاصل از تداخل عوامل محیطی و ژنتیکی می باشد. شواهد حاکی از آن است که پلی مورفیسم MC4R ( $rs17782313$ ) یک عامل مهم ژنتیکی در توسعه چاقی بواسطه اختلال در سیستم هموستاز انرژی می باشد (Valette et al. 2013). نقصان فعالیت رسپتور های ملانوکورتین ۴ روی نوروں های پیش گانگلیونی سمپاتیکی سبب اختلال در اثرات تنظیمی ملانوکورتینی بر انرژی هزینه شده از سوی بدن می گردد (Balthasar et al. 2005). از آنجایی که در برخی مطالعات اثرات درمانی فعالیت فیزیکی بر عملکرد سیستم اعصاب مرکزی نشان داده شده است (Lin and Kuo 2013; Sarbadhikari and Saha 2006)، هدف مطالعه حاضر تعیین ارتباط بین فعالیت فیزیکی و نمایه توده بدنی با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R می باشد.

در برخی جوامع فراوانی آلل مینور پلی مورفیسم MC4R ( $rs17782313$ ) در محدوده ۲۵٪ تا ۳۱٪ گزارش شده است (Bauer et al. 2009; Liem et al. 2013; Liu et al. 2011; Valette et al. 2010)، اما یافته های مطالعه حاضر حاکی از فراوانی ۴۴٪ در جمعیت ایرانی می باشد.

یافته های این مطالعه نشان می دهد که در افراد هتروزیگوت (CT) نسبت به سایر ژنوتیپ ها میزان فعالیت فیزیکی هم از نظر مدت و هم از نظر شدت دارای همبستگی معنی داری با نمایه توده بدنی کمتر می باشد. بطوری که به ازاء افزایش یک واحد فعالیت فیزیکی بر حسب  $hr/d$  نمایه توده بدنی به میزان  $0/4 \text{ kg/m}^2$  و به ازاء افزایش یک واحد فعالیت فیزیکی بر حسب  $METs-$

ژن های سنتز کننده اسید های چرب بتواند اثر ژن های مرتبط با چاقی را تضعیف گرداند. البته مکانیسم مولکولی تداخل ژن - فعالیت فیزیکی همچنان ناشناخته باقی مانده است (Xi et al. 2011) از این رو مطالعات متعدد عمدتا اثر تداخلی فعالیت فیزیکی بر ارتباط بین پلی مورفیسم ها و تغییرات فنوتیپی را مورد بررسی قرار داده اند تا به درمان مشخصی برای افراد چاق با استعداد ژنتیکی دست یابند. اگرچه برخی مطالعات در زمینه ارتباط فعالیت فیزیکی با ژنوتیپ های مختلف MC4R تفاوت معنی دار بدست آورده اند (Xi et al. 2011) و برخی دیگر رابطه معنی آماری نشان نداده اند (Bauer et al. 2009; Liem et al. 2010; Qi et al. 2008; Corella et al. 2012)، اما تا کنون هیچ مطالعه ای ارتباط فعالیت فیزیکی با نمایه توده بدنی را با توجه به ژنوتیپ های مختلف MC4R مورد بررسی قرار نداده است. علاوه بر این، در مطالعات تجربی و انسانی مشاهده گردید که ژنوتیپ هتروزیگوت (CT) نسبت به ژنوتیپ هموزیگوت مغلوب (CC) دارای کاهش وزن بیشتری پس از عمل جراحی بای پس معدی می باشد. در این مطالعات نشان داده شد که کمبود کامل MC4R سبب اختلال در پاسخ به مداخله و کاهش وزن ناچیز می گردد. در نهایت پیشنهاد گردید که سیگنال دهی MC4R و وجود حداقل یک کپی نرمال منفرد از این ژن جهت واسطه گری اثرات کاهش وزن طی مداخله ضروری می باشد (Hatoum et al. 2012; Aslan et al. 2011). بدین ترتیب یک دلیل احتمالی بر وجود همبستگی بین فعالیت فیزیکی و نمایه توده بدنی در افراد هتروزیگوت و عدم وجود این همبستگی در هموزیگوت مغلوب، در مطالعه حاضر را می توان ضرورت سیگنال دهی MC4R در واسطه گری اثر مداخله ای ورزش بر کاهش نمایه توده بدنی بیان نمود. از آنجایی که این بررسی یک مطالعه مقطعی می باشد قادر به نشان دادن رابطه علت و معلولی نبوده و تنها می تواند فرضیه ای را جهت ارزیابی در مطالعات آینده نگر ارائه دهد (Levin 2006).

