مقاله پژوهشی

تأثیر پُلی‌مورفیسم rs61330082 ژن ویسفاتین بر سطح سرمی ویسفاتین، دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین در یک جمعیت ایرانی

فریبا سلطانزاده[۱]، معصومه نژادعلی*[۱]، لیلا پیشکار[۱]

چکیده

مقدمه: دیابت یک بیماری متابولیکی و شایع‌ترین اختلال غدد درون‌ریز است. ویسفاتین یک سیتوکین با اثرات شبه انسولینی است که با دیابت ارتباط دارد. پلی‌مورفیسم rs61330082 در پروموتر ژن ویسفاتین قرار دارد و بیان ژن ویسفاتین را تنظیم می‌کند. هدف این مطالعه، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs61330082 ژن ویسفاتین با متغیرهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی، سطح ویسفاتین، بیماری دیابت و مقاومت به انسولین است.

روش‌ها: این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۸۰ فرد مبتلا به دیابت و ۸۰ کنترل (افراد بدون دیابت) انجام شد. پارامترهای بیوشیمیایی و آنتروپومتریک با روش استاندارد تعیین شدند. سطح انسولین و ویسفاتین با تکنیک الایزا اندازه‌گیری شد. تعیین ژنوتیپ با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز- چندشکلی طول قطعه محدود انجام شد. داده‌ها با نرم‌افزار SPSS تجزیه‌وتحلیل شد.

یافته‌ها: در حاملین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082، سطح لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL-C) در افراد سالم و میزان قند خون ناشتا در افراد بیمار تفاوت معنی‌دار نشان داد. ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم و ویسفاتین یافت نشد. تحلیل رگرسیونی ژنوتیپ‌ها نشان داد ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 ارتباطی با بیماری دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین ندارد.

نتیجه‌گیری: پلی‌مورفیسم rs61330082 با LDL-C در افراد سالم و قندخون ناشتا در بیماران ارتباط دارد. پلی‌مورفیسم rs61330082 ویسفاتین ارتباطی باسطح ویسفاتین و بیماری دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین ندارد.

واژگان کلیدی: ویسفاتین، پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی، نیکوتین آمید فسفو ریبوزیل ترانسفراز، مقاومت به انسولین

۱- گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران

* ***نشانی:*** اسلامشهر، میدان نماز، خیابان صیاد شیرازی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر، تلفن: ۰۲۱-۳۵۶۳۵۸۱۰۵، پست الکترونیک: Masoumeh.Nezhadali@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۲۲ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۴۰۲/۰۴/۱۳** **تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۱**

