مجله دیابت و متابولیسم ایران. بهمن- اسفند ۱۳۹۸؛ دوره ۱۹ (شماره ۳) ۱۲۲-۱۱۴

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط واریانت rs10830962 ژن MTNR1B و خطر ابتلا به دیابت نوع دو

نگین بزرگ نژاد[۱]، حمید رضا آقایی میبدی[۲*]، مهدی افشاری[۳]، نگار سرهنگی[۲]، ماندانا حسن زاد[۱*]

چکیده

مقدمه: دیابت نوع دو شایع‌ترین نوع دیابت است که به‌طور کلاسیک با اختلال عملکرد سلول‌های β پانکراس مشخص می‌شود. یکی از دلایلی که باعث افزایش بروز دیابت می‌شود، تغییر در الگوها و ریتم‌های شبانه‌روزی است. ملاتونین یکی از مولکول‌های بیولوژیکی است که نقش مهمی در تنظیم ساعت شبانه‌روزی و همچنین اثر مهاری بر ترشح انسولین در سلول‌های β دارد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط واریانت rs10830962 ژن MTNR1B و خطر ابتلا به دیابت نوع دو در گروهی از بیماران ایرانی است.

روش‌ها: تعیین ژنوتیپ ۲۰۸ نفر شامل ۱۰۸ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۰۰ نمونه کنترل به‌عنوان گروه شاهد با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز- چند شکلیِ طول قطعه محدود شونده (PCR-RFLP) انجام شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌هایCC ، GC و GG در بیماران به‌ترتیب ٥٤/٦، ٨٥/١ و ٤٣/٥ درصد و در گروه شاهد به‌ترتیب ٨١ ، ٠ و ١٩ درصد بود. فراوانی آلل G در بیماران دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد غیر دیابتی بود (OR= ٣/٣، CI=٢/١-٥/٣ ، P<٠/٠٠١).

نتیجه‌گیری: شواهد مطالعه نشان داد که واریانت rs10830962 ژن MTNR1B می‌تواند مستقیماً با دیابت نوع دو در ارتباط باشد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع دو، MTNR1B، rs10830962

۱- مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- مرکز تحقیقات پزشکی فردی، پژوهشکده‌ی علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

۳- گروه پزشکی اجتماعی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

*نشانی: تهران، بزرگراه شهید چمران، تقاطع جلال آل احمد، بعد از دانشگاه تربیت مدرس، پلاک ۱۰، پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم، کدپستی: ۱٤۱۱۷۱۳۱۱۹،تلفن: ۰۲۱۸۸۲۲۰۰۹۱، نمابر: ۰۲۱۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: dr_aghai@yahoo.com

*نشانی: تهران، خیابان شریعتی، خیابان خاقانی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، کدپستی: ۱۹۳۹۵۱٤۵۹، تلفن: ۰۲۱۲۲۰۰۸۰٦۵، نمابر: ۰۲۱۲۲۰۰۸۰۷۲، پست الکترونیک: mandanahasanzad@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۱۰/۱۱ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۱۳۹۸/۱۱/۲۱ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۸/۱۲/۲۵

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

مقدمه

دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیکی در سراسر جهان است. دیابت با افزایش قند خون ناشی از عدم دسترسی به انسولین و یا کاهش حساسیت سلول‌ها به آن و در نتیجه ایجاد آسیب‌های پیش رونده در ارگان‌هایی مانند چشم، کلیه، رگ‌های خونی، قلب و نیز رگ‌های محیطی و مغز همراه است. دیابت نوع دو شایع‌ترین نوع دیابت، دارای پاتوژنز (بیماری‌زایی) پیچیده‌ای است که به‌طور کلاسیک در سه دسته اختلال در عملکرد به همراه کاهش توده‌ی سلول‌های بتا پانکراس، مقاومت به انسولین محیطی و افزایش تولید گلوکز کبدی، که اغلب با چاقی همراه است، طبقه‌بندی می‌شود [۱].

در بیماری‌زایی دیابت نوع دو مانند سایر بیماری‌های پیچیده در انسان، هر دو عوامل ژنتیکی و محیطی نقش دارند [۲]. جایگاه های ژنتیکی مختلفی می‌توانند خطر ابتلا به دیابت نوع دو را تحت تأثیر قرار دهند. برخی از این جایگاه ها فرد را مستعد ابتلا به بیماری می کنند و برخی اثر حفاظتی دارند. تعیین دقیق این جایگاه‌های ژنتیکی پیچیده بوده و هنوز به‌طورکامل مشخص نشده است [۳].

با افزایش سن، چاقی و کم تحرکی، خطر ابتلا به این بیماری افزایش می‌یابد. دیابت نوع دو در جوامع مبتلا به فشار خون و چربی خون بالا بیشتر دیده می‌شود [٤]. همچنین عوامل هورمونی نیز می‌توانند در میزان ترشح انسولین تاثیرگذار باشند. هورمون‌هایی مانند هورمون رشد، کورتیزول، گلوکاگون، اپی نفرین و ... می‌توانند فعالیت انسولین را کنترل کنند. دیابت می تواند در نتیجه‌ی افزایش این هورمون‌ها در افرادی که قبلاً دچار نقص در ترشح انسولین بوده‌اند، رخ دهد. افزایش قند خون ایجاد شده در این موارد با برطرف شدن میزان افزایش یافته هورمون از بین می‌رود [۵].

ملاتونین یکی از مولکول های زیستی در موجودات زنده است که از غده‌ی پینه آل ترشح شده و در تنظیم ساعت شبانه روزی نقش مهمی دارد [۷ ،٦]. مسیر سیگنالینگ ملاتونین ارتباط گسترده‌ای با مسیرهای مختلف فیزیولوژیکی در انسان و حیوانات دارد [۸].

