

بررسی فراوانی پلی مورفیسم $T/G+45^*$ ژن آدیپونکتین در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در یک جمعیت تهرانی

شیرین حسینی رنجبر^۱، جواد توکلی یزاز^{۱*}، پروین امیری^۱، مهسا محمدآملی^۱، باقر لاریجانی^۱

چکیده

مقدمه: آدیپونکتین یک پپتید مترشحه از بافت چربی است که به خاطر ایجاد حساسیت به انسولین و اثرات ضدآتروژنی مورد توجه قرار گرفته است. پلی مورفیسم های ژن آدیپونکتین مرتبط با سطح سرمی آدیپونکتین، BMI، حساسیت به انسولین و دیابت نوع ۲ می باشند. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی ژنوتیپها و آلل های پلی مورفیسم ژن آدیپونکتین در موقعیت $T/G+45$ و بررسی ارتباط آن با دیابت نوع ۲ در جمعیت تهران میباشد.

روشها: افراد دیابتی از کلینیک دیابت و گروه کنترل غیردیابتی با محدوده سنی ۶۴-۲۵ سال بوده و از ناحیه ۱۷ تهران انتخاب شدند. در این مطالعه بررسی فراوانی پلی مورفیسم $T/G+45$ آدیپونکتین در ۷۰ فرد نرمال و ۸۰ بیمار دیابتی چاق و ۷۲ بیمار دیابتی غیر چاق انجام شد. آنالیز مولکولار ژن آدیپونکتین با PCR-RFLP انجام گرفت.

یافتهها: در این مطالعه مشاهده گردید که فراوانی ژنوتیپ TT جمعیت دیابتی غیرچاق ۶۲/۵٪ و در گروه کنترل ۷۸٪ بود که این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود ($OR: 2/2$ و $CI: 0/9-5$ و $P=0/02$) (TT Vs $TG+GG$) (همچنین تفاوت معنی داری در فراوانی آلل های T و G در مقایسه بین گروه دیابتی غیرچاق و گروه کنترل مشاهده گردید و آنالیز آماری نشان داد که فراوانی آلل G در گروه دیابتی غیرچاق (۲۰/۱٪) نسبت به گروه کنترل (۱۲٪) افزایش یافته است ($OR: 1/8$ و $CI: 0/95$ و $P=0/04$).

نتیجه گیری: این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ TG و GG در مقابل TT شانس ایجاد دیابت را افزایش می دهد که این نقش غیروابسته به چاقی و BMI بالا بوده است.

واژگان کلیدی: پلی مورفیسم، آدیپونکتین، دیابت ملیتوس

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

*نشانی: تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، کدپستی ۱۴۱۱۴؛ تلفن: ۳-۸۸۰۲۶۹۰۲؛ نامبر: ۸۸۰۲۹۳۹۹؛ پست الکترونیک: tavakkolybazzazj@tums.ac.ir

مقدمه

آدیپونکتین، یک آدیپوکین است که به طور اختصاصی از بافت چربی تمایز یافته آزاد می شود و با افزایش توده بافت چربی به صورت معکوس کاهش می یابد. آدیپونکتین نقش حفاظتی بر علیه مقاومت به انسولین دارد. با این توصیف، سطح پلاسمایی آدیپونکتین به طور معکوس با سطح انسولین سرم، مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲ و در نهایت بیماری های قلبی-عروقی [۱، ۲] رابطه دارد.

پلی مورفیسیم های ژن آدیپونکتین مرتبط با سطح سرمی آدیپونکتین، نمایه توده بدن (BMI)، حساسیت به انسولین و دیابت نوع ۲ می باشند. در یک مطالعه آینده نگر طی یک دوره ۳ ساله پیگیری در افراد با قند نرمال نشان داده شد که بین پلی مورفیسیم های ژن آدیپونکتین و استعداد ابتلا به هیپرگلیسمی ارتباط وجود داشته است [۳].

این مطالعه برای بررسی فراوانی پلی مورفیسیم ژن آدیپونکتین در موقعیت 45*T/G+ در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در جمعیت ایرانی صورت گرفته است و آنالیز فراوانی آلله ها و ژنوتیپ های این پلی مورفیسیم در بیماران دیابتی نوع ۲ دارای BMI نرمال در مقایسه با BMI افزایش یافته مورد بررسی قرار گرفته است.

روش ها

بیماران: گروه کنترل غیردیابتی از ناحیه ۱۷ تهران انتخاب شدند که دارای متوسط سنی ۶۴-۲۵ سال بودند (n=۸۰). بیماران دیابتی نوع ۲ از کلینیک دیابت بر اساس شاخص های زیر انتخاب شدند: وجود قند ناشتا $FBS \leq 126 \text{ mg/dl}$ یا قند پلاسمایی ≤ 200 که در دو آزمایش مجزا تأیید شده باشد و بیمار وابسته به انسولین نباشد. تعداد بیماران دیابتی ۱۶۸ نفر بود. BMI بر اساس قد و وزن محاسبه شد.

از افراد تحت مطالعه نمونه خون در لوله حاوی EDTA به میزان ۲ ml گرفته شد و DNA آن استخراج گردید. از تمامی بیماران و افراد سالم جهت نمونه گیری رضایت نامه کتبی گرفته شد.