مقدمه

رشد سریع و فزایندهٔ دیابت نوع دو یک مشکل جهانی است [۱] که به‌علت اختلال در سلول‌های بتا پانکراس یا مقاومت سلول‌ها به انسولین ایجاد می‌شود [۲]. شیوع جهانی دیابت در سال ۲۰۱۰ در میان بزرگسالان ٦/٤ درصد بود و به نظر می‌رسد به ۷/۷ درصد، معادل ٤۳۹ میلیون نفر در سال ۲۰۳۰ خواهد رسید. پیش‌بینی می‌شود دیابت بین سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۳۰ افزایش ٦۹ درصد در کشورهای در حال توسعه و ۲۰ درصد در کشورهای توسعه‌یافته خواهد داشت. براساس مطالعات اخیر ١٤ تا ۲۳ درصد ایرانی‌های بالای ۳۰ سال، دیابتی یا دچار اختلال عدم تحمل گلوکز هستند [۳]. امروزه، پره دیابت (اختلال گلوکز ناشتا و اختلال تحمل گلوکز) نیز به موازات دیابت در حال افزایش است [٤، ۱] در مرحلهٔ پیش‌دیابت قند خون بیشتر از مقدار طبیعی است اما به اندازه‌ای نیست که به آن دیابت گفته شود، این افراد با اصلاح شیوهٔ زندگی و فعالیت فیزیکی می‌توانند شانس ابتلا به دیابت را کاهش دهند [٤]. بافت چربی علاوه بر ذخیره انرژی با ترشح هورمون‌هایی مانند آدیپوکین‌های پیش التهابی و ضد التهابی نقش مهمی در مسیرهای متابولیکی ایفا می‌کند که عدم تعادل این دو نوع آدیپوکین منجر به اختلال و بیماری می‌شود [۵]. ویسفاتین یکی از آدیپوکین‌ها و پلی‌پپتیدی با وزن مولکولی ۵۲ کیلودالتون است، از ٤۹۱ اسید آمینه تشکیل شده است و تولید سایتوکین‌های پیش التهابی را افزایش می‌دهد. این پروتئین در جایگاهی متفاوت از محل انسولین به گیرندهٔ انسولین متصل می‌شود و جذب گلوکز توسط سلول‌های حساس به انسولین را تحریک و آزاد شدن گلوکز از سلول‌های کبد را مهار می‌کند. علاوه بر این، ویسفاتین به‌عنوان یک عامل تقویت کنندهٔ کلنی سلول‌های β شناخته شده است، که نقش مهمی در بیوسنتز نیکوتین آمید آدنین دی‌نوکلئوتید (NAD) ایفا می‌کند و ترشح انسولین را تنظیم می‌کند [٦]. ویسفاتین با متابولیسم گلوکز، ترشح و عملکرد انسولین و مقاومت به انسولین مرتبط است. ژن ویسفاتین بین q22.1 و q31.33 و بر روی کروموزوم ۷ قرار دارد و شامل ۱۰ اینترون و ۱۱ اگزون است. ویسفاتین با سیگنالینگ انسولین تداخل دارد، بنابراین ژن‌هایی که این آدیپوکین را تنظیم می‌کنند با مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو مرتبط است [۷]. تحقیقات بر روی پلی‌مورفیسم‌های مونوکلئوتیدی در ژن ویسفاتین نشان داده است این پلی‌مورفیسم‌ها ممکن است بیان ژن ویسفاتین را تغییر دهند، بنابراین با عوامل و بیماری‌های متابولیک مرتبط هستند [۸]. مطالعات انجام شده بر روی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP) که در بالادست ژن ویسفاتین قرار دارند نشان داده است این پلی‌مورفیسم‌ها با التهاب و متابولیسم گلوکز و لیپید ارتباط دارند. پلی‌مورفیسم rs61330082 در بالادست ناحیهٔ شروع ترجمهٔ ژن ویسفاتین قرار گرفته است. پلی‌مورفیسم rs61330082 بر روی فعالیت رونویسی ژن ویسفاتین و بیان آن مؤثر است، تغییر سطح ویسفاتین می‌تواند بر فنوتیپ تأثیر بگذارد [۹]. براساس تحقیقات در جمعیت‌های مختلف این پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) با کلسترول تام پلاسما و سطح LDL- کلسترول [۱۰] چاقی، فشار خون، سطح ویسفاتین پلاسما و تری‌گلیسیرید ارتباط دارد [۱۱، ۹]. مطالعات نشان داده است سطح ویسفاتین و پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی با بیماری‌های متابولیکی ارتباط دارند اما تحقیقات محدودی در زمینهٔ ارتباط پلی‌مورفیسم rs61330082 با بیماری‌های متابولیکی در جمعیت‌ها مختلف وجود دارد و پژوهشی بر روی پلی‌مورفیسم rs61330082 در جمعیت ایران انجام نشده است. این مطالعه برای بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs61330082 با پارامترهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی، بیماری دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین در جمعیت ایران انجام شده است.

