

بررسی نقش واریانت rs4753426 ژن MTNR1B در خطر ابتلا به دیابت نوع دو

آناهیتا فخرایی نسب^۱، حمید رضا آقایی میبیدی^{۲*}، مهدی افشاری^۳، نگار سرهنگی^۲، ماندانا حسن زاد^{۱*}

چکیده

مقدمه: دیابت نوع دو یک بیماری پلی ژنیک است که به دلیل اختلال در ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و عملکرد نادرست سلول‌های β ایجاد می‌شود. ملاتونین یک تنظیم کننده ریتم شبانه‌روزی است و عدم تعادل در سطح آن می‌تواند ناشی از اختلالات متابولیکی باشد. بررسی‌ها نشان داده است که ملاتونین و واریانت‌های ژنتیکی *MTNR1B* با ابتلا به دیابت نوع دو مرتبط هستند. ما در این مطالعه ارتباط بین واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* و خطر ابتلا به دیابت نوع دو را در گروهی از بیماران ایرانی بررسی کردیم. روش‌ها: در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی ۱۰۸ فرد مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۰۰ فرد سالم جهت تعیین ژنوتیپ با استفاده از تکنیک RFLP-PCR انتخاب شدند.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌دار در فراوانی ژنوتیپ‌های CT،TT و CC بین دو گروه مبتلا به دیابت نوع دو و نرمال مشاهده شد ($P < 0.001$). فراوانی آلل C در بین افراد بیمار به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از افراد سالم بود (۸/۳ در مقابل ۴۲/۵ درصد و $P < 0.001$) و ناقلین آلل C در مقایسه با T، ۸۸ درصد خطر کمتری برای ابتلا به دیابت نوع دو داشتند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل نشان داد که واریانت rs4753426 در ژن *MTNR1B* می‌تواند خطر ابتلا به دیابت نوع دو را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: ملاتونین، *MTNR1B*، rs4753426، دیابت نوع دو

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، خیابان شریعتی، خیابان خاقانی، دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران، مرکز تحقیقات ژنومیک پزشکی، کدپستی:

۱۹۱۶۸۹۳۸۱۳، تلفن: ۰۲۱۲۲۰۰۸۰۶۵، نمابر: ۰۲۱۲۲۰۰۸۰۷۲، پست الکترونیک: mandanahasanzad@yahoo.com

*نشانی: تهران، بزرگراه شهید چمران، تقاطع جلال آل احمد، بعد از دانشگاه تربیت مدرس، پلاک ۱۰، پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم،

کدپستی: ۱۴۱۱۷۱۳۱۳۷، تلفن: ۰۲۱۸۸۲۲۰۰۹۱، نمابر: ۰۲۱۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: dr_aghai@yahoo.com

مقدمه

ملاتونین در عملکرد سلول‌های پانکراس در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو را توضیح دهد [۱۱، ۱۰]. ملاتونین در کروموزوم ۱۱ انسانی (11q21-q22) واقع شده است و اندازه‌ی آن ۱۳/۱۶ کیلو باز است [۱۲]. مطالعات همراهی ژنوم نشان داده‌اند که واریانت‌های شایع ژن *MTNR1B* از جمله rs4753426 به‌طور قابل توجهی با افزایش سطح گلوکز ناشتا همراه است [۱۳]. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط واریانت ژن *MTNR1B* rs4753426 با خطر ابتلا به دیابت نوع دو در گروهی از بیماران ایرانی انجام گردید.

روش‌ها

انتخاب نمونه

این مطالعه شامل ۱۰۸ فرد مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۰۰ فرد سالم به‌عنوان گروه شاهد در محدوده‌ی سنی ۲۰ تا ۷۰ سال و شاخص توده‌ی بدنی^۳ ۲۵ تا ۳۵ است. انتخاب افراد براساس دستورالعمل بالینی انجمن دیابت آمریکا^۴ صورت گرفت [۱۴]. افراد با قند خون ناشتا^۵ برابر با ۱۲۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر یا بیشتر که ابتلای آن‌ها به دیابت از سوی پزشک تأیید شده باشد به‌عنوان گروه دیابتی و افراد با قند خون ناشتا کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و عدم هیچ‌گونه درمانی برای دیابت به‌عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. علاوه بر این افراد با سابقه‌ی خانوادگی دیابت در بستگان نزدیک، مبتلا به سرطان، در معرض پرتو و شیمی درمانی، سابقه‌ی فشار خون بالا، بیماری‌های عروق کرونر قلبی و سکتته‌ی مغزی از مطالعه حذف شدند.