hr/wk نمایه توده بدنی به میزان  $0.1 \text{ kg/m}^2$  کاهش نشان می دهد.

بر اساس مطالعات تجربی اختلال عملکردی MC4R با پر خوری، هیپر انسولینمی، چاقی مفرط مرتبط می باشد. در این مطالعات نشان داده شد که موشهای هتروزیگوت از نظر میزان وزنگیری در حد متوسط بین هموزیگوت غالب و هموزیگوت مغلوب قرار دارند. همچنین مشاهده گردید که موشهای حامل آلل C نسبت به نوع هموزیگوت غالب با وجود دریافت مقدار ثابت غذا دارای وزن بیشتری می باشند، از این رو پیشنهاد گردید که احتمالا کاهش انرژی هزینه شده در حاملین آلل C دلیل بروز این تفاوت می باشد. مطالعات تکمیلی نشان داد که فعالیت MC4R در هسته پارا و تریکولار هیپوتالاموس مسئول کنترل دریافت غذا و در سایر نواحی سیستم عصبی مرکزی مسئول تنظیم انرژی هزینه شده می باشد (Hinney et al. 2013). در مطالعات انسانی بررسی افراد هتروزیگوت در جهش های مرتبط با فقدان عملکرد MC4R نشان داد که اختلال در مسیر های ملانوکورتینی منجر به کاهش تحریک پذیری سمپاتیکی و کاهش فعالیت اعصاب سمپاتیکی القاکننده لیپولیز می گردد (Sayk et al. 2010). از سوی دیگر در این مطالعات همسو با مطالعات تجربی یک ارتباط بیولوژیکی بین سیستم های ملانوکورتینریک و دوپامینریک و همچنین سیستم عصبی سمپاتیکی در افراد هتروزیگوت پیشنهاد گردیده است (Albayrak et al. 2011). شواهد حاکی از آن است که فعالیت فیزیکی منظم به واسطه افزایش فعالیت نوروترانسمیتری می تواند سبب افزایش سطوح و فعالیت برخی منوآمین ها مانند دوپامین و نوراپی نفرین گردد (Sarbadhikari and Saha 2006; Sutoo and Akiyama 2003; MacRae et al. 1987). از این رو احتمال می رود که فعالیت فیزیکی بتواند تا حدی دارای اثرات درمانی جبران کننده بر اختلال مسیر های ملانوکورتینی در تنظیم انرژی هزینه شده باشد. همچنین برخی مطالعات نشان داده اند که فعالیت فیزیکی ممکن است به واسطه تنظیم کاهشی بیان

نبوده و ممکن است با تعدادی اثرات ناخواسته همراه باشد (Hinne et al. 2013). از این رو انجام مطالعات بیشتر در زمینه ارتباط بین پلی مورفیسیم rs17782313 و جنبه های مختلف فعالیت فیزیکی ضروری به نظر می رسد تا بتوان به روش مطمئن تری در درمان افراد مستعد به لحاظ ژنتیکی دست یافت.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران جهت حمایت های مالی از مطالعه حاضر (طرح شماره "۲۳۵۹۳")، تشکر و قدردانی می گردد.