روش‌ها

مطالعهٔ مورد شاهدی حاضر بر روی مراجعه کنندگان به بیمارستان‌های بوعلی و پارس انجام شد. تعداد افراد براساس فرمول برآورد حجم نمونه، محاسبه شد، ۱٦۰ نفر در این طرح وارد شدند که ۸۰ فرد بیمار مبتلا به پره دیابت/ دیابت نوع دو و ۸۰ فرد سالم بودند. قند خون در بیماران مبتلا به پره دیابت ۱۰۰ تا ۱۲۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و در افراد دیابتی ۱۲٦ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و بالاتر است [۱۲]. در جمعیت مذکور تابعیت ایرانی و عدم سابقهٔ مصرف دارو برای درمان دیابت معیار ورود به مطالعه بود و مصرف الکل، مصرف مواد مخدر، بیماری حاد، حاملگی، بیماری کلیوی، بیماری‌های کبد، بیماری قلبی، سرطان، بیماری‌های ایمنی، عفونت و فشار خون بالا،

معیار خروج از مطالعه بود. این مطالعه براساس تفاهم‌نامهٔ هلسینکی انجام گردید کد اخلاق مطالعهٔ حاضر IR.IAU.PIAU.REC.1400.003 در کمیتهٔ اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی پرند مصوب گردید. دراین پژوهش ابتدا اهداف مطالعه برای داوطلبان توضیح داده شد و پس از کسب رضایت کتبی پرسشنامه‌ای حاوی اطلاعات شخصی، فعالیت فیزیکی و رژیم غذایی، سوابق بیماری، داروهای خوراکی توسط شرکت کنندگان پر شد. دور کمر، متغیرهای قد و وزن با روش استاندارد اندازه‌گیری شد و نمایهٔ تودهٔ بدنی (kg وزن/ m^2 قد) محاسبه گردید [۱] .برای تعیین متغیرهای بیوشیمیایی و تعیین ژنوتیپ، ۱۰ میلی‌لیتر نمونه‌های خونی از افراد داوطلب بعد از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتایی گرفته شد که ۵ میلی‌لیتر در لوله‌های فاقد ضد انعقاد و ۵ میلی‌لیتر در لولهٔ حاوی ماده ضد انعقاد (۲۰ میلی‌گرم) جمع‌آوری گردید. لوله‌های فاقد ضد انعقاد نیم ساعت در دمای اتاق نگه‌داری شد تا ایجاد لخته کند سپس سانتریفیوژ شد و سرم جدا گردید و برای تعیین متغیرهای بیوشیمیایی استفاده شد، باقیمانده به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتر انتقال و در دمای ۸۰ – درجهٔ سانتی‌گراد نگه‌داری شد.

اندازه‌گیری متغیرهای بیوشیمیایی

سطح گلوکز با روش فتومتریک و با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. سطح کلسترول (CHOL)، تری‌گلیسیرید (TG) به روش رنگ سنجی آنزیمی و مقدار HDL-C با روش فسفوتنگستنات سدیم و سطح LDL-C با روش فریدوالد اندازه‌گیری شد. سطح سرمی ویسفاتین با استفاده از کیت ZellBio آلمان و غلظت انسولین با کیت مرکودیای سوئد با روش ELISA اندازه گیری شد. مقاومت به انسولین براساس فرمول زیر محاسبه شد [۷]:

HOMA-IR =

گلوکز ناشتا سرم (mmol/lit) × انسولین ناشتا سرم (microunit/lit)/۲۲/۵

تعیین ژنوتیپ

استخراج DNA از لوله‌های خون حاوی مادهٔ ضد انعقاد با روش Salting out انجام [۱۳] و در دمای ۲۰ – نگه‌داری شد. برای تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 در ژن ویسفاتین، از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز- چند شکلی طول قطعه محدود (PCR-RFLP) استفاده شد ابتدا قطعهٔ حاوی پلی‌مورفیسم rs61330082 تکثیر شد سپس قطعه تکثیر شده در مجاورت آنزیم محدود کنندهٔ MvaI قرار گرفت. برای انجام این کار از دو پرایمر استفاده شد، که صحت و دقت پرایمرها توسط برنامهٔ Generunner، اولیگو بررسی گردید. پرایمر و آنزیم محدود کننده از شرکت پیشگام بیوتک تهیه شد. توالی پرایمر عبارت است از Forward 5′-TGTTTCAAACCTCGTTGCTGA-3′ و 5′-reverse AGTGATGGTGGTGGTGGTA-3′. تکثیر قطعات حامل پلی‌مورفیسم rs61330082 با استفاده از روش PCR انجام شد [۱۴].