پارامترهای دموگرافیک مانند سن، جنسیت و قومیت کلیه‌ی افراد شرکت کننده ثبت شد. رضایت نامه‌ی کتبی توسط هر شخص تکمیل و امضا شد. کد اخلاق (IR.IAU.PS.REC.1398.032) توسط کمیته‌ی اخلاق اخذ گردید.

دیابت نوع دو یکی از مشکلات بهداشت عمومی در سرتاسر جهان است که با افزایش قند خون مزمن ناشی از اختلال در ترشح انسولین، مقاومت به انسولین و عملکرد نادرست سلول‌های β مشخص می‌شود [۳-۱]. عوامل ژنتیکی و فاکتورهای خطرزای محیطی از جمله سن، عدم تحرک، رژیم غذایی با کلسترول بالا، فشارخون بالا، چاقی و اضافه وزن در پاتوژنز بیماری دیابت نوع دو نقش دارند [۴]. مطالعات همراهی ژنوم^۱ بیش از ۸۰ جایگاه ژنتیکی مرتبط با دیابت نوع دو مانند *IGF2BP2*، *SLC30A8*، *CDKAL1*، *MTNR1B* را شناسایی کرده‌اند [۵]. بسیاری از این جایگاه‌های ژنتیکی بر ترشح انسولین و چاقی تأثیر دارند [۶]. ملاتونین یک تنظیم کننده‌ی ریتم شبانه روزی است و هرگونه عدم تعادل در سطح آن می‌تواند منجر به اختلالات متابولیکی مختلف شود [۷، ۸]. ملاتونین همچنین با اثر بر ریتم شبانه‌روزی می‌تواند بر متابولیسم گلوکز تأثیر بگذارد و علاوه بر این می‌تواند با تأثیر بر ترشح انسولین و گلوکز اندروژن نقش مهمی در ایجاد دیابت نوع دو ایفا کند [۹]. آنالیز ملاتونین در سلول‌های پانکراس نشان داده است که ملاتونین رشد و تمایز سلول‌های پانکراس را از طریق تحریک گیرنده‌های فاکتور رشد انسولین^۲ و فسفریلاسیون تیروزین گیرنده‌های انسولین انجام می‌دهد. مطالعات مرتبط با اثرات ملاتونین در هموستازی گلوکز نشان داده است که مصرف ملاتونین خوراکی اثر ضد گلاپمسی دارد و باعث حساسیت به انسولین و بهبود عملکرد سلول‌های β پانکراس می‌شود. اثرات ملاتونین توسط دو G پروتئین *MTNR1A* (MT1) و *MTNR1B* (MT2) اعمال می‌شود. گیرنده‌ی B1 ملاتونین (*MTNR1B*) یک ژن کاندید جدید مرتبط با دیابت نوع دو است. گیرنده‌های MT1 و MT2 در جزایر پانکراس بیان می‌شوند. مشاهدات نشان داده‌اند که فعال شدن گیرنده‌های ملاتونین در سلول‌های پانکراس توسط ملاتونین می‌تواند به‌طور مستقیم بر تولید انسولین تأثیر بگذارد و از لحاظ بیوشیمیایی می‌تواند چگونگی تأثیر کاهش سطح

³ Body Mass Index (BMI)

⁴ American Diabetes Association (ADA)

⁵ FBS

¹ Genome-wide association studies (GWAS)

² Insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-R)

تعیین ژنوتیپ

پنج میلی‌لیتر خون وریدی محیطی از بیماران مبتلا به دیابت نوع دو و افراد سالم در لوله‌های حاوی ماده‌ی ضد انعقاد EDTA جمع‌آوری شد. DNA به روش استاندارد نمک اشباع استخراج شد [۱۵] و خلوص و کیفیت DNA توسط دستگاه اسپکتوفوتومتری مورد بررسی قرار گرفت. تعیین ژنوتیپ واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* با استفاده از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمرز- چند شکلی طول قطعه محدود شونده^۱ (هضم آنزیمی) انجام شد. براساس مطالعه‌ی Qiu و همکاران پرایمرهای Forward و Reverse مورد استفاده به ترتیب عبارتند از:

5'-AACATATTTGTGATTAATCCATGC-3' و

3'-TAACACCTGCAATTTCCACC-5' [۱۶].

واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز^۲ در حجم کلی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲ میکرولیتر آب مقطر، ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۰/۲ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای رقیق شده (با غلظت ۱۰ پیکومول) و ۱ میکرولیتر از DNA ژنومی انجام شد.