اگرچه ملاتونین هورمونی است که در اصل توسط غده‌ی پینه آل ترشح می‌شود، اما بافت‌های دیگری از جمله شبکیه، سیستم گوارش و سیستم ایمنی، سلول‌های گلیال، لنفوسیت‌ها، ریه، قلب، تخمدان و پوست نیز می‌توانند آن را تولید کنند [۱۰ ،۲]. ملاتونین با رمزگذاری اطلاعات مربوط به زمان و طول روز به مغز و اندام‌های محیطی نقش مهمی در تنظیم ریتم‌های شبانه روزی و فصلی دارد [۱۱–۱۳]. پیچیدگی و تنوع عملکرد ملاتونین را می‌توان به این دلیل دانست که گیرنده‌های ملاتونین در مناطق مختلفی از بدن قرار دارند. گیرنده‌های ملاتونین در مغز را می‌توان در کورتکس پره فرونتال، مخچه، هیپوکمپ، هسته‌های قاعده‌ای، جسم سیاه، شبکیه و همین‌طور در بخش های مختلف هیپوتالاموس مشاهده کرد [١٤].

مطالعات نشان می‌دهند که تغییرات در ریتم شبانه روزی بر کنترل متابولیک تأثیر می‌گذارد و همچنین خطر دیابت را افزایش می دهد [١٦ ،١٥]. علاوه بر این، ملاتونین تأثیر مهاری بر ترشح انسولین توسط سلول‌های β دارد [۱۷]. بسیاری از تحقیقات حاکی از ارتباط بین سیگنالینگ ملاتونین غیرطبیعی و خطر ابتلا به دیابت نوع دو است. سیگنالینگ ملاتونین توسط گیرنده‌های غشایی آن 1A و 1B (MTNR1A و MTNR1B) که متعلق به خانواده بزرگ گیرنده‌های G پروتئینی است، انجام می‌شود [۱۸]. ژن MTNR1B در کروموزوم ۱۱ (q21-222) قرار دارد و به‌عنوان ژن کاندید جدید در بیماری‌زایی دیابت نوع دو شناخته شده است [۱۹]. واریانت rs10830932 در قسمت 5'-flanking ژن MTNR1B قرار دارد [۲۰]. در برخی مطالعات وجود ارتباطی معنادار بین ژن MTNR1B و واریانت‌های مختلف آن و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع دو و گلوکز ناشتای پلاسما تأیید شده است [۲۲ ،۲۱]. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط واریانت rs10830962 ژن MTNR1B و خطر دیابت نوع دو در گروهی از بیماران ایرانی است.

روش‌ها

این مطالعه شامل ۱۰۸ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۰۰ فرد سالم است. تمام معیارهای گزینش افراد بیمار و سالم براساس

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

دستورالعمل بالینی انجمن دیابت آمریکا[1] انتخاب شده است [۲۳]. میانگین سنی ابتلا به دیابت نوع دو براساس دستوالعمل بالینی انجمن دیابت آمریکا، ٤٥ سال است و بر همین اساس توصیه به غربالگری سالانه دیابت بعد از سن ٤٥ سال شده است. بنابراین در انتخاب بیماران و افراد کنترل این موضوع مد نظر قرار گرفته است.

افرادی که قند خون ناشتا بالاتر از ۱۲٦ میلی‌گرم در هر دسی لیتر خون داشتند به‌عنوان افراد بیمار، و افرادی که قند خون ناشتای پایین تر از ۱۰۰ میلی‌گرم در هر دسی لیتر خون داشتند به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. همچنین تمام افراد شرکت کننده در این مطالعه بین ۲۰ تا ۷۰ سال سن داشتند و نمایه‌ی توده‌ی بدنی[2] آنها بین بازه‌ی ۲۵ تا ۳۵ بود. رضایت نامه‌ی کتبی همه‌ی افراد شرکت کننده و پرسشنامه‌ی مربوط به افراد دیابتی توسط هر شخص تکمیل و امضا شد. پروژه‌ی حاضر در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران تصویب شد.

پنج میلی‌لیتر خون وریدی از بیماران دیابتی و افراد سالم گرفته شد و DNA با روش استاندارد نمک اشباع استخراج گردید [٢٤]. کیفیت DNA استخراج شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر سنجش شد. تعیین ژنوتیپ rs10830962 ژن MTNR1B با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز- چند شکلیِ طول قطعه‌ی محدود شونده [3] (هضم آنزیمی) انجام شد. از یک جفت آغازگر اختصاصی، پرایمر forward (5'-ACAAAAGAATGCAGATGTCCCC-3') و پرایمر reverse (5'-ATTAGCAGGCACGATGGC-3') برای تکثیر قطعه ۳۷۲ جفت بازی به‌وسیله‌ی واکنش زنجیره‌ای پلی مراز[4] استفاده شد. تکثیر قطعه‌ی مورد نظر توسط دستگاه ترموسایکلر گرادیانت (اپندرف، آلمان) در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۰/۲ میکرولیتر از هر دو پرایمر forward و reverse، ۱۰ میکرولیتر مستر میکس (امپلیکون، دانمارک)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، ۱۲ میکرولیتر آب مقطر استریل و۱ میکرولیتر نمونه‌ی DNA صورت گرفت. برنامه‌ی زمانی واکنش PCR به شرح زیر است: ۹۵ درجه‌ی سانتیگراد به‌مدت ۵ دقیقه و پس از آن ۳۵ چرخه‌ی ۵۰ ثانیه‌ای در ۹۵ درجه‌ی سانتیگراد به‌منظور واسرشت کردن دو رشته‌ی DNA، ۵۰ ثانیه در ٦۰ درجه‌ی سانتیگراد برای اتصال آغازگرها و ۵۰ ثانیه در ۷٤ درجه‌ی سانتیگراد جهت طویل شدن و انکوباسیون نهایی در ۷٤ درجه سانتیگراد به‌مدت ۵ دقیقه.