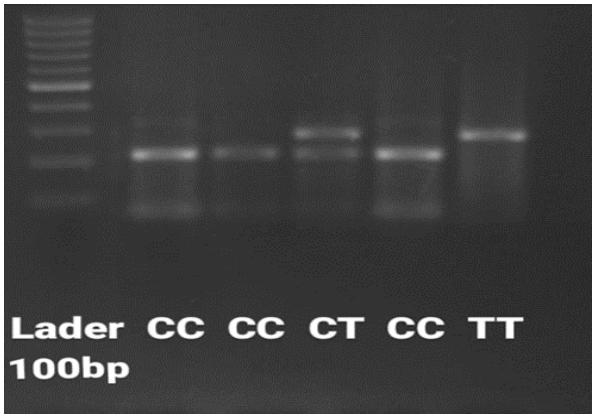
برای انجام PCR قطعه حامل پلی‌مورفیسم rs61330082، مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۲/۵ میکرولیترمسترمیکس، یک میکرولیتر DNA با غلظت ۱۰۰ نانو گرم، یک میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول در میکرولیتر و ۹/۵ میکرولیتر آب مقطر تهیه و به دستگاه ترموسایکلر منتقل شد. برنامهٔ دستگاه شامل مرحلهٔ اول دناتوراسیون در دمای ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۲ سیکل و برای هر سیکل مرحلهٔ واسرشت به‌مدت ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد، مرحلهٔ اتصال به‌مدت ۴۵ ثانیه و دمای ۶۰ درجهٔ سانتی‌گراد و مرحلهٔ طویل‌سازی ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجهٔ سانتی‌گراد و مرحلهٔ گسترش نهایی، به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ سانتی‌گراد انجام شد. صحت تکثیر قطعات مورد نظر بر روی ژل آگارز ۱٪ با باندهایی با طول ۲۸۳ bp روی ژل آگارز تأئید شد. سپس جهت تعیین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082، محصول PCR به‌مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد تحت اثر آنزیم محدود کنندهٔ MvaI قرار گرفت و بر روی ژل ۲ درصد آگارز بررسی شد.

آنالیز آماری

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخهٔ ۲۰ انجام شد. ابتدا برای بررسی نرمال بودن داده‌ها از آزمون کلموگروف–اسمیرنوف استفاده شد برای مقایسهٔ متغیرها در دو گروه مورد و شاهد و در حاملین ژنوتیپ‌های CC و CT+TT از آزمون من ویتنی و آزمون تی مستقل استفاده شد. بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 با دیابت و مقاومت به انسولین بااستفاده از رگرسیون لجستیک انجام شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

نتایج حاصل از اثر آنزیم محدود کننده بر محصول PCR حامل پلی‌مورفیسم rs61330082 ژن ویسفاتین در شکل ۱ آمده است. طول باندها در ژل آگارز ۲۸۳ bp، ۲۱۸ bp، ٦٥ bp است. نمونه دارای یک باند با طول ۲۸۳ bp نشانگر ژنوتیپ TT است. نمونه با قطعات ۲۱۸ bp و ٦٥ bp جفت باز نشانگر ژنوتیپ CC و نمونه با سه باند با طول‌های ۲۸۳ bp و ۲۱۸ bp و ٦٥ bp نشانگر ژنوتیپ CT است.



شکل ۱- نتیجه هضم آنزیمی قطعه حامل پلی‌مورفیسم rs61330082

ژنوتیپ TT دارای یک باند با طول ۲۸۳ bp ، ژنوتیپ CC شامل دوباند با طول‌های ۲۱۸ bp و ٦٥ bp و ژنوتیپ CT شامل سه باند با طول‌های ۲۸۳ bp و ۲۱۸ bp و ٦٥ bp است.