### نتیجه گیری

بطور کلی در افراد هتروزیگوت (CT) پلی مورفیسیم MC4R (rs17782313) فعالیت فیزیکی می تواند نقش موثری در کاهش نمایه توده بدنی ایفا نماید. همچنین به نظر می رسد که سیگنال دهی MC4R جهت موفقیت روش های مداخله ای در کاهش وزن (مانند فعالیت بدنی) ضروری باشد. از آنجایی که رستپور MC4R در فرایند های فیزیولوژیکی متعددی شرکت دارد مداخلات فارماکولوژیکی در کنترل وزن هدف آسانی

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار اندازه های تن سنجی، انرژی دریافتی و فعالیت فیزیکی برحسب ژنوتیپ های مختلف MC4R در جمعیت مورد مطالعه

متغیر	ژنوتیپ			p-value
	CC تعداد=۱۰۷	CT تعداد=۱۲۴	TT تعداد=۱۶۹	
وزن (کیلوگرم) <sup>۱</sup>	۷۱/۲۷±۱۱/۵۴	۷۳/۰۴±۱۲/۰۲	۷۱/۹۲±۱۱/۶۳	*.۰/۵
قد (سانتیمتر) <sup>۱</sup>	۱۶۵/۰۴±۱۰/۳۴	۱۶۶/۲۷±۹/۵۲	۱۶۴/۴۱±۱۰/۱۴	**۰/۴۵
نمایه توده بدنی (kg/m <sup>2</sup> ) <sup>۱</sup>	۲۶/۲۲±۴/۰۵	۲۶/۵۱±۴/۵۳	۲۶/۶۴±۴/۰۴	*.۰/۷
انرژی دریافتی (kcal/d) <sup>۱</sup>	۲۲۸۴/۹۸±۵۶۲/۰۴	۲۱۱۱/۹۷±۵۴۲/۴۵	<sup>a</sup> ۲۰۳۱/۵۷±۵۰۳/۹۴	*.۰/۰۰۱
مدت فعالیت فیزیکی (hr/d) <sup>۲</sup>	۰/۴۱(۱/۰۴)	۰/۵۷(۱/۳۳)	۰/۴۲(۱/۴۴)	**۰/۴۵
شدت و مدت فعالیت فیزیکی (METs-hr/wk) <sup>۲</sup>	۱۱/۰۰(۳۶/۰۰)	۲۰/۰۰(۴۱/۳۳)	۱۲/۰۰(۵۴/۸۳)	**۰/۵

\* One way ANOVA, \*\*Kruskal wallis

<sup>۱</sup> Mean ± SD, <sup>۲</sup>Median (IQR)

<sup>a</sup>Tukey Post Hoc

جدول ۲- ارتباط بین مدت فعالیت فیزیکی و نمایه توده بدنی برحسب ژنوتیپ های مختلف MC4R در مدل های رگرسیون خطی

متغیر	ژنوتیپ	نمایه توده بدنی							
		مدل ۲**			مدل ۱*				
		p-value**	فاصله اطمینان ۹۵٪		p-value*	فاصله اطمینان ۹۵٪			
		حد بالا	حد پایین		حد بالا	حد پایین			
فعالیت فیزیکی (hr/d)	CT/TT+CC	۰/۰۴	-۰/۰۱	-۰/۷۹	-۰/۴۰	۰/۰۱	-۰/۱۱	-۰/۹۱	-۰/۵۱
	CC/TT+CT	۰/۸	۰/۴۲	۰/۲۱	-۰/۳۴	۰/۳۴	۰/۲۱	-۰/۶۰	-۰/۱۹

\* مدل ۱: مدل خام

\*\* مدل ۲: مدل تعدیل شده بر اساس سن، جنس و انرژی دریافتی

جدول ۳- ارتباط بین فعالیت فیزیکی کل و نمایه توده بدنی برحسب ژنوتیپ های مختلف MC4R در مدل های رگرسیون خطی

