

ارتباط پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین با بیماری عروق کرونر در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲

علیرضا استقامتی^۱، نسرین منصورنیا^{۱*}، منوچهر نخجوانی^۱، محمدعلی منصورنیا^۲، عبدالرحیم نیک ضمیر^۳، عباس یوسفی زاده^۱، رضا صفری^۱

چکیده

مقدمه: آدیپونکتین، پروتئین پلاسمایی می باشد که به میزان فراوان از آدیپوسیت ها ترشح می شود. این ماده علاوه بر افزایش حساسیت به انسولین، اثرات محافظت کننده بر روی عروق و میوکارد دارد. هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین در موقعیت $G > T$ +۲۷۶ با بیماری عروق کرونر در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ می باشد.

روش ها: تعداد ۲۴۱ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ وارد مطالعه شدند. گروه مورد شامل ۱۱۴ بیمار با سابقه انفارکتوس حاد میوکارد و یا کاهش مساوی یا بیش از ۵۰٪ قطر حداقل یکی از عروق اصلی کرونر در آنژیوگرافی عروق کرونر بودند. همچنین گروه شاهد را افراد با سن بیش از ۳۵ سال بدون علائم و شواهد ایسکمی در EKG به همراه تست ورزش طبیعی تشکیل دادند.

یافته ها: بین پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین در موقعیت $G > T$ +۲۷۶ با بیماری عروق کرونر ارتباط قابل توجه وجود داشت. موتاسیون آلل G نسبت به T، شانس بیماری عروق کرونر را کاهش داد (نسبت شانس تعدیل یافته برابر با ۰/۳۹، فاصله اطمینان ۹۵٪: ۰/۶۸-۰/۲۲، $P < /۰۰۱$).

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین در موقعیت $G > T$ +۲۷۶ با بیماری عروق کرونر ارتباط دارد.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم، ژن آدیپونکتین، بیماری عروق کرونر، دیابت نوع ۲

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- دپارتمان آمار زیستی و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- دانشگاه علوم پزشکی اهواز

* **نشان:** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، تلفن: ۸۸۲۲۰۰۲۷، نمابر:

۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

مقدمه

آدیپونکتین پروتئین پلاسمایی می باشد که به میزان فراوان از آدیپوسیت ها ترشح می شود. این ملکول علاوه بر افزایش حساسیت به انسولین، سبب افزایش تولید اکسید نیتریک و مهار تولید ROS در سلول های اندوتلیال می شود، همچنین سلول ها را از التهاب ناشی از مواجهه با سطوح بالای گلوکز و TNF حفظ می کند [۱].

مطالعات اخیر نشان داده اند که آدیپونکتین، میزان بروز کلاس A گیرنده های بیگانه خوار در ماکروفاژها را مهار کرده، منجر به کاهش برداشت LDL اکسیده و تجمع داخل سلولی استرهای کلسترول می شود. نشان داده شده که سطوح پایین آدیپونکتین در پلاسما می تواند فرد را مستعد به دیابت نوع ۲ و بیماری عروق کرونر کند [۲].

ژن آدیپونکتین بر روی کروموزوم ۲۷q۳۴ که لوکوس مستعد به دیابت به شمار می رود، قرار دارد. بررسی های متعددی به منظور بررسی ارتباط پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNPs) این ژن و خطر ایجاد دیابت نوع ۲، چاقی و سطوح سرمی آدیپونکتین صورت گرفته اند ولی مطالعات اندکی رابطه پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین و بیماری عروق کرونر را به ویژه در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار داده اند [۳]. در این راستا مطالعه حاضر با هدف بررسی ارتباط بیماری عروق کرونر و پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین در موقعیت ۲۷۶+ در جمعیت ایرانی انجام گرفت.