در مطالعهٔ حاضر در گروه بیمار (٥٥٪) ٤٤ زن و (٤٥٪) ۳٦ مرد و در گروه کنترل (٦٨/٨) ٥٥ زن و (۳۱/۲) ۲٥ مرد شرکت کردند. بررسی مشخصات بیوشیمیایی و دموگرافیک در دو گروه بیمار و شاهد با استفاده از آزمون من ویتنی و آزمون تی انجام شد. بین دو گروه از نظرمیانگین سن (P< ۰/۰۰۱)، نمایهٔ تودهٔ بدنی (P< ۰/۰۰۱)، کلسترول (P= ۰/۰۲۳)، تری‌گلیسرید (P= ۰/۰۰۱)، قند ناشتا (P< ۰/۰۰٥)، HOMA (P< ۰/۰۰۱)، دور باسن (P= ۰/۰۰٤) و دور کمر (P= ۰/۰۰٥) تفاوت معنی‌دار مشاهده شد (P< ۰/۰٥) اما اختلاف معنی‌دار در سطح ویسفاتین و انسولین مشاهده نشد (P> ۰/۰٥) (جدول ۱).

جدول ۱- توزیع فراوانی مورد بررسی به تفکیک وجود یا عدم وجود بیماری پره دیابت/دیابت نوع دو

متغیر کمی	بیماران مبتلا به پره دیابت/دیابت نوع دو (n=۸۰)	سالم (n=۸۰)	P-value
سن (سال)	٥۲/۹±۱۳/۱	۳٦±۱۱/٤	<۰/۰۰۱
نمایه تودهٔ بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۸/۳±٦/۲	۲٥/۱±٤/۷	<۰/۰۰۱
HDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	٤۸/۹±۱۰/۷	٤٦/۷±۱۱/٦	۰/٤٤۱
LDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۱٥/۳±٤۲/۰	۱۰۲/۱±۲۷/۱	۰/۰۸۲
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۸٥/۸±٤۹/۱	۱٦٥/۷±۲۷/٤	۰/۰۲۳
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱٦۹/۸±۱۰۳/٥	۱۱۳/۲±٥٤/۸	۰/۰۰۱
قندناشتا (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱٦٥/۷±٥۹/۸	۸۸/۷±۹/۱	<۰/۰۰۱
انسولین (میلی یونیت بر لیتر)	۱۲/۹±۹/۹	۱۰/٥±۱۰/۱	۰/۰۷۰
HOMA	٥/٤±٥/۹	۲/۳±۲/۱	<۰/۰۰۱
ویسفاتین (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۲۱/۳±۱۱/٥	۲۳/۹±۱۰/۱	۰/۲۲۱
دور باسن (سانتی‌متر)	۱۰٥/۲±۱٤/٦	۹٦/۹±۱٥/۷	۰/۰۰٤
دور کمر (سانتی‌متر)	۱۰۳/۱±۱۳/۱	۹٦/۳±۱۲/٦	۰/۰۰٥

ارتباط پلی‌مورفیسم rs61330082 ژن ویسفاتین با متغیرهای آنتروپومتریک و بیوشیمیایی در سطح ژنوتیپ‌ها (CC و CT + TT) با استفاده از آزمون من ویتنی و آزمون تی مستقل در افراد سالم و بیمار بررسی شد. در این مطالعه به دلیل فراوانی کم ژنوتیپ TT، حاملین ژنوتیپ TT و CT در یک گروه قرار گرفتند. نتایج نشان داد در افراد بیمار بین حاملین ژنوتیپ‌های CC و CT+TT در سطح قند خون ناشتا تفاوت معنی‌دار وجود دارد (P= ۰/۰۲۳)، در سایر متغیرها تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. در گروه کنترل بین حاملین ژنوتیپ‌های CC و CT+TT در سطح LDL-C تفاوت معنی‌دار یافت شد (P= ۰/۰۳٤) (جدول ۲).