متغیر	ژنوتیپ	نمایه توده بدنی							
		مدل ۲**			مدل ۱*				
		p-value**	فاصله اطمینان ۹۵٪		p-value*	فاصله اطمینان ۹۵٪			
		حد بالا	حد پایین		حد بالا	حد پایین			
فعالیت فیزیکی (METs-hr/wk)	CT/TT+CC	۰/۰۲	-۰/۰۰۱	-۰/۰۲	۰/۰۱	۰/۰۰۵	-۰/۰۰۵	-۰/۰۲	-۰/۰۱
	CC/TT+CT	۰/۹	۰/۰۱	-۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۳۲	۰/۰۰۶	-۰/۰۱	-۰/۰۰۶

\* مدل ۱: مدل خام

\*\* مدل ۲: مدل تعدیل شده بر اساس سن، جنس و انرژی دریافتی

## References

- Albayrak, O., Albrecht, B., Scherag, S., Barth, N., Hinney, A. and Hebebrand, J., 2011. Successful methylphenidate treatment of early onset extreme obesity in a child with a melanocortin-4 receptor gene mutation and attention deficit/hyperactivity disorder. *Eur J Pharmacol*, 660, pp. 165–70.
- Aslan, I., Ranadive, S., Ersoy, B., Rogers, S., Lustig, R. and Vaisse, C., 2011. Bariatric surgery in a patient with complete MC4R deficiency. *International journal of obesity (2005)*, 35(3), pp. 457–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20733581> [Accessed February 4, 2013].
- Balthasar, N., Dalgaard, L.T., Lee, C.E., Yu, J., Funahashi, H., Williams, T., Ferreira, M., Tang, V., McGovern, R., Kenny, C.D., Christiansen, L.M., Edelstein, B., Boss, C. and Lowell B.B., 2005. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell*, 123(3), pp. 493–505. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16269339> [Accessed December 3, 2012].
- Bauer, F., Elbers, C., Adan, R., Loos, R., Onland-moret, N., Grobbee, D., Vliet-ostaptchouk, J., Wijmenga, C. and Schouw, Y., 2009. Obesity genes identified in genome-wide association studies are associated with adiposity measures and potentially with nutrient-specific food preference. *Am J Clin Nutr*, 90, pp. 951–9.
- Chagnon, Y., Rankinen, T., Snyder, E., Weisnagel, S.J., Pérusse, L. and Bouchard, C., 2003. The human obesity gene map: the 2002 update. *Obesity research*, 11(3), pp.313–67. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12634430>.
- Corella, D., Ortega-Azorín, C., Sorlí, J.V., Covas, M.I., Carrasco, P., Salas-Salvadó, J. and Martínez-González, M., 2012. Statistical and Biological Gene-Lifestyle Interactions of MC4R and FTO with Diet and Physical Activity on Obesity: New Effects on Alcohol Consumption. *PLoS one*, 7(12), e52344. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3528751&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed January 7, 2013].
- Esteghamati, A., Khalilzadeh, O., Rashidi, A., Meysamie, A., Haghazali, M., Asgari, F., Abbasi, M., Rastad, S. and Gouya, M., 2009. Association between physical activity and insulin resistance in Iranian adults: National Surveillance of Risk Factors of Non-Communicable Diseases (SuRFNCD-2007). *Preventive medicine*, 49(5), pp. 402–406. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19744508> [Accessed March 30, 2014].
- Hatoum, I.J., Stylopoulos, N., Vanhoose, A.M., Boyd, K.L., Yin, D.P. and Ellacott, K.L., 2012. Melanocortin-4 receptor signaling is required for weight loss after gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab*, 97, pp. 1023–1031.
- Hinney, A., Volckmar, A.L. and Knoll, N., 2013. *Melanocortin-4 receptor in energy homeostasis and obesity pathogenesis*. 1st ed., Elsevier Inc. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23317785> [Accessed September 6, 2014].
- Kremer, P., Elshaug, C., Leslie, E., Toumbourou, J.W., Patton, G.C. and Williams, J., 2014. Physical activity, leisure-time screen use and depression among children and young adolescents. *J Sci Med Sport*, 17(2), pp. 183–187.
- Larijani, B., Moayyeri, A., Keshtkar, A.A., Hossein-Nezhad, A., Soltani, A., Bahrami, A., Omrani, G.H., Rajabian, R. and Nabipour, I., 2006. Peak bone mass of Iranian population: the Iranian Multicenter Osteoporosis Study. *Journal of clinical densitometry: the official journal of the International Society for Clinical*