روش ها

به طور کلی، ۲۴۱ (میانگین سنی 55 ± 10 سال) بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲، پس از اخذ رضایت نامه کتبی آگاهانه وارد مطالعه شدند. دیابت نوع ۲ به مواردی اطلاق گردید که فرد دو نوبت قند خون ناشتای مساوی یا بالاتر از 126 mg/dl و یا علائم هیپرگلیسمی به همراه قند تصادفی خون بیشتر یا مساوی 200 mg/dl داشته و از ابتدای درمان وابسته به انسولین نبودند. گروه مورد شامل ۱۱۴ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ با سابقه انفارکتوس حاد میوکارد یا کاهش مساوی یا بیش از ۵۰٪ قطر حداقل یکی از عروق اصلی کرونر در

آنژیوگرافی عروق کرونر بودند. همچنین گروه شاهد را بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ با سن بیش از ۳۵ سال بدون علائم و شواهد ایسکمی در EKG و تست ورزش طبیعی تشکیل دادند. هیچ یک از بیماران از انسولین جهت کنترل قند خون استفاده نمی کردند و سابقه مصرف سیگار نیز نداشتند. مشخصات دموگرافیک و بالینی بیماران شامل سن، جنس، مدت ابتلا به دیابت، نمایه توده بدنی (BMI)، اختلالات همراه شامل سابقه دیس لیپیدمی و افزایش فشارخون درج شد. از بیماران نمونه خون وریدی گرفته شده، سرم جهت تعیین پارامترهای شیمیایی جدا گردید. همچنین مقداری از نمونه خون در لوله حاوی EDTA ریخته شده و پلاسما آن جدا شد. پس از استخراج DNA گویچه های سفید، با استفاده از روش های PCR و RFLP، پلی مورفیسم در موقعیت $T > 276G$ ژن آدیپونکتین تعیین شد.

داده های دموگرافیک و بالینی با مقیاس کمی به صورت میانگین \pm انحراف معیار و داده های کیفی به صورت فراوانی و فراوانی نسبی (درصد) به تفکیک گروه مورد و شاهد توصیف شدند. برای بررسی رابطه یک متغیر کمی و یک متغیر کیفی از آزمون T مستقل استفاده شد و در صورت لزوم از تبدیل داده ها و یا آزمون Mann - Whitney U استفاده شد. برای بررسی رابطه دو متغیر کیفی از آزمون Chi-square و در صورت لزوم از Fisher's exact test استفاده شد. برای تعیین اثر تعدیل شده، ژنوتیپ (به صورت متغیر رتبه ای براساس تعداد آلل موتاسیون یافته) به همراه متغیرهای جنس، سن، BMI، تری گلیسرید، LDL، HDL، لگاریتم HbA_{1C} و $HOMA_{IR}$ ، پرفشاری خون و جذر مدت دیابت وارد مدل رگرسیون لوژیستیک شدند. کلیه مراحل توصیف و تحلیل توسط نرم افزارهای SPSS-11 و STATA-9 انجام شد. سطح معنی داری به صورت $P < 0.05$ تعریف شد.

یافته ها

مشخصات دموگرافیک و بالینی پایه بیماران به تفکیک گروه مورد و شاهد در جدول ۱ نشان داده شده اند.

جدول ۱- مشخصات دموگرافیک و بالینی پایه بیماران در دوگروه مورد و شاهد

متغیر	مورد	شاهد
جنس (مرد) [†]	۷۰ (۶۱/۴)**	۵۶ (۴۴/۱)
سن (سال) [†]	۶۱ (۹)*	۵۱ (۸)
مدت دیابت (سال) [†]	۷/۶ (۵/۸)*	۳/۷ (۴)
نمایه توده بدنی (kg/m ²)	۲۸/۴ (۴/۵)*	۲۹/۵ (۴/۶)
هموگلوبین گلیکوزیله (%)	۷/۵ (۱/۳)*	۷/۱ (۱/۶)
انسولین ناشتا (μu/ml)	۹/۱ (۵/۰۷)*	۱۰ (۵/۲)
مقاومت به انسولین (HOMA)	۳/۴ (۱/۹)*	۳/۸ (۲/۳)
فشارخون سیستولی (mmHg) [†]	۱۳۲ (۱۶)*	۱۲۴ (۱۷)
فشارخون دیاستولی (mmHg)	۸۱ (۸)*	۷۹ (۹)
LDL (mg/dl) [†]	۹۲ (۳۰)*	۱۱۲ (۴۱)
HDL (mg/dl)	۴۴ (۱۱)*	۴۳ (۱۰)
تری گلیسرید (mg/dl) [†]	۱۵۴ (۶۶)*	۲۱۳ (۱۳۴)
سابقه فشارخون بالا (دارد/ندارد) [†]	۸۱ (۷۱)**	۳۷ (۲۹)