جدول ۲- توزیع فراوانی افراد بیمار بررسی در هر ژنوتیپ rs61330082 در گروه بیمار و شاهد

متغیر کمی		CC	CT+TT	P-value
سن	شاهد	۳٤/۹±۱۱/٦	شاهد	۰/۳۲٤
(سال)	بیمار	٥٤/٦±۱۱	بیمار	۰/۳۲۹
نمایهٔ تودهٔ بدنی	شاهد	۲٥/٤±٤/٦	شاهد	۰/٦۳۰
(کیلوگرم بر مترمربع)	بیمار	۲۸/٦±٤/۹	بیمار	۰/۹۲۲
HDL	شاهد	٤٦/۳±۹/۷	شاهد	۰/۸٥۷
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	بیمار	٤٦/٥±۱۲/٤	بیمار	۰/٦٦۷
LDL	شاهد	۱۰٤/۹±۳۱/۹	شاهد	۰/۰۳٤
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	بیمار	۱۱۲/۲±۳۷/٤	بیمار	۰/۳۷۳
کلسترول	شاهد	۱۷۰/۹±۲۸	شاهد	۰/٥٥٤
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	بیمار	۱۸٥/۳±٤٦/٦	بیمار	۰/٤۰۹
تری‌گلیسرید	شاهد	۱۱۲/٤±٥۳/۸	شاهد	۰/۸۳۹
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	بیمار	۱٤۸/۹±۷۳/۸	بیمار	۰/۲٤۰
قند ناشتا	شاهد	۹۰±۹/٦	شاهد	۰/۳۰۲
(میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	بیمار	۱٥۰/٤±٤۷/٤	بیمار	۰/۰۲۳
انسولین	شاهد	۱۱/۱±۱۳/٤	شاهد	۰/۷۳۳
(میلی یونیت بر لیتر)	بیمار	۱۳/۱±۱۰/۹	بیمار	۰/٥۷۳
HOMA	شاهد	۲/٤±۲/۸	شاهد	۰/۸۳۸
	بیمار	٥/۱±٦/۱	بیمار	۰/۳٥٦
ویسفاتین	شاهد	۲۳/۱±۱۰/۷	شاهد	۰/٦٤۷
(نانوگرم بر میلی‌لیتر)	بیمار	۲۳/٤±۱۰/۹	بیمار	۰/۲٦۲
دور باسن	شاهد	۹۹/٤±۸/۷	شاهد	۰/۸۸۳
(سانتی‌متر)	بیمار	۱۰۳/۷±۱٥/۱	بیمار	۰/٥۲۷
دور کمر	شاهد	۹٥/۸±۱۱/۸	شاهد	۰/٤۳۰
(سانتی‌متر)	بیمار	۹٦/۲±۱٤/٦	بیمار	۰/٦۲۱

ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 با بیماری دیابت و مقاومت به انسولین بررسی شد که نتایج در جدول ۳ آمده است. یافته‌ها نشان داد پلی‌مورفیسم rs61330082 با بیماری دیابت ارتباط معنی‌داری ندارد، همچنین بررسی با تعدیل سن، جنس و نمایهٔ تودهٔ بدنی انجام شد اما تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. علاوه بر این در این پژوهش تحلیل رگرسیونی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 بین گروه‌های حساس به انسولین و مقاوم به انسولین انجام شد که ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم با مقاومت انسولین یافت نشد. یافته‌ها نشان می‌دهد پلی‌مورفیسم rs61330082 در بروز بیماری دیابت و مقاومت به انسولین نقش ندارد (P> ۰/۰٥) (جدول ۳).