- Densitometry*, **9**(3), pp. 367–74. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16931358> [Accessed July 6, 2014].
- Levin, K.A., 2006. Study design III: Cross-sectional studies. *Evidence-based dentistry*, **7**(1), pp. 24–5. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16557257> [Accessed July 15, 2014].
- Liem, E.T., Vonk, J.M., Sauer, P.J., Steege, G., Oosterom, E., Stolk, R.P. and Snieder, H., 2010. Influence of common variants near INSIG2, in FTO, and near MC4R genes on overweight and the metabolic profile in adolescence: the TRAILS (TRacking Adolescents' Individual Lives Survey) Study 1 – 3. *Am J Clin Nutr*, **91**, pp. 321–328.
- Lin, T.W. and Kuo, Y.M., 2013. Exercise benefits brain function: the monoamine connection. *Brain sciences*, **3**(1), pp.39–53. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4061837&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Liu, G., Zhu, H., Dong, Y., Podolsky, R.H., Treiber, F. and Snieder, H., 2011. Influence of common variants in FTO and near INSIG2 and MC4R on growth curves for adiposity in African- and European-American youth. *European journal of epidemiology*, **26**(6), pp. 463–73. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3115048&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 9, 2013].
- MacRae, P.G., Spirduso, W.W., Cartee, G.D., Farrar, R.P. and Wilcox, R.E., 1987. Endurance training effects on striatal D2 dopamine receptor binding and striatal dopamine metabolite levels. *Neurosci. Lett.*, **79**, pp. 138–144.
- Ogden, C.L., Carroll, M., Kit, B. and Flegal, K., 2010. Prevalence of obesity in the United States, 2009–2010. *National health and Nutrition Examination Survey*, (82), pp. 1–7. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22617494>.
- Poirier, P., Giles, T.D., Bray, G., Hong, Y., Stern, J.S., Xavier, Pi-Sunyer, F. and Eckel, R.H., 2006. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation, and effect of weight loss. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, **26**(5), pp.968–976. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16627822> [Accessed December 11, 2012].
- Qi, L., Kraft, P., Hunter, D.J. and Hu, F.B., 2008. The common obesity variant near MC4R gene is associated with higher intakes of total energy and dietary fat, weight change and diabetes risk in women. *Human molecular genetics*, **17**(22), pp. 3502–8. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2572696&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed February 9, 2013].
- Razquin, C., Marti, A. and Martinez, J.A., 2011. Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPAR $\gamma$ . Approaches for personalized nutrition. *Molecular nutrition and food research*, **55**(1), pp. 136–49. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21207518> [Accessed November 4, 2012].
- Rossi, J., Balthasar, N., Olson, D., Scott, M., Berglund, E., Lee, C.E., Choi, M.J., Lauzon, D., Lowell, B.B. and Elmquist, J.K., 2011. Melanocortin-4 receptors expressed by cholinergic neurons regulate energy balance and glucose homeostasis. *Cell metabolism*, **13**(2), pp. 195–204. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3033043&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed December 8, 2012].
- Rossum, C.T.M., H. Pijl, H., Adan, R.H., Hoebee, B. and Seidell, J.C., 2006. Polymorphisms in the NPY and AGRP genes and body fatness in Dutch adults. *International journal of obesity (2005)*, **30**(10), pp. 1522–8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16568137> [Accessed November 8, 2012].
- Sarbadhikari, S.N. and Saha, A.K., 2006. Moderate exercise and chronic stress produce counteractive effects on different areas of the brain by acting through