برنامه‌ی دمایی واکنش PCR عبارت است از ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله‌ی بعد ۳۵ سیکل با دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و مدت زمان ۵۰ ثانیه واسرشت کردن دو رشته‌ی DNA، مرحله‌ی اتصال پرایمرها با دمای ۵۲/۹ درجه‌ی سانتی‌گراد و مدت زمان ۵۰ ثانیه و مرحله‌ی طویل شدن با دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و مدت زمان ۵۰ ثانیه و در نهایت مرحله‌ی گسترش نهایی با دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و مدت ۵ دقیقه (شکل ۱).

محصولات حاصل از واکنش PCR توسط آنزیم محدود کننده‌ی HaeIII در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک شبانه روز مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. سپس محصولات حاصل از هضم آنزیمی به وسیله‌ی الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته و طول قطعات با استفاده از Ladder ۱۰۰ جفت بازی تخمین زده شد [۱۷].

بررسی‌های آماری

از نرم‌افزار SPSS (نسخه‌ی ۱۴/۲) برای تحلیل داده‌ها استفاده شد. فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها بین دو گروه مورد و شاهد با استفاده از تست کای دو^۳ و آزمون دقیق فیشر مورد مقایسه قرار گرفت. ارتباط خام و تنظیم شده (کنترل سن) بین آلل‌ها و ژنوتیپ‌های واریانت ژن *MTNR1B* و خطر ابتلا به دیابت نوع دو با استفاده از مدل‌های رگرسیون لجستیک یک متغیره، چندمتغیره^۴ و فواصل اطمینان^۵ ۹۵ درصد ارزیابی شد. از t-test و Mann-Whitney test برای مقایسه‌ی متغیرهای پیوسته بین دو گروه استفاده گردید که با میانگین (انحراف معیار) نشان داده شد. همچنین از آزمون کای دو برای ارزیابی تعادل هاردی واینبرگ^۶ در توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های واریانت rs4753426 در گروه کنترل استفاده شد. مقدار P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنادار تعریف شد.

یافته‌ها

در مجموع، ژنوتیپ ۲۰۸ شرکت کننده (۱۰۸ فرد مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۰۰ فرد سالم) با میانگین سنی ۴۶/۸ سال برای واریانت rs4753426 از ژن *MTNR1B* با موفقیت تعیین شد. جدول ۱ خصوصیات جمعیت مورد بررسی را نشان می‌دهد. گروه بیمار به‌طور متوسط مسن‌تر از افراد سالم بودند (۵۴/۳ در مقابل ۳۸/۷ و $P < ۰/۰۰۰۱$). اما این دو گروه بر اساس جنسیت (۶۵/۷ درصد زنان در گروه بیمار و ۶۶ درصد در گروه نرمال، $P = ۰/۹$) تفاوت معناداری نداشتند. پراکندگی نژادها بین این دو گروه یکسان نبود و بیشترین قومیت‌ها متعلق به قومیت فارس (۴۴/۶ درصد) و قومیت آذری (۴۳/۶ درصد) بود. فراوانی قومیت فارس به‌طور معنی‌داری در بین افراد دیابتی نسبت به افراد نرمال پایین‌تر بود. (به ترتیب ۳۱/۴ در مقابل ۶۲/۵ درصد، $P < ۰/۰۰۱$).

3 Chi-squared test

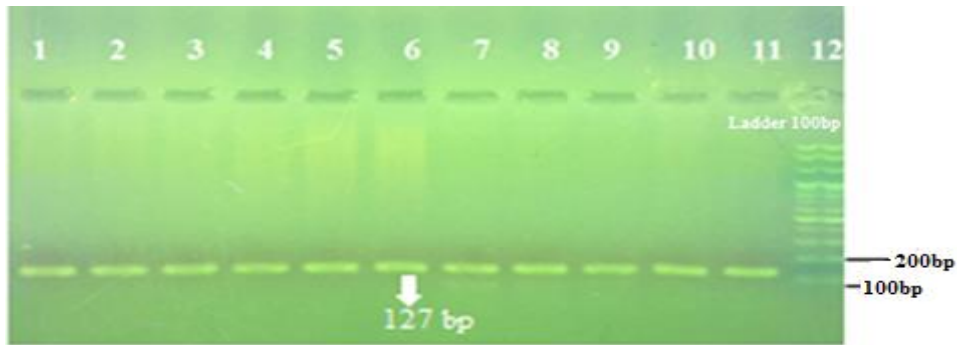
4 Odds ratio (OR)

5 Confidence interval (CI)

6 Hardy-Weinberg equilibrium (HWE)

¹ Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP)

² Polymerase chain reaction (PCR)



شکل ۱- محصولات حاصل از واکنش PCR بر روی ژل ۲ درصد آگارز در چاهک های ۱ تا ۱۱ محصولات PCR و در چاهک ۱۲، Ladder ۱۰۰ جفت بازی قرار دارد.