آنالیز مولکولار ژن آدیپونکتین:

برای تعیین پلی مورفیسیم 45G/T+ آگزون ۲ با روش PCR-RFLP (Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism) پرایمرهای ذیل مورد استفاده قرار گرفت [۴]:

پرایمر Upstream

(5'-GCAGCTCCTAGAAGTAGACTCTGCTG-3')

و پرایمر Downstream

(5'-GCAGGTCTGTGATGAAAGAGGCC-3')

به طور خلاصه قطعه ۳۷۲-bp تحت شرایط PCR تکثیر شد. محصول PCR پس از انکوباسیون با آنزیم Sma-I (Boehringer mannheim, Germany) بر روی ژل آگارز ۳٪ که با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده بود، مورد بررسی قرار گرفتند. افرادی که ژنوتیپ TT (فرم وحشی) را داشتند، دارای یک باند ۳۷۲ bp بوده و فرم های هتروزیگوت با ژنوتیپ TG دارای ۳ باند ۳۷۲ bp، ۲۰۹ bp و ۱۶۳ bp و هوموزیگوت های GG دارای باندهای ۲۰۹ bp و ۱۶۳ bp بودند (شکل ۱).

آنالیز آماری

معنی دار بودن اختلاف بین گروه های مختلف برای آلله ها یا ژنوتیپ های ژن آدیپونکتین با نسبت شانس (OR) و با فاصله اطمینان (CI) ۹۵٪ تخمین زده شد. میزان معنی دار بودن با آزمون Chi-square و فیشر (exact fisher) محاسبه گردید. همه روش های آماری با استفاده از (version 8) STATA با نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۱/۵) انجام گرفت.

یافته ها

در این مطالعه بررسی فراوانی پلی مورفیسیم 45 T/G+ آدیپونکتین در ۷۰ فرد نرمال و ۸۰ بیمار دیابتی چاق و ۷۲ بیمار دیابتی غیر چاق انجام شد. خصوصیات کلینیکی افراد مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. آنالیز آماری برای بررسی ارتباط ژنوتیپ TT در مقابل GG+TG نشان داد که در جمعیت دیابتی ۶۲/۵٪ و در گروه کنترل ۷۸٪ ژنوتیپ TT داشتند. این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود (TT vs TG+GG) $P=0/02$ و $OR: 2/2$ و $CI: 0/98 \pm 5/00$ بررسی آلله T (۷۹/۹٪) در مقابل G (۲۰/۱٪) در گروه

بحث

هدف این مطالعه بررسی ژنوتیپ SNP+45*T/G آدیپونکتین در جمعیت ایرانی ساکن تهران بود. در مطالعاتی که در جمعیت‌های مختلف انجام شده، ارتباط

دیابتی نسبت به گروه کنترل T (۰/۸۷/۹) و G (۰/۱۲/۱) از نظر آماری معنی‌دار بود (OR: ۱/۸ و CI: ۰/۹-۳/۷) و تفاوتی از نظر ژنوتیپ و آلل بین بقیه گروه‌ها (چاق و دیابتی چاق) با گروه کنترل وجود نداشت (جدول ۲).

جدول ۱- خصوصیات کلینیکی بیماران دیابتی نوع ۲ و افراد کنترل در جمعیت تهران*

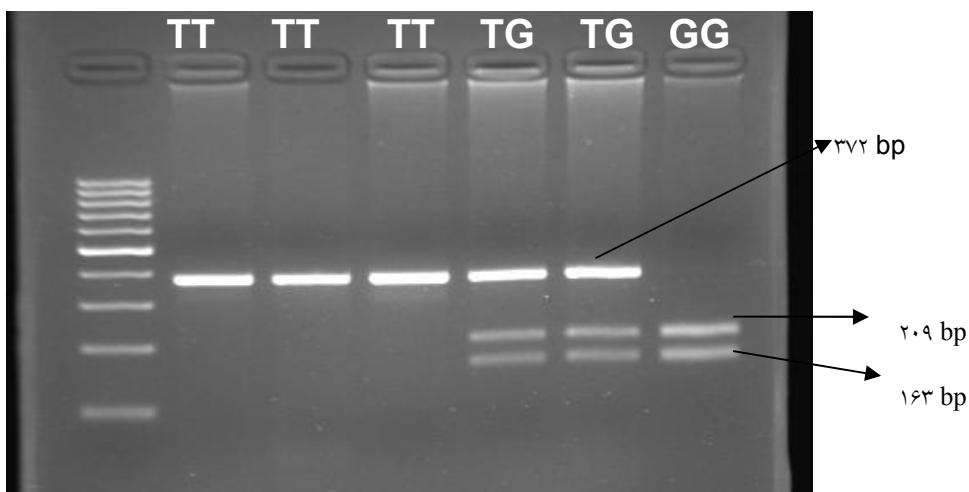
دیابتی چاق	دیابتی غیرچاق	گروه کنترل	
۸۰ (۶۶/۱۴)	۸۸ (۴۹/۳۹)	۸۰ (۴۵/۵۵)	تعداد (زن/مرد)
۵۱±۱۰	۵۲±۱۱	۳۵±۱۱	سن (سال)
۳۵±۴	۲۶±۳	۲۴/۸±۳	BMI (kg/m ²)