جدول ۳- تحلیل رگرسیونی ژنوتایپ‌ها (افراد سالم و مبتلا به پره دیابت/ دیابت) و (حساس به انسولین و مقاوم به انسولین)

طبقه	ژنوتیپ	بیمار	سالم	P-value	OR (95%CI)
سالم و مبتلابه دیابت					
	TT	۳ (٤/۷)	۲ (۲/۸)	۰/۲۰۲	۵/۹۵ (۰/۲۵-٦/٤۸)
	CC	۳۲ (۵۰/۰)	٤۲(۵۸/۳)	۰/٦۷۲	۰/۸۱ (۰/۳۸-۱/٤۳)
	CT	۲۹ (٤۵/۳)	۲۸ (۳۸/۹)	۰/۸۹۸	۰/۹۳ (۰/٦۷-۲/۵۵)
حساس و مقاوم به انسولین					
		HOMA≥2.6	**HOMA<2.6**	**P-value**	**OR (95%CI)**
	TT	۱ (۱/۵)	۵ (٦/۵)	۰/۱۷۹	۰/۲۲ (۰/۰۳-۱/۹۸)
	CC	۳٦(۵۵/٤)	٤۰(۵۱/۹)	۰/٦۸۳	۱/۱۵ (۰/۵۹-۲/۲۳)
	CT	۲۸ (٤۳/۱)	۳۲ (٤۱/٦)	۰/۸۵۵	۱/۰٦(۰/۵۵-۲/۰۸)

تعدیل شده برای سن، جنسیت و نمایهٔ تودهٔ بدنی

بحث

در مطالعه حاضر تفاوت معنی‌دار در سطح متغیرهای HDL، LDL، انسولین و ویسفاتین در دو گروه دیابتی و غیردیابتی مشاهده نشد اما در سایر متغیرها اختلاف معنی‌دار دیده شد. در مطالعهٔ حاضر مشابه مطالعات دیگر بیماری دیابت با افزایش تری‌گلیسیرید و کلسترول [۱۵] و چاقی [۱٦، ۱۵] همراه بود و در افراد مسن شایع‌تر بود [۱۵]. در این پژوهش تفاوتی در سطح ویسفاتین بین افراد سالم و بیمار مشاهده نشد درحالی‌که در بسیاری از تحقیقات سطح بالاتر ویسفاتین در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو، پره دیابت [۱۹، ۱۸، ۱۷] و دیابت بارداری [۲۰] نسبت به افراد سالم مشاهده شده است، اگرچه در مطالعاتی کاهش سطح ویسفاتین در بیماران دیابتی مشاهده شد [۲۱]. تحقیقات نشان می‌دهد ویسفاتین نقش مهمی در پاتوژنز دیابت نوع دو دارد [۲۰، ۱۷]، تفاوت در نتایج پژوهش‌ها می‌تواند به‌دلیل ناهمگونی قومی، تفاوت گروه‌های موردبررسی از نظر سن و جنس، نژاد، تعداد افرادی مورد بررسی و تکنیک‌های استفاده شده باشد [۵].

در تحقیق حاضر تفاوتی در سطح ویسفاتین در حاملین ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم rs6133008 در گروه سالم و بیمار یافت نشد، اما در افراد سالم در حاملین ژنوتیپ‌های مختلف در سطح LDL-C و در افراد بیمار در سطح قندخون ناشتا تفاوت معنی‌دار مشاهده شد. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی (SNP) rs61330082 در افراد فرانسوی-کانادایی، مشابه نتایج ما با سطح LDL-کلسترول ارتباط نشان داده است [۱۰] برخلاف نتایج ما مطالعات دیگر نشان داد پلی‌مورفیسم rs61330082 منجر به افزایش فعالیت رونویسی و افزایش سطوح ویسفاتین و تری‌گلیسیرید، فشار خون سیستولیک [۹] و کلسترول تام پلاسما می‌شود [۱۰].

تحقیقات در افراد مبتلا به ویروس هپاتیت C پس از پاکسازی ویروس تایوانی نشان داد پلی‌مورفیسم rs61330082 در نیکوتین آمید فسفو ریبوزیل ترانسفراز (ویسفاتین) با کلسترول تام ارتباط دارد و خطر بیماری قلبی عروقی در حاملین ژنوتیپ TT، نسبت به ژنوتیپ‌های غیر TT بیشتر است اما در تحقیقات دیگر بیماران مبتلا به بیماری عروق کرونر که حامل ژنوتیپ TT پلی‌مورفیسم rs61330082 بودند در مقایسه با ژنوتیپ CC، سطوح ویسفاتین و