جدول ۱- مقایسه‌ی افراد گروه بیمار و کنترل با توجه به فاکتورهای مختلف

عوامل	دیابت نوع ۲ تعداد (%)	افراد سالم تعداد (%)
جنسیت		
مرد	۳۷ (۳۴/۲)	۳۴ (۳۴)
زن	۷۱ (۶۵/۷)	۶۶ (۶۶)
قومیت		
فارس	۳۴ (۳۱/۴) **	۵۰ (۶۲/۵)
اقوام دیگر	۷۴ (۶۸/۵)	۳۰ (۳۷/۵)
فاقد اطلاعات قومیتی	-	۲۰ (۲۰)
سن	۵۴/۳±۱۰/۹ **	۳۸/۷±۱۴/۹

* متغیر سن به صورت Mean ± SD و سایر متغیرها به صورت فراوانی (درصد) ذکر گردیده‌اند.
** P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

فراوانی ترکیب ژنوتیپ‌های CC و CT (CT+CC) در مقابل ژنوتیپ رفرنس (TT) به‌عنوان یکی از مدل‌های ژنتیکی به‌طور قابل توجهی در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود (P< ۰/۰۰۱) (جدول ۲). همان‌طور که جدول ۳ نشان می‌دهد، فراوانی آلل C به‌طور معنی‌داری در افراد بیمار پایین‌تر از فراوانی آن در افراد سالم بود. (P<۰/۰۰۱، CI= ۰/۰۷-۰/۲۲، OR= ۰/۱۲).

اگرچه فراوانی ژنوتیپ‌های CT و TT بین دو گروه بیمار و سالم از نظر آماری تفاوت معنادار را نشان نداد، فراوانی ژنوتیپ CC در بیماران به‌طور قابل توجهی پایین‌تر از گروه سالم بود و ارتباط معناداری با کاهش خطر ابتلا به دیابت نوع دو را حتی بعد از کنترل اثر قومیت نشان داد (P<۰/۰۰۱، CI= ۰/۰۵-۰/۲۹، OR= ۰/۱۲، P< ۰/۰۰۱، CI= ۰/۰۳-۰/۰۸، OR= ۰/۰۸، CI= ۰/۰۳-۰/۰۳). همچنین

جدول ۲- توزیع ژنوتیپ‌ها واریانت rs4753426 ژن MTNR1B در گروه بیمار (۱۰۸ نفر) و کنترل (۱۰۰ نفر) و ارتباط خام و تنظیم شده آنها با خطر ابتلا به دیابت نوع دو

ژنوتیپ	دیابت نوع ۲ تعداد (درصد)	سالم تعداد (درصد)	نسبت شانس خام*	۹۵ درصد فاصله اطمینان*	نسبت شانس تنظیم شده	۹۵ درصد فاصله اطمینان
TT	۹۹ (۹۱/۶)	۵۶ (۵۶)	۱		۱	
CT	۰ (۰)	۳ (۳)	۰/۱۵	۰-۱/۴	۰/۱۱	۰-۱/۱
CC	۹ (۸/۳)**	۴۱ (۴۱)	**۰/۱۲	۰/۰۵-۰/۲	**۰/۰۸	۰/۰۳-۰/۲
CT+CC	۹ (۸/۳)**	۴۴ (۴۴)	۰/۱۱	۰/۰۵-۰/۲	۰/۰۸	۰/۰۳-۰/۱

*نسبت شانس‌ها (Odd Ratio)، فاصله‌ی اطمینان (Confidence Interval)
**P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

جدول ۳- توزیع آللی واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* در گروه بیمار (۱۰۸ نفر) و کنترل (۱۰۰ نفر) و ارتباط آنها با خطر ابتلا به دیابت نوع دو

آل‌ها	دیابت نوع دو (درصد)	سالم (%) (درصد)	نسبت شانس خام*	۹۵ درصد فاصله اطمینان*
T	۹۱/۶	۵۷/۵	۱	
C	۸/۳**	۴۲/۵	۰/۱	۰/۰۷-۰/۲