- various neurotransmitter receptor subtypes: A hypothesis. *Theor. Biol. Med. Model.*, **3**(33).
- Sayk, F., Heutling, D., Dodt, C., Iwen, K.A., Wellhoner, J.P. and Scherag, S., 2010. Sympathetic function in human carriers of melanocortin-4 receptor gene mutations. *J Clin Endocrinol Metab*, **95**, pp. 1998–2002.
- Sutoo, D. and Akiyama, K., 2003. Regulation of brain function by exercise. *Neurobiol. Dis.*, **13**, pp. 1–14.
- Valette, M., Bellisle, F., Carette, C., Poitou, C., Dubern, B., Paradis, G., Herberg, S., Muzard, L., Clément, K. and Czernichow, S., 2013. Eating behaviour in obese patients with melanocortin-4 receptor mutations: a literature review. *International journal of obesity*, **37**(8), pp. 1027–35. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23147118> [Accessed August 13, 2014].
- WHO., 2008. Global Physical Activity Questionnaire (GPAQ). World Health Organization, Geneva Switzerland. Available from: [www.who.int/entity/chp/steps/resources/GPAQ\\_Analysis\\_Guide.pdf](http://www.who.int/entity/chp/steps/resources/GPAQ_Analysis_Guide.pdf).
- Xi, B., Wang, C., Wu, L., Zhang, M., Shen, Y., Zhao, X., Wang, X. and Mi, J., 2011. Influence of physical inactivity on associations between single nucleotide polymorphisms and genetic predisposition to childhood obesity. *American journal of epidemiology*, **173**(11), pp. 1256–62. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21527513> [Accessed June 5, 2013].
- Yang, W., Kelly, T. and He, J., 2007. Genetic epidemiology of obesity. *Epidemiologic reviews*, **29**, pp.49–61. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17566051> [Accessed November 6, 2012].
- Zlatohlavek, L., Vrablik, M., Motykova, E., Ceska, R., Vasickova, L., Dlouha, D. and Hubacek, J., 2013. FTO and MC4R gene variants determine BMI changes in children after intensive lifestyle intervention. *Clinical biochemistry*, **46**(4-5), pp. 313–6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23201545> [Accessed september 6, 2014].

## Association between physical activity and body mass index in different melanocortin receptor 4 (MC4R) genotypes

**Khalilitehrani, A.**, M.Sc. Student, Department of Cellular-Molecular Nutrition, School of Nutrition Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Qorbani, M.**, Ph.D. Assistant professor, Department of Community Medicine, School of Medicine, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

**Hosseini, S.**, Ph.D. Assistant professor, Obesity and Eating Habits Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular-Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

**Pishva, H.**, Ph.D. Assistant professor, Department of Cellular-Molecular Nutrition, School of Nutrition Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran-Corresponding Author: pishvahm@tums.ac.ir

Received: Jun 17, 2015

Accepted: Oct 11, 2015

### ABSTRACT

**Background and Aim:** Malfunction in the energy homeostasis central system resulting from melanocortin receptor 4 (MC4R) mutations is considered to be an important factor in development of obesity. Although physical activity can weaken the effect of obesity-related genes, very few investigations have been carried out in relation to the MC4R gene. This study was conducted to investigate the association between physical activity and body mass index (BMI) in different MC4R genotypes (rs17782313).

**Materials and Methods:** A sample of 400 individuals was randomly selected from among subjects participating in the Iranian Multicenter Osteoporosis Study (IMOS). Their weights and heights were measured and their dietary intakes and physical activity data assessed using validated questionnaires. In addition, the different MC4R genotypes (rs17782313) were determined in the subjects by the PCR-RFLP method. Finally, using the adjusted multiple linear regression model, the probable effect of physical activity on BMI in different MC4R polymorphisms (rs17782313) was determined.

**Results:** Only in individuals with the CT genotype was a statistically significant association ( $p < 0.05$ ) observed between body mass index and physical activity (hr/d and METs-hr/wk).

**Conclusions:** Physical activity, particularly in heterozygous MC4R polymorphism individuals (rs17782313), can play an effective role in reducing body mass index.

**Keywords:** Body Mass Index (BMI), Physical activity, Melanocortin receptor 4 (MC4R), Polymorphism