برای تعیین ژنوتیپ، محصول تکثیر شده در فرآیند واکنش PCR با آنزیم محدود کننده‌ی TaaI در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتیگراد به صورت شبانه روز هضم شد. قطعات هضم شده با استفاده از الکتروفورز افقی روی ژل آگارز ۲ درصد جدا شدند.

روش‌های آماری

از نرم‌افزارSPSS (نسخه‌ی ١٤/٢) برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها بین دو گروه مورد و شاهد با استفاده از تست کای دو و آزمون دقیق فیشر مورد مقایسه قرار گرفت. ارتباط خام و تنظیم شده‌ی (کنترل سن) بین آلل‌ها و ژنوتیپ‌های واریانت ژن MTNR1B و خطر ابتلا به دیابت نوع دو با استفاده از مدل‌های رگرسیون لجستیک یک متغیره و چند متغیره (نسبت شانس[5]) و فواصل اطمینان[6] ۹۵ درصد ارزیابی شد. از t-test و Mann-Whitney test برای مقایسه متغیرهای پیوسته بین دو گروه استفاده گردید که با میانگین (انحراف معیار) نشان داده شد. همچنین از آزمون کای دو[7] برای ارزیابی تعادل هاردی واینبرگ[8] در توزیع فراوانی ژنوتیپ های واریانت rs10830962 در گروه کنترل استفاده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار تعریف شد.

یافته‌ها

از ۱۰۸ فرد بیمار (دیابت نوع دو) و ۱۰۰ فرد کنترل (بدون دیابت نوع دو) که در این مطالعه بررسی شدند، ۷۰ نفر (۳۳/٦ درصد)

[1] American Diabetes Association *(ADA)*
[2] Body Mass Index (BMI)
[3] Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism *(PCR-RFLP)*
[4] Polymerase chain reaction (PCR)
[5] Odds ratio (OR)
[6] Confidence interval (CI)
[7] Chi-squared test
[8] Hardy–Weinberg equilibrium (HWE)

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

مرد بودند. میانگین سنی شرکت کنندگان ٤٦/٨ سال (انحراف معیار=١٥/١) و رده‌ی سنی افراد بین ٢٠ تا ٧٠ سال بود. فارس (٤٤/٦ درصد) و آذری (٤٣/٦ درصد) بیشترین قومیت را در بین افراد مورد مطالعه داشتند.

توزیع جنسیت در بین موارد دیابتی و شاهد (کنترل) یکسان بود (P = ٠/٧). قومیت فارس در میان افراد دیابتی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P < ٠/٠٠١). علاوه بر این، بیماران دیابتی به‌طور قابل توجهی مسن‌تر از گروه شاهد بودند (P= ٠/٠٠٠١) (جدول ١).

جدول ١- مقایسه‌ی افراد گروه بیمار و کنترل با توجه به فاکتورهای مختلف

عوامل		دیابت نوع دو تعداد (٪)	افراد سالم تعداد (٪)
جنسیت	مرد	٣٧ (٣٤/٢)	٣٢ (٣٢)
	زن	٧١ (٦٥/٧)	٦٨ (٦٦)
قومیت	فارس	٣٤ (٣١/٤) **	٥٠ (٥٠)
	اقوام دیگر	٧٤ (٦٨/٥)	٣٠ (٣٠)
	فاقد اطلاعات قومیتی	-	٢٠ (٢٠)
سن		٥٤/٣±١٠/٩**	٣٨/٧±١٤/٨

* متغیر سن به صورت Mean ± SD و سایر متغیرها به‌صورت فراوانی (درصد) ذکر گردیده‌اند.

*P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

جدول ٢ نشان می‌دهد که فراوانی ژنوتیپ‌های GG و GC در گروه بیماران و شاهد به‌ترتیب ٤٣/٥ در برابر ١٩ درصد و ١/٨ در برابر صفر درصد بود. با کنترل اثر قومیت، OR برای ژنوتیپ های GG و GC به‌ترتیب ٤/٤ (P < ٠/٠٠١) و ١/٣ (P = ٠/٨) بود.

ژنوتیپ GC+GG در مقابل ژنوتیپ رفرنس (CC) به‌عنوان یکی از مدل‌های ژنتیکی جهت بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های واریانت rs10830962 ژن MTNR1B و دیابت نوع دو در نظر گرفته شد.