* (انحراف معیار) میانگین ** (فراوانی نسبی) فراوانی † معنی دار در سطح خطای ۰/۰۵
 آنالیز آماری استفاده شده: χ^2 برای متغیرهای جنس و سابقه فشارخون بالا t-test مستقل برای متغیرهای سن، نمایه توده بدنی (به صورت لگاریتم)، مدت دیابت (به صورت جذر)، فشارخون، HDL، LDL، و تری گلیسرید و Mann-Whitney U برای متغیرهای هموگلوبین گلیکوزیله و مقاومت به انسولین.
 تعداد گروه مورد: ۱۱۴ بیمار دیابتی نوع ۲ مبتلا به بیماری عروق کرونر.
 تعداد گروه شاهد: ۱۲۷ بیمار دیابتی نوع ۲ بدون شواهدی از بیماری عروق کرونر.

توزیع فراوانی ژنوتیپ ژن آدیپونکتین در موقعیت +۲۷۶ یک آلل G به T در موقعیت +۲۷۶، شانس بیماری عروق در گروه بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر و شاهد متفاوت بود. (P= ۰/۰۲۳) (جدول ۲)؛ همچنین موتاسیون کروموزوم ۲۷۶ در موقعیت +۲۷۶، شانس بیماری عروق در گروه بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر و شاهد متفاوت بود. (P= ۰/۰۰۷) (جدول ۳).

جدول ۲- توزیع فراوانی ژنوتیپ آدیپونکتین در موقعیت +۲۷۶ در گروه مورد و شاهد

ژنوتیپ	TT	GT	GG
مورد (n=۱۱۴)	۸ (۷/۰)*	۳۰ (۲۶/۳)	۷۶ (۶۶/۷)
شاهد (n=۱۲۷)	۱۷ (۱۳/۴)	۴۷ (۳۷/۳)	۶۳ (۴۹/۶)
* (فراوانی نسبی) فراوانی	P = ۰/۲۳	$\chi^2(2) = ۷/۵۳$	$\chi^2(1) \text{ trend} : ۷/۱۹ ; P = ۰/۰۰۷$

جدول ۳ مدل رگرسیون لجستیک از ارتباط تعدیل شده بیماری عروق کرونر و متغیر ژنوتیپ را به صورت متغیر رتبه‌ای یا امتیاز (Score) نمایش می‌دهد (جدول ۳).

جدول ۳- مدل رگرسیون لجستیک چند گانه از ارتباط تعدیل شده بیماری عروق کرونر و پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین

متغیر	نسبت شانس	فاصله اطمینان ۹۵٪ برای نسبت شانس
جنس (مرد)	۲/۴۲	۱/۲۳-۴/۸۰
سن (۱۰ سال)	۲	۱-۳
مدت دیابت (جذر)	۱/۹	۱/۳-۲/۷
سابقه فشارخون بالا (دارد/ندارد)	۴/۵	۲/۲-۹/۱
ژنوتیپ*	۰/۳۹	۰/۲۲-۰/۶۸

* GT نسبت به GG و TT نسبت به GT

P: ۰/۰۱ برای متغیر جنس و برای سایر متغیرها < ۰/۰۰۱

بحث

از میان پلی مورفیسم‌های مختلف ژن آدیپونکتین که تا به حال مورد بررسی قرار گرفته‌اند، پلی مورفیسم $G > T$ ۲۷۶ + واقع در ایترون ۲ این ژن، به ویژه همراه با مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ بوده است [۵، ۴]. همچنین برخی مطالعات حاکی از اثرات ضد التهابی و ضد آترواسکلروزی آدیپونکتین بوده و همراهی قوی بین عوامل خطر کاردیوواسکولر و این سیتوکین گزارش شده است [۸-۶].