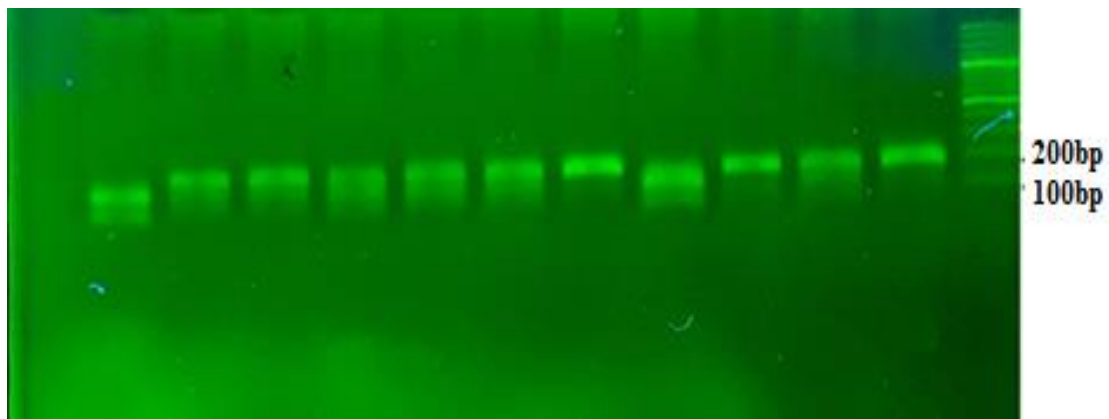
*نسبت شانس ها (Odds Ratio)، فاصله اطمینان (Confidence Interval)
**P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل

جدول ۴ نشان می‌دهد که میانگین HbA1c (Hemoglobin A1c) در میان بیماران با ژنوتیپ TT و CC به ترتیب ۷/۸۵ (انحراف معیار = ۱/۶) و ۸/۹ (انحراف معیار = ۲/۴) بوده است (P = ۰/۱). همان‌طور که در شکل ۱ نتیجه تکثیر قطعه ۱۲۷ جفت بازی در واکنش PCR نشان داده شده است در حضور آلل C قطعه ۱۲۷ جفت بازی حاصل از واکنش PCR توسط آنزیم HaeIII به دو قطعه ۲۳ و ۱۰۴ جفت بازی (ژنوتیپ هموزیگوت CC) تقسیم خواهد شد.

جدول ۴- میانگین HbA1c در بیماران دیابت نوع دو با ژنوتیپ‌های متفاوت واریانت rs4753426

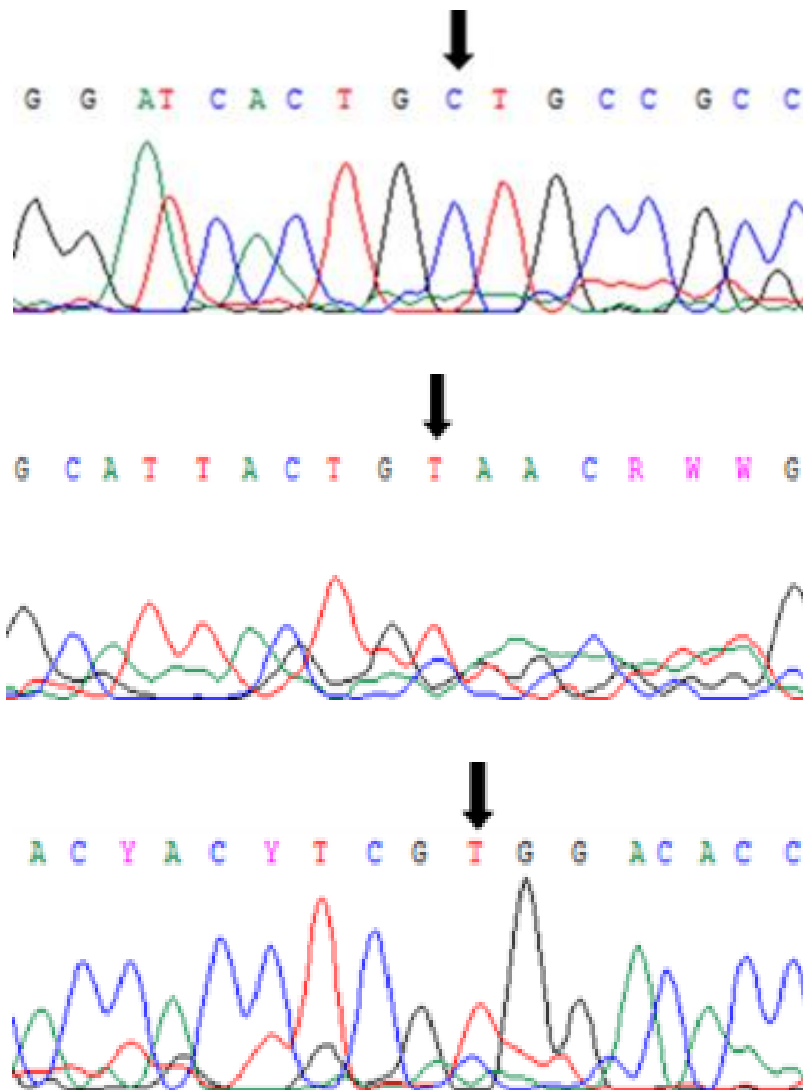
ژنوتیپ	فراوانی	میانگین	انحراف از معیار
TT	۹۹	۷/۸	۱/۶
CC	۹	۸/۹	۲/۴