جدول ٢- توزیع ژنوتیپ‌ها واریانت rs10830962 ژن MTNR1B در گروه بیمار (١٠٨ نفر) و کنترل (١٠٠ نفر) و ارتباط خام و تنظیم شده آنها با خطر ابتلا به دیابت نوع دو

ژنوتیپ	دیابت نوع دو تعداد (درصد)	سالم تعداد (درصد)	نسبت شانس *خام	٩٥ درصد فاصله اطمینان *	نسبت شانس تنظیم شده	٩٥ درصد فاصله اطمینان
CC	٥٩ (٥٤/٦)	٨١ (٨١)	١		١	
GC	٢ (١/٨)	٠ (٠)	٣/٢	٠/٢ inf	١/٣	٠/١١ inf
GG	٤٧ (٤٣/٥)**	١٩ (١٩)	٣/٣	١/٧-٦/٧	٤/٤	٢/٠٥-١٠/٣
GC+GG	٤٩ (٤٥/٣)**	١٩ (١٩)	٣/٥	١/٨-٦/٦	٤/٢	١/٨-٩/٤

*نسبت شانس‌ها (Odd Ratio)، فاصله‌ی اطمینان (Confidence Interval)

**P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

همان‌طور که جدول ۳ نشان می‌دهد فراوانی آلل G در بیماران دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد غیر دیابتی بود (P<۰/۰۰۱). OR آلل G ۳/۳ بود (P<۰/۰۰۱). همان‌طور که در جدول ٤ نشان داده شده است، میانگین HbA1C (SD) افراد با ژنوتیپ CC، GG و GC به‌ترتیب ۷/۹ (۱/٦)، ۸/۰۲ (۱/۸) و ۷/۷ (۰/۷) بود (P= ۰/۹۸۷). شکل ۱ نتیجه‌ی تکثیر قطعه‌ی ۳۷۲ جفت بازی در واکنش PCR را نشان می‌دهد.

جدول ۳- توزیع آللی واریانت rs10830962 ژن MTNR1B در گروه بیمار (۱۰۸ نفر) و کنترل (۱۰۰ نفر) و ارتباط آنها با خطر ابتلا به دیابت نوع دو

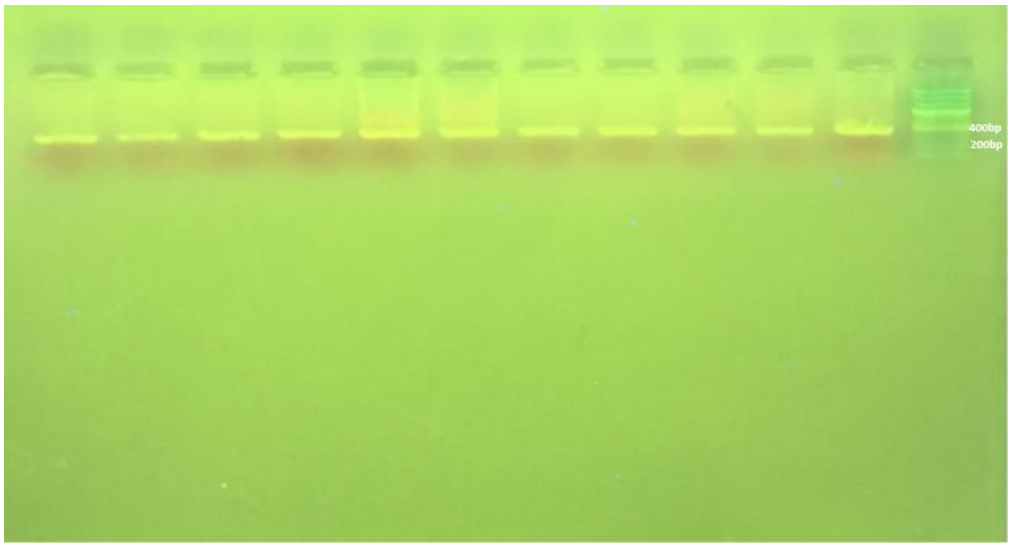
آلل‌ها	دیابت نوع دو (درصد)	سالم (٪) (درصد)	نسبت شانس خام*	۹۵ درصد فاصله اطمینان *
C	٥٦/۹	۸۱	۱	
G	٤۳/۹**	۱۹	۳/۳	۲/۱-٥/۳

*نسبت شانس‌ها (Odd Ratio)، فاصله‌ی اطمینان (Confidence Interval)

**P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

جدول ۴- میانگین HbA1c در بیماران دیابت نوع دو با ژنوتیپ های متفاوت واریانت rs10830962

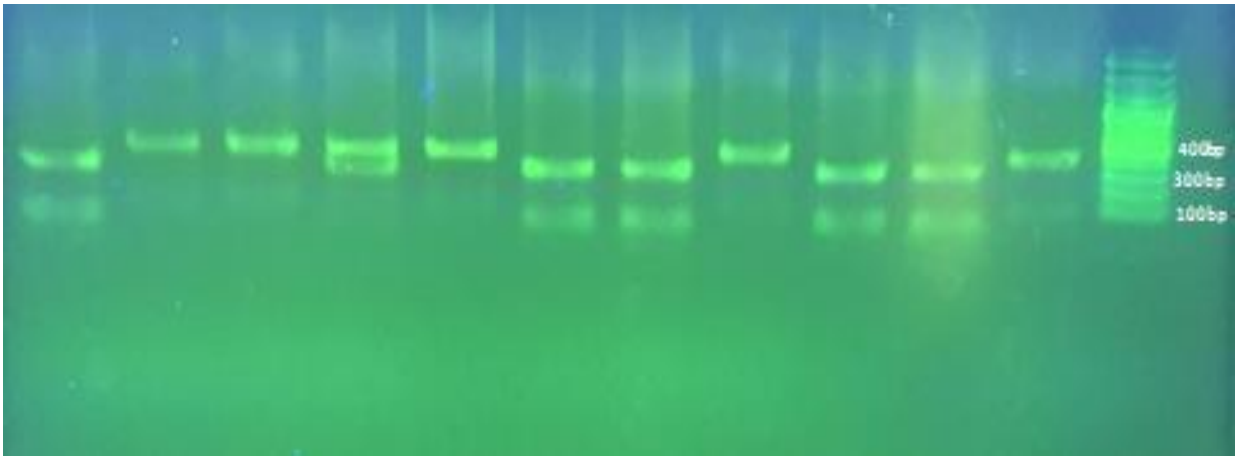
ژنوتیپ	فراوانی	میانگین	انحراف از معیار
CC	٥۹	۷/۹	۱/٦
GC	۲	۷/۷	۰/۷
GG	٤۸	۸/۰۲	۱/۸