بررسی ما در جمعیت دیابتی، نشان داد که موتاسیون آلل G به T در موقعیت ۲۷۶ + ژن آدیپونکتین، خطر بیماری عروق کرونر را کاهش می‌دهد و این اثر مستقل از عوامل مخدوش کننده بالقوه از قبیل سن، جنس و سابقه پرفشاری خون می‌باشد. مطالعات مختلف که به بررسی رابطه پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNPs) ژن آدیپونکتین و بیماری عروق کرونر پرداختند، نتایج متفاوتی در این زمینه، گزارش کردند.

مطالعه Bacci و همکارانش بر روی بیماران دیابتی در ایتالیا، رابطه SNP ژن آدیپونکتین در موقعیت ۲۷۶ + را با بیماری عروق کرونر نشان داد [۹]. همچنین Qi L و همکارانش در یک گروه مردان دیابتی به نتیجه مشابهی رسیدند [۱۰]. Fillippi E و همکاران مطالعه‌ای را با هدف ارزیابی ارتباط پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین ($G > T$ +276, $G > T$ +45) و بیماری عروق کرونر و تاثیر آن دو بر سطوح آدیپونکتین انجام دادند. یافته‌های آنها نشان داد که همراهی آشکار بین $G > T$ +276 SNP در ژن آدیپونکتین و بیماری عروق کرونر وجود دارد [۱۱].

بررسی Pischon T و همکارانش که با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین از جمله $G > T$ +276 و بیماری عروق کرونر انجام شده بود [۱۲] و مطالعه Jung CH که به بررسی ارتباط فوق الذکر در یک جمعیت غیردیابتی آسیایی پرداخته بود، نتوانستند هیچگونه همراهی قابل توجه بین پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین و بیماری عروق کرونر نشان دهد [۱۳]. همچنین Lacquemcent و همکاران در مطالعه خود که به بررسی ارتباط چند پلی مورفیسم ژن

آدیپونکتین و بیماری عروق کرونر در بیماران دیابتی فرانسوی و سوئیسی پرداختند، تنها توانستند نشان دهند که حاملین آلل G در موقعیت ۴۵ + ژن آدیپونکتین در خطر بیشتر ابتلا به بیماری عروق کرونر قرار دارند. هر چند بین سایر SNP های مورد مطالعه از جمله $G > T$ +276 و بیماری عروق کرونر رابطه‌ای نیافتند [۱۴]. Menzaghi C و همکاران در فرا تحلیلی بر روی چهار مطالعه که با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین و بیماری قلبی عروقی انجام شده بود، نشان دادند که همراهی قابل ملاحظه‌ای بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین در موقعیت ۲۷۶ + و کاهش خطر بیماری قلبی- عروقی وجود دارد [۳].

گرچه در مطالعه ما سطح آدیپونکتین سرم اندازه‌گیری نشد، در مطالعات قبلی هم نتایج ضد و نقیضی در ارتباط با سطح آدیپونکتین و پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین گزارش شده است. علاوه بر آن، مشخص نیست که سطوح سرمی آدیپونکتین نمایانگر میزان واقعی آن در بافت هدف از قبیل فضای زیر اندوتلیال باشد [۱۵]. در واقع افزایش خطر بیماری عروق کرونر همراه با پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین می‌تواند از طریق عملکرد غیر موثر، سطوح پایین آدیپونکتین در پلاسما یا توسط سایر سازوکارهایی باشد که در پاتوژنز آترواسکلروز نقش دارند و تا به حال شناسایی نشده‌اند [۸]. به طور خلاصه بررسی ما توانست همراهی پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین در موقعیت ۲۷۶ + و بیماری عروق کرونر را در یک جمعیت دیابتی در ایران نشان دهد. هر چند برای تایید رابطه فوق نیاز به مطالعات بیشتر در نژادهای مختلف و در جمعیت‌های دیابتی و غیردیابتی می‌باشد.