در صورتی که در محل جایگاه برش توسط آنزیم آلل T باشد، محصول PCR هضم نشده و همان قطعه‌ی اولیه ۱۲۷ جفت بازی ایجاد خواهد شد. سه قطعه‌ی ۲۳، ۱۰۴ و ۱۲۷ جفت بازی نشان دهنده‌ی ژنوتیپ هتروزیگوت CT است (شکل ۲). برای تأیید نتایج تعدادی از نمونه‌ها به صورت تصادفی انتخاب و به روش سنگر توالی‌یابی شدند (شکل ۳).



شکل ۲- نتیجه هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ درصد

ژنوتیپ TT (قطعه ۱۲۷ جفت بازی)، CT (سه قطعه ۲۳، ۱۰۴ و ۱۲۷ جفت بازی) و CC (دو قطعه ۲۳ و ۱۰۴ جفت بازی)



شکل ۳- نتایج تعیین توالی واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B*

الف) ژنوتیپ CC، ب) CT و ج) TT

بحث

ملاتونین یک هورمون غده‌ی پینه‌آل است که با حفظ ریتم‌های شبانه‌روزی، متابولیسم انرژی را تنظیم می‌کند. مطالعات گسترده‌ی ژنومی ارتباط نزدیکی را بین واریانت‌های ژن *MTNR1B* و هایپرگلیسمی ناشتا و بیماری دیابت نوع دو نشان داده‌اند [۱۸].

طبق بررسی‌های انجام شده در این مطالعه، در افراد مبتلا به دیابت نوع دو فراوانی ژنوتیپ‌های واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* در مقایسه با افراد سالم به‌طور معناداری پایین‌تر بود. ژنوتیپ هموزیگوت CC این واریانت به‌طور معناداری خطر ابتلا به دیابت را بیش از ۹۰ درصد کاهش می‌دهد. اگرچه ژنوتیپ هتروزیگوت

CT تقریباً ۹۰ درصد خطر ابتلا به دیابت نوع دو را افزایش می‌دهد اما این ارتباط از نظر آماری معنادار نبود. علاوه بر این، بررسی‌های آللی نشان داد که افراد حامل آلل C در مقایسه با حاملین آلل T ۸۸ درصد خطر کمتری برای ابتلا به دیابت نوع دو دارند. بنابراین، این آلل می‌تواند با کاهش خطر ابتلا به دیابت نوع دو ارتباط داشته باشد.

با توجه به اینکه دیابت نوع دو یک بیماری چند عاملی است بنابراین علاوه بر فاکتورهای ژنتیکی، عوامل محیطی از جمله نوع تغذیه، شیوه‌ی زندگی، در پاتوژنز آن مؤثر است. از طرف دیگر با در نظر گرفتن پلی ژنیک بودن دیابت نوع دو، واریانت ژنتیکی مختلف در احتمال ابتلا به آن نقش دارد که در نهایت تعیین خطر

الف

ب

ج

که واریانت‌های rs4753426 ژن *MTNR1B* با تست تحمل گلوکز خوراکی ارتباط دارد. آنها همچنین نشان دادند که آلل C نقش آلل جهش یافته را دارد و بر عملکرد سلول‌های β اثر منفی می‌گذارد و ژنوتیپ‌های CC و CT با خطر ابتلا به دیابت نوع دو ارتباط نزدیکی دارد [۱۹]. Zhan و همکاران در سال ۲۰۱۵ به بررسی ارتباط بین واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* و خطر ابتلا به دیابت بارداری در ۱۸۶ بیمار مبتلا به دیابت بارداری و ۳۳۰ فرد سالم پرداختند. آن‌ها نشان دادند که واریانت rs4753426 ممکن است با دیابت بارداری ارتباط داشته باشد و آلل C می‌تواند سطح گلوکز پلاسما را افزایش داده و فعالیت سلول‌های β را کاهش دهد [۲۰]. در مطالعه‌ی Tamowski و همکاران در سال ۲۰۱۶ با بررسی ۲۰۴ زن مبتلا به دیابت بارداری و ۲۰۷ زن باردار با تست تحمل گلوکز نرمال^۳ از نظر آماری تفاوت معناداری در ژنوتیپ‌ها و آلل‌های واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* بین دو گروه مورد مطالعه وجود نداشت [۶].