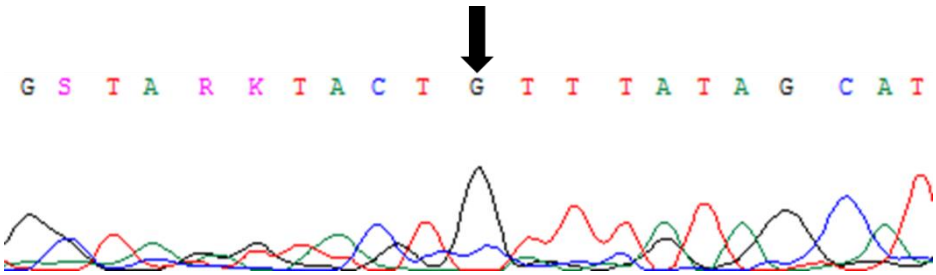
شکل۱- محصولات حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر روی ژل ۲ درصد آگارز

در شکل۲ قطعات حاصل از هضم آنزیمی نشان داده شده است. در صورت شناسایی جایگاه برش توسط آنزیم، دو قطعه ۷۲ و ۳۰۰ جفت بازی (ژنوتیپ هموزیگوت GG) ایجاد خواهد شد. ژنوتیپ هتروزیگوت GC شامل سه قطعه ۷۲، ۳۰۰ و ۳۷۲ جفت

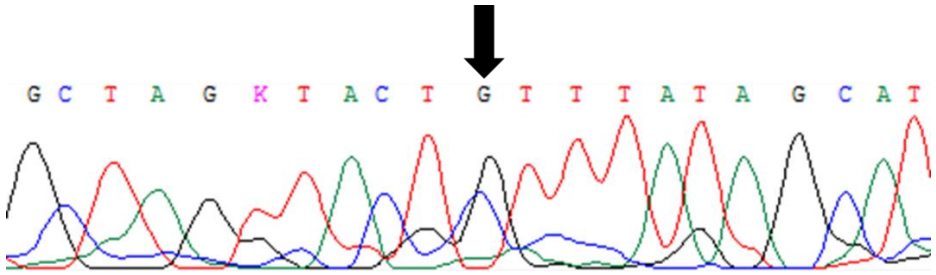
بازی و ژنوتیپ هموزیگوت CC شامل یک قطعه به طول ۳۷۲ جفت بازی است. در نهایت تعدادی از نمونه‌ها به‌صورت تصادفی به‌منظور تأیید نتایج با روش سنگر تعیین توالی شدند (شکل ۳).



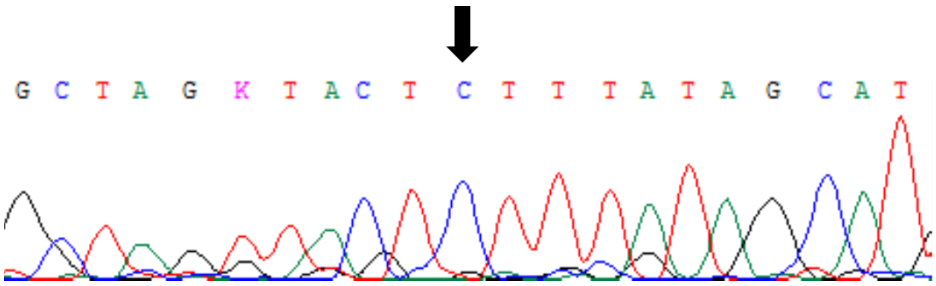
شکل۲- تصویر نتیجه هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ درصد. ژنوتیپ GG (دو قطعه ۷۲ و ۳۰۰ جفت بازی)، CC (قطعه ۳۷۲ جفت بازی) و GC (سه قطعه ۷۲، ۳۰۰ و ۳۷۲ جفت بازی)



الف



ب



ج

شکل ۳- نتایج تعیین توالی DNA. الف) ژنوتیپ GG، (ب) GC، و ج) CC

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

بحث

مطالعات گسترده‌ی ژنوم ارتباط نزدیکی بین واریانت‌های MTNR1B و دیابت نوع دو و گلوکز پلاسما ناشتا بالاتر نشان داده است [۲۵]. در مطالعات مختلف نشان داده شده است که اختلالات خواب باعث اختلال در تنظیم قند خون می‌شود که در نتیجه خطر ابتلا به دیابت نوع دو و عوارض آن را افزایش می‌دهد. ملاتونین به‌عنوان هورمونی که توسط غده‌ی پینه‌آل آزاد می‌شود، ریتم‌های شبانه روزی را حفظ می‌کند و متابولیسم انرژی را تنظیم می‌کند [۲۶]. مطالعات حاکی از اثرات متقابل هورمون های ملاتونین و انسولین بر یکدیگر است. از این‌رو، در طول روز که سطح ملاتونین کم است، سطح انسولین خون بالا است. در حالی که در شب به‌صورت مخالف تغییر می‌کند [۲۷].

در مطالعه‌ی ما، مشاهده کردیم که حضور ژنوتیپ rs10830962 ژن MTNR1B در بین بیماران دیابتی در مقایسه با جمعیت نرمال به‌طور معنی‌داری بیشتر است. ژنوتیپ هموزیگوت GG این واریانت به‌طور معنی‌داری احتمال ابتلا به دیابت نوع دو را بیش از چهار برابر افزایش می‌دهد. اگرچه ژنوتیپ هتروزیگوت شانس ابتلا به دیابت را حدود ٤٠ درصد افزایش داد، اما ارتباط مشاهده شده از نظر آماری معنی‌دار نبود. علاوه بر این، وجود آلل G به میزان قابل توجهی خطر ابتلا به دیابت نوع دو را بیش از سه برابر افزایش داده است. مشاهدات ذکر شده‌ی فوق نشان می‌دهد که این واریانت می‌تواند یک عامل خطر برای ایجاد دیابت نوع دو باشد.

ذکر این نکته ضروری است که دیابت نوع دو بیماری چند عاملی است و تنها با در نظر گرفتن عامل ژنتیک نمی‌توان براساس آن خطر ابتلا به دیابت را تعیین نمود، حتی اگر عامل ژنتیکی خطر ابتلا به دیابت را چهار برابر کند و باید فاکتورهای دیگر نظیر نوع تغذیه و شیوه‌ی زندگی، عوامل محیطی به آن اضافه گردد. نکته‌ی قابل تأمل‌تر این است که دیابت نوع دو پلی ژنیک بوده و چندین واریانت ژنتیکی در استعداد ابتلا به آن نقش دارد که پس از بررسی همه‌ی این عوامل ژنتیکی در هر قومیت و اضافه کردن عوامل محیطی، در نهایت می‌توان به الگوریتمی برای تعیین خطر ابتلا به بیماری دست یافت. در آینده‌ای نزدیک این امر با استفاده از داده‌های بزرگ[9] و ترجمان آن با ابزار Machine Learning امکان‌پذیر خواهد بود.

در همین راستا، یک مطالعه‌ی مقدماتی در سال ۲۰۱۵ توسط Salman و همکاران در جنوب هند انجام شد. آنها ۳٤٦ فرد مبتلا به دیابت نوع دو و ۳٤۱ داوطلب غیر دیابتی در سنین ۳۰ تا ٦٥ سال مورد مطالعه قرار دادند. آلل G در rs10830962 همبستگی مثبت و معنی‌داری با گلوکز ناشتا نشان داد [۲۸].

Staiger و همکاران در یک مطالعه در سال ۲۰۰۸ نقش واریانت های ژن MTNR1B را در خطر ابتلا به دیابت نوع دو و عملکرد سلول‌های β تعیین کردند. نتایج نشان داد که rs10830962 به طور قابل توجهی با افزایش غلظت گلوکز پلاسما ناشتا و کاهش انسولین ناشی از نسبت تحمل گلوکز خوراکی و وریدی ارتباط دارد [۲۱]. همچنین در یک مطالعه‌ی مروری در سال ۲۰۰۹ ذکر شده است که rs10830962 باعث کاهش ترشح انسولین تحت تاثیر گلوکز می‌شود [۲۹]. یک مطالعه‌ی دیگر در جمعیت کره ثابت کرد که rs10830962 با میزان گلوکز ناشتا ارتباط دارد [۳۰]. اگرچه مطالعه‌ی ما نشان داد که این واریانت می‌تواند یک عامل خطر در جهت افزایش ریسک ابتلا به دیابت نوع دو باشد، اما برخی از شواهد نتایج متفاوتی را ارائه می‌دهند. Mazzoccoli و همکاران مطالعه‌ای را در سال ۲۰۱۷ مطالعه‌ای طراحی کردند تا تعامل بین واریانت‌های MTNR1B، حساسیت به انسولین، ضخامت چربی اپیکارد و عملکرد شناختی در سالمندان قفقاز را بررسی کنند. طبق نتایج این بررسی ارتباط معنی‌داری بین کلسترول rs10830962 و LDL[10] و گلوکز خون ناشتا وجود نداشت [۳۱].

همچنین یک مطالعه‌ی جدید توسط Patel و همکاران نشان داد که هیچ‌گونه شواهدی از تفاوت معنی‌دار بین توزیع آللی و ژنوتیپ rs10830962 بین بیماران و گروه شاهد وجود ندارد [۳۲].

در مطالعه‌ی حاضر میزان HbA1c بیماران دیابتی با ژنوتیپ‌های مختلف واریانتrs10830962 در طول درمان یکسان بود که این

[9] Big Data

[10] Low-density lipoprotein (LDL)

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

امر نشان می‌دهد که این واریانت هیچ نقشی در اثربخشی درمان ندارد. اما Wheeler و همکاران در سال ۲۰۱۷ در یک بررسی اعلام کردند که آلل C در rs10830962 با تغییرات HbA1c ارتباط دارد [۳۳].

علاوه بر این، دانش ما در مورد موقعیت‌های ژنتیکی و ژن‌هایی که باعث افزایش بروز دیابت بارداری می‌شوند نیز بسیار محدود است. در این زمینه Kwak و همکاران یک مطالعه‌ی ارتباطی گسترده‌ی ژنومی دو مرحله‌ای در جمعیت زنان کره‌ای انجام داده اند. در این بررسی مشخص شد rs10830962 که پیش‌تر به‌عنوان یک عامل خطر برای افزایش احتمال ابتلا به دیابت نوع دو مطرح شده بود، به‌طور قابل توجهی با افزایش خطر ابتلا به دیابت بارداری همراه است [۳٤].

با این حال، مطالعه‌ی دیگری توسط Li و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی ۳۵۰ بیمار مبتلا به دیابت بارداری و ٤۸۰ فرد سالم از زنان چینی‌هان نشان داد که واریانت rs10830962 ژن MTNR1B با افزایش خطر ابتلا به دیابت بارداری یا هر یک از خصوصیات بالینی یا متابولیک در بیماران مبتلا به دیابت بارداری همراه نیست [۲۲].

ایران از نظر قومیتی دارای تنوع بالایی است که شامل فارس (۵۱ درصد)، آذری (۲٤ درصد)، گیلکی و مازندرانی (۸ درصد)، کرد (۷ درصد)، عرب (۳ درصد)، لر (۲ درصد)، بلوچ (۲ درصد)، ترکمن (۲ درصد) و سایر (۱ درصد) است [۳۵]. بنابراین تنوع ژنتیکی در جمعیت ایرانی به‌دلیل قومیت‌های مختلف آن است. اطلاعات قومیتی برای اکثر شرکت کنندگان در مطالعه کنونی ثبت نشده و تجزیه و تحلیل ارتباط بین ژنوتیپ و قومیت به‌طور دقیق انجام نشده است که به‌عنوان یکی از محدودیت‌های مطالعه موردی-شاهدی حاضر در نظر گرفته می‌شود.

نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، نتایج مطالعه‌ی حاضر شواهدی را ارائه می‌دهد که نشان می‌دهد واریانت rs10830962 ژن MTNR1B می‌تواند یک عامل خطر برای دیابت قلمداد شود.

پاتوفیزیولوژی دیابت می‌تواند از یک مسیر هشت‌گانه ایجاد شود که ژن‌های مختلفی در این مسیرها دخالت دارند. بنابراین نتیجه گیری در خصوص نقش ژنتیک در دیابت نوع دو نیاز به مطالعه جامع تمام ژن‌های یاد شده دارد. از طرف دیگر دیابت با بیماری دیگری نظیر چاقی مرتبط است که بررسی این گونه ژن‌ها نیز به تعیین وضعیت الگوی ژنتیک دیابت نوع دو کمک می‌نماید.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد ژنتیک است و هیچ حمایت مالی از سازمان خاصی جهت انجام این پروژه اخذ نشده است. محققان این مطالعه بر خود لازم می‌دانند از همه‌ی شرکت کنندگان و بیمارانی که در این پروژه همکاری صمیمانه داشتند تشکر و قدردانی نمایند.

مآخذ

1. Bergenstal R. Management of type 2 diabetes: a systematic approach to meeting the standards of care II: oral agents, insulin, and managements of complications. *Endocrinology* 2001;1:821-35.
2. Scheer FA, Hilton MF, Mantzoros CS, Shea SA. Adverse metabolic and cardiovascular consequences of circadian misalignment. *Proc Natl Acad Sci* 2009;106(11):4453-8.
3. Guja C, Gagniuc P, Ionescu-Tîrgovişte C, editors. Genetic factors involved in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Proc Rom Acad Series* B; 2012.
4. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev* 2013;93(1):137-88.
5. Patti M-E. Gene expression in humans with diabetes and prediabetes: what have we learned about diabetes pathophysiology? *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004;7(4):383-90
6. Stumpf I, Mühlbauer E, Peschke E. Involvement of the cGMP pathway in mediating the insulin-inhibitory effect of melatonin in pancreatic β-cells. *J Pineal Res* 2008;45(3):318-27.
7. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni G, Cardinali D, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: nature's most versatile biological signal? *FEBS J* 2006;273(13):2813-38.
8. Ji Ld, Xu J, Wu Dd, Xie Sd, Tang NL, Zhang Yp. Association of disease-predisposition polymorphisms of the melatonin receptors and sunshine duration in the

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

global human populations. *J Pineal Res* 2010;48(2):133-41.

9. Ling Y, Li X, Gu Q, Chen H, Lu D, Gao X. A common polymorphism rs3781637 in MTNR1B is associated with type 2 diabetes and lipids levels in Han Chinese individuals. *Cardiovasc Diabetol* 2011;10:27.
10. Jockers R, Delagrange P, Dubocovich ML, Markus RP, Renault N, Tosini G, et al. Update on melatonin receptors: IUPHAR Review 20. *Br J Pharmacol* 2016;173(18):2702-25.
11. Reiter RJ. The pineal and its hormones in the control of reproduction in mammals. *Endocr Rev* 1980;1(2):109-31.
12. Reiter RJ, Ellison NM. Delayed puberty in blinded anosmic female rats: role of the pineal gland. *Biol Reprod* 1970;2(2):216-22.
13. Reiter RJ. Photoperiod: its importance as an impeller of pineal and seasonal reproductive rhythms. *Int J Biometeorol* 1980;24(1):57-63.
14. Klein DC, Weller JL. Indole metabolism in the pineal gland: a circadian rhythm in N-acetyltransferase. *Science* 1970;169(3950):1093-5.
15. Turek FW, Joshu C, Kohsaka A, Lin E, Ivanova G, McDearmon E, et al. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice. *Science* 2005;308(5724):1043-5.
16. Spiegel K, Leproult R, Van Cauter E. Impact of sleep debt on metabolic and endocrine function. *Lancet* 1999;354(9188):1435-9.
17. Ramracheya RD, Muller DS, Squires PE, Brereton H, Sugden D, Huang GC, et al. Function and expression of melatonin receptors on human pancreatic islets. *J Pineal Res* 2008;44(3):2739.
18. von Gall C, Stehle JH, Weaver DR. Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction. *Cell Tissue Res* 2002;309(1):151-62.
19. Rönn T, Wen J, Yang Z, Lu B, Du Y, Groop L, et al. A common variant in MTNR1B, encoding melatonin receptor 1B, is associated with type 2 diabetes and fasting plasma glucose in Han Chinese individuals. *Diabetologia* 2009;52(5):830-3.
20. Lyssenko V, Nagorny CL, Erdos MR, Wierup N, Jonsson A, Spegel P, et al. Common variant in MTNR1B associated with increased risk of type 2 diabetes and impaired early insulin secretion. *Nat Genet* 2009;41(1):82-8.
21. Staiger H, Machicao F, Schäfer SA, Kirchhoff K, Kantartzis K, Guthoff M, et al. Polymorphisms within the novel type 2 diabetes risk locus MTNR1B determine β-cell function. *PloS One* 2008;3(12):e3962.
22. Li C, Qiao B, Zhan Y, Peng W, Chen Z-J, Sun L, et al. Association between genetic variations in MTNR1A and MTNR1B genes and gestational diabetes mellitus in Han Chinese women. *Gynecologic and obstetric investigation* 2013;76(4):221-7.
23. Marathe PH, Gao HX, Close KL. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017. *J Diabetes* 2017;9(4):320-4.
24. Miller S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16(3):1215.
25. Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proença C, Sparsø T, Holmkvist J, Marchand M, et al. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nat Genet* 2009;41(1):89.
26. Tsuneki H, Sasaoka T, Sakurai T. Sleep control, GPCRs, and glucose metabolism. *Trends Endocrinol Metab* 2016;27(9):633-42.
27. Peschke E, Bähr I, Mühlbauer E. Melatonin and pancreatic islets: interrelationships between melatonin, insulin and glucagon. *Int J Mol Sci* 2013; 14(4):6981-7015.
28. Salman M, Dasgupta S, Cholendra A, Venugopal P, Lakshmi G, Xaviour D, et al. MTNR1B gene polymorphisms and susceptibility to Type 2 Diabetes: A pilot study in South Indians. *Gene* 2015;566(2):189-93.
29. Staiger H, Machicao F, Fritsche A, Häring H-U. Pathomechanisms of type 2 diabetes genes. *Endocr Rev* 2009;30(6):557-85.
30. Sung HJ, Jung MK, Eom Y-B, Lee J-E, Sull JW, Jee SH. Effects of MTNR1B variants on fasting glucose levels in a Korean population. *Genes Genomics* 2012;34(1):103-6.
31. Mazzoccoli G, Dagostino MP, Paroni G, Seripa D, Ciccone F, Addante F, et al. Analysis of MTNR1B gene polymorphisms in relationship with IRS2 gene variants, epicardial fat thickness, glucose homeostasis and cognitive performance in the elderly. *Chronobiol Int* 2017;34(8):1083-93.
32. Patel R, Rathwa N, Palit SP, Ramachandran A, Begum R. Association of melatonin & MTNR1B variants with type 2 diabetes in Gujarat population. *Biomed Pharmacother* 2018;103:429-34.
33. Wheeler E, Marenne G, Barroso I. Genetic aetiology of glycaemic traits: approaches and insights. *Hum Mol Genet* 2017;26(R2):R172-R84.
34. Kwak SH, Kim S-H, Cho YM, Go MJ, Cho YS, Choi SH, et al. A genome-wide association study of gestational diabetes mellitus in Korean women. *Diabetes* 2012;61(2):531-41.
35. Poorolajal J. Resistance economy and new population policy in Iran. *J Res Health Sci* 2017;17(1):e00367.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 2:15 IRST on Wednesday October 28th 2020

ASSOCIATION ANALYSIS BETWEEN RS10830962 VARIANT OF MTNR1B GENE AND TYPE 2 DIABETES MELLITUS RISK

Negin Bozorgnejad[1], Hamid Reza Aghaei Meybodi [2*], Mahdi Afshari [3], Negar Sarhangi [2], Mandana Hasanzad [1*]

1. *Medical Genomics Research Center, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
2. *Personalized Medicine Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
3. *Department of Community Medicine, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran*

ABSTRACT

Background: Type 2 diabetes mellitus (T2DM) is the most common type of diabetes that was classically characterized by pancreatic β-cell dysfunction. Changes in circadian patterns is one of the reasons which can increase the occurrence of diabetes. Melatonin is one of the biological molecules which plays an important role in regulating the circadian clock and also an inhibitory effect on insulin secretion in β-cells. The aim of this study was to examine the association between MTNR1B (rs10830962) gene polymorphism and the risk of T2DM.

Methods: Genotyping was carried out in a total number of 208 subjects including 108 patients with T2DM and 100 normal controls using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) which is confirmed by Sanger sequencing method.

Results: The frequencies of CC, GC and GG among cases were 54.63%, 1.85% and 43.52% and in control subjects were 81%, 0% and 19% respectively (P<0.001). Frequency of G allele among diabetic patients was significantly higher than non-diabetics (OR=3.34, CI=2.10-5.36, P<0.001).

Conclusion: Our study showed that rs10830962 polymorphism of the MTNR1B gene can be directly associated with T2DM risk.

Keywords: Type 2 diabetes, MTNR1B gene, rs10830962

*No.10- Jalal -e-Ale-Ahmad Street, Chamran Highway, Tehran, Iran, Postal Code: 1411713119, Tel: +98-21-88220091, Fax: +98-21-88220052, Email: dr_aghai@yahoo.com

* Islamic Azad University, Khaghani Avenue, Shariati St, Tehran, Iran.Postal Code: 193951459, Tel: +98-21-22008065, Fax: +98-21-22008072, Email: mandanahasanzad@yahoo.com