سپاسگزاری

از همکاران محترم در بخش قلب و عروق بیمارستان امام خمینی، پرسنل محترم آزمایشگاه بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی تهران و آقای دکتر زوار رضا که در این پژوهش ما را یاری دادند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

مأخذ

1. Goldstein BJ, Scalia RG, Ma XL. Protective vascular and myocardial effects of adiponectin. *Nat Clin Pract Cardiovasc* 2009; 6(1):27-35.
2. Ouchi N, Kihara S, Arita Y, Nishida M, Matsuyama A, Okamoto Y. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, suppresses lipid accumulation and class A scavenger receptor expression in human monocyte-derived macrophages. *Circulation* 2001; 103(8):1057-1063.
3. Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. Genetic Influences of Adiponectin on Insulin Resistance, Type 2 Diabetes, and Cardiovascular Disease. *Diabetes* 2007; 56(5):1198-209
4. Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. *Diabetes* 2002; 51(2):536-40.
5. Menzaghi C, Ercolino T, Di Paola R, Berg AH, Warram JH, Scherer PE, et al. A haplotype at the adiponectin locus is associated with obesity and other features of the insulin resistance syndrome. *Diabetes* 2002 ;51(7):2306-12.
6. Ouchi N, Kobayashi H, Kihara S, Kumada M, Sato K, Inoue T, et al. Adiponectin stimulates angiogenesis by promoting cross-talk between AMP-activated protein kinase and Akt signaling in endothelial cells. *J Biol Chem* 2004; 279(2):1304-9.
7. Okamoto Y, Arita Y, Nishida M, Muraguchi M, Ouchi N, Takahashi M, et al. An adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, adheres to injured vascular walls. *Horm Metab Res* 2000; 32(2):47-50.
8. Sattar N, Wannamethee G, Sarwar N, Tchernova J, Cherry L, Wallace AM, et al. Adiponectin and coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis. *Circulation* 2006; 114(7):623-9.
9. Bacci S, Menzaghi C, Ercolino T, Ma X, Rauseo A, Salvemini L, et al. The +276 G/T single nucleotide polymorphism of the adiponectin gene is associated with coronary artery disease in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2004; 27(8):2015-20.
10. Qi L, Li T, Rimm E, Zhang C, Rifai N, Hunter D, et al. The +276 polymorphism of the APM1 gene, plasma adiponectin concentration, and cardiovascular risk in diabetic men. *Diabetes* 2005; 54(5):1607-10.
11. Filippi E, Sentinelli F, Romeo S, Arca M, Berni A, Tiberti C, et al. The adiponectin gene SNP +276 G > T associates with early-onset coronary artery disease and with lower levels of adiponectin in younger coronary artery disease patients (age < or =50 years). *J Mol Med* 2005; 83(9):711-9
12. Pischon T, Pai JK, Manson JE, Hu FB, Rexrode KM, Hunter D, et al. Single Nucleotide Polymorphisms at the Adiponectin Locus and Risk of Coronary Heart Disease in Men and Women. *Obesity* 2007; 15(8):2051-60.
13. Jung CH, Rhee EJ, Kim SY, Shin HS, Kim BJ, Sung KC, et al. Associations between two single nucleotide polymorphisms of adiponectin gene and coronary artery diseases. *Endocr J* 2006; 53(5):671-7.
14. Lacquemant C, Froguel P, Lobbens S, Izzo P, Dina C, Ruiz J. The adiponectin gene SNP+45 is associated with coronary artery disease in type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabet Med* 2004; 21(7):776-81.
15. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J, et al. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Biol Chem* 2002; 277(29):25863-6.