نتیجه‌گیری

امروزه پزشکی فرد محور و استفاده از داده‌های ژنتیکی به‌عنوان ابزاری برای پیشگیری و پیش‌بینی بیماری‌های شایع محسوب می‌شود. که مطالعات همراهی ژنومی از جمله‌ی مهم‌ترین ابزار مورد استفاده است. نتایج حاصل از این مطالعه که به نوعی از نوع مطالعات همراهی ژنومی در مقیاس کوچک است، نشان داد که واریانت rs4753426 در ژن *MTNR1B* با بیماری دیابت نوع دو ارتباط داشته و احتمالاً خطر ابتلا به بیماری را کاهش می‌دهد اما برای تأیید نقش حفاظتی آلل C مطالعات بیشتر با حجم نمونه‌ی بزرگتر پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری

نویسندگان این مطالعه برخورد لازم می‌دانند از همه‌ی افراد شرکت کننده در این طرح تشکر و قدر دانی نمایند.

ابتلا به بیماری پس از بررسی همه‌ی فاکتورهای ژنتیکی در قومیت‌های مختلف و همچنین فاکتورهای محیطی امکان‌پذیر خواهد بود. که در آینده‌ی نزدیک این امر با استفاده از داده‌های بزرگ^۱ و ترجمان آن با ابزار Machine Learning امکان‌پذیر خواهد شد.

همچنین مطالعه‌ی حاضر نشان داد که در بیماران مبتلا به دیابت افراد حامل آلل T و C از نظر HbA1c هیچ تفاوتی وجود ندارد در نتیجه این واریانت نمی‌تواند در درمان تأثیری داشته باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Patel و همکاران در سال ۲۰۱۸ انجام شد، ارتباط بین واریانت‌های ژن *MTNR1B* با ابتلا به دیابت نوع دو در جمعیت Gujarat مورد بررسی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد که هیچ ارتباطی بین واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* و دیابت نوع دو وجود ندارد. همچنین در این مطالعه گزارش شد که واریانت rs4753426 هیچ ارتباطی با قند خون ناشتا، نمایه‌ی توده‌ی بدنی و لیپیدهای پلاسمایی ندارند [۸]. برخلاف آن Mazzocchi و همکاران با بررسی ساختار ژنتیکی ۶۰ نفر از افراد غیر دیابتی قفقازی جهت تعیین اثرات متقابل بین واریانت‌های ژن *MTNR1B* با حساسیت به انسولین، ضخامت دیواره‌ی بطن چپ و عملکرد آن در سالمندان به این نتیجه رسیدند که ارتباط معناداری بین rs4753426 و افزایش گلوکز ناشتای پلاسمایی وجود دارد [۱۱]. علاوه بر این، ارتباط قابل توجهی بین واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* با افزایش غلظت گلوکز پلاسمایی ناشتا و کاهش تست تحمل گلوکز خوراکی و تست تحمل گلوکز وریدی^۲ وابسته به انسولین در مطالعه‌ی Staiger و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش شد. همچنین نتایج این مطالعه نشان داد که آلل مینور واریانت rs4753426 ژن *MTNR1B* تشریح انسولین را براساس مقادیر به‌دست آمده از تست‌های تحمل گلوکز به میزان ۲۰ درصد کاهش می‌دهد [۵]. در مطالعه‌ی دیگری که توسط Mussig و همکاران انجام شد مشخص شد که واریانت‌های ژن *MTNR1B* از جمله rs4753426 باعث افزایش خطر ابتلا به دیابت کودکان و بزرگسالان از طریق اختلال در سطح گلوکز ناشتا و عملکرد سلول‌های β می‌شود [۱۳]. Dietrich و همکاران دریافتند

¹ Big Data

² Intravenous glucose tolerance tests (IVGTT)

³ Normal glucose tolerance (NGT)