* اعداد نشانگر میانگین ± انحراف معیار می‌باشد

جدول ۲- فراوانی ژنوتیپ و آللهای ژن آدیپونکتین در بیماران دیابتی نوع ۲ و افراد سالم در جمعیت تهران

دیابتی چاق (n=۸۰)	دیابتی غیرچاق (n=۷۲)	کنترل (n=۷۰)	
۵۵ (۶۸/۸٪)	۴۵ (۶۲/۵٪)*	۵۵ (۷۸/۶٪)	ژنوتیپ TT
۲۳ (۲۸/۹٪)	۲۵ (۳۴/۷٪)	۱۳ (۱۸/۶٪)	TG
۲ (۲/۵٪)	۲ (۲/۸٪)	۲ (۲/۹٪)	GG
۱۳۳ (۳۸/۱٪)	۱۱۵ (۷۹/۹٪)**	۱۲۳ (۸۷/۹٪)**	آلل (2N) T
۲۷ (۱۶/۹٪)	۲۹ (۲۰/۱٪)	۱۷ (۱۲/۱٪)	G

* (TT VS TG+GG), P= ۰/۰۲, OR= ۲/۲, CI (۰/۹۸-۵/۰۰) ** P=۰/۰۴, OR = ۱/۸, CI (۰/۹-۳/۷)



شکل ۱- تصویر ژل آکاروز PCR-RFLP پلی مورفیسم T/G+45

این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ TG و GG در مقابل TT شناس ایجاد دیابت را افزایش می‌دهد که این نقش غیروابسته به چاقی و BMI بالا بوده است. مطالعات بیشتری با حجم نمونه بالاتر در جمعیت خالص‌تر برای بررسی نقش ژن آدیپونکتین در ایجاد دیابت نوع ۲ در جمعیت ایرانی باید صورت گیرد تا بتوان تفسیر دقیق‌تری از نقش ژن آدیپونکتین در ایجاد چاقی و دیابت را در ایران بدست داد.

پلی مورفیسم‌های مختلف آدیپونکتین با دیابت نوع ۲، چاقی، مقاومت به انسولین و عوارض قلبی عروقی نشان داده شده است. در مطالعه Ma J و همکاران که در سوئد انجام شده، نقش پلی مورفیسم $+45^*T/G$ در ایجاد دیابت نوع ۱ نشان داده شده است [۴]. در مطالعات دیگری در ژاپن [۵]، فرانسه [۶]، ایتالیا [۷]، سوئد [۸] نتایج مشابهی در ارتباط با پلی مورفیسم‌های مربوط به آدیپونکتین و دیابت نشان داده شد، ولی مواردی از نتایج متناقض، عدم وجود ارتباط قوی را مطرح نمود [۹].

مآخذ

1. Kadowaki, T, Yamauchi, T, Kubota, N, et al. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116:1784.
2. Weyer, C, Funahashi, T, Tanaka, S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930.
3. Fumeron F, Aubert R, Siddiq A, Betoulle D, Pean F, Hadjadj S, Tichet J, Wilpart E, Chesnier MC, Balkau B, Froguel P, Marre M; Epidemiologic Data on the Insulin Resistance Syndrome (DESIR) Study Group. Adiponectin gene polymorphisms and adiponectin levels are independently associated with the development of hyperglycemia during a 3-year period: the epidemiologic data on the insulin resistance syndrome prospective study. *Diabetes* 2004; 53: 1150-7.
4. Schaffler A, Barth N, Palitzsch KD, Drobnik W, Scholmerich J, Schmitz G. Mutation analysis of the human adipocyte-specific apM-1 gene. *Eur J Clin Invest* 2000; 30: 879-87.
5. Ma J, Mollsten A, Falhammar H, Brismar K, Dahlquist G, Efendic S, Gu HF. Genetic association analysis of the adiponectin polymorphisms in type 1 diabetes with and without diabetic nephropathy. *J Diabetes Complications* 2007; 21: 28-33.
6. Hara K, Boutin P 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: 1294.
7. Gibson F, Froguel P Genetics of the APM1 locus and its contribution to type 2 diabetes susceptibility in French Caucasians. *Diabetes* 2004; 53: 2977-83.
8. Menzaghi C et al Multigenic control of serum adiponectin levels: evidence for a role of the APM1 gene and a locus on 14q13. *Physiol Genomics*. 2004;19:170-4. Epub 2004 Jul 13.
9. Gu Hf et al Single nucleotide polymorphisms in the proximal promoter region of the adiponectin (APM1) gene are associated with type 2 diabetes in Swedish caucasians. *Diabetes* 2004; 53 (Suppl 1): S31-5.
10. Schaffler A, Herfarth H, Paul G, Ehling A, Muller-Ladner U, Scholmerich J, Zietz B. Identification of influencing variables on adiponectin serum levels in diabetes mellitus type 1 and type 2. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2004; 112: 383-9.