ماخذ

1. Staiger H, Machicao F, Fritsche A, Häring H-U. Pathomechanisms of type 2 diabetes genes. *Endocr Rev* 2009;30(6):557-85.
2. Shen LL, Jin Y. Effects of MTNR1B genetic variants on the risk of type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Mol Genet Genomic Med* 2019;7(5):e611.
3. Gravand A, Foroughmand AM, Boroujeni MP. A study on the association of TCF7L2 rs11196205 (C/G) and CAPN10 rs3792267 (G/A) polymorphisms with type 2 diabetes mellitus in the South Western of Iran. *Egypt J Med Hum Genet* 2018;19(4):403-7.
4. Davegardh C, Garcia-Calzon S, Bacos K, Ling C. DNA methylation in the pathogenesis of type 2 diabetes in humans. *Mol Metab* 2018 ;14:12-25.
5. 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.
6. Tarnowski M, Malinowski D, Safranow K, Dziedzic V, Pawlik A. MTNR1A and MTNR1B gene polymorphisms in women with gestational diabetes. *Gynecol Endocrinol* 2017;33(5):395-8.
7. Huber M, Treszl A, Reibis R, Teichmann C, Zergibel I, Bolbrinker J, et al. Genetics of melatonin receptor type 2 is associated with left ventricular function in hypertensive patients treated according to guidelines. *Eur J Intern Med* 2013;24(7):650-5.
8. Patel R, Rathwa N, Palit SP, Ramachandran AV, Begum R. Association of melatonin & MTNR1B variants with type 2 diabetes in Gujarat population. *Biomed Pharmacother* 2018;103:429-34.
9. Song J-Y, Wang H-J, Ma J, Xu Z-Y, Hinney A, Hebebrand J, et al. Association of the rs10830963 polymorphism in MTNR1B with fasting glucose levels in Chinese children and adolescents. *Obesity facts* 2011;4(3):197-203.
10. Sharma S, Singh H, Ahmad N, Mishra P, Tiwari A. The role of melatonin in diabetes: therapeutic implications. *Arch Endocrinol Metab* 2015;59(5):391-9.
11. 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.
12. Abd El Moneim NA, Masry HE, Sorial MM, Hewala TI, Embaby A, Sheweita S. A molecular case-control study on the association of melatonin hormone and rs# 10830963 single nucleotide polymorphism in its receptor MTNR1B gene with breast cancer. *Middle East Journal of Cancer* 2015;6(1):11-20.
13. Mussig K, Staiger H, Machicao F, Haring HU, Fritsche A. Genetic variants in MTNR1B affecting insulin secretion. *Ann Med* 2010;42(6):387-93.
14. Marathe PH, Gao HX, Close KL. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017. *J Diabetes* 2017;9(4):320-4.
15. Mwer S, Dykes D, Polesky H. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;16:1215.
16. Qiu XS, Tang NL, Yeung HY, Lee K-M, Hung VW, Ng BK, et al. Melatonin receptor 1B (MTNR1B) gene polymorphism is associated with the occurrence of adolescent idiopathic scoliosis. *Spine (Phila Pa 1976)* 2007;32(16):1748-53.
17. 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 global human populations. *Journal of pineal research*. *J Pineal Res* 2010;48(2):133-41.
18. Bouatia-Naji N, Bonnefond A, Cavalcanti-Proenca C, Sparso T, Holmkvist J, Marchand M, et al. A variant near MTNR1B is associated with increased fasting plasma glucose levels and type 2 diabetes risk. *Nature Genet* 2009;41(1):89-94.
19. Dietrich K, Birkmeier S, Schleinitz D, Breitfeld J, Enigk B, Müller I, et al. Association and evolutionary studies of the melatonin receptor 1B gene (MTNR1B) in the self-contained population of Sorbs from Germany. *Diabet Med* 2011;28(11):1373-80.
20. Zhan Y, Li C, Gao Q, Chen J, Yu S, Liu SG. Association between the rs4753426 polymorphism in MTNR1B with fasting plasma glucose level and pancreatic beta-cell function in gestational diabetes mellitus. *Genet Mol Res* 2015;14(3):8778-85.

INVESTIGATING THE ROLE OF *MTNR1B* RS4753426 GENETIC VARIANT IN THE TYPE 2 DIABETES MELLITUS RISK

Anahita Fakhraei Nasab¹, Hamid Reza Aghaei Meybodi^{2*}, Mahdi Afshari³, Negar Sarhangi², 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 a multifactorial, polygenic disease caused by impaired insulin secretion, insulin resistance and beta-cell dysfunction. Melatonin is a circadian rhythm regulator and any imbalance in its levels can be related to various metabolic disorders. Melatonin and the genetic variants of *MTNR1B* gene are reported to be associated with T2DM susceptibility. We investigated the association between rs4753426 variant in the *MTNR1B* gene and the risk of T2DM in group of Iranian patients.

Methods: In this case-control study 108 T2DM and 100 normal individuals were recruited to genotyping by PCR- RFLP.

Results: It was observed a significant difference in CC, CT, and TT genotypes distribution between T2DM and control groups ($P < 0.001$). Frequency of C allele among cases was significantly lower than controls (8.3% vs. 42.5% respectively, $P < 0.001$) and C allele carriers had a 88% lower risk of developing T2DM than T carriers.

Conclusion: Our results showed that the rs4753426 variant of *MTNR1B* gene could reduce the risk of T2DM developing.

Keyword: Melatonin, *MTNR1B*, rs4753426, T2DM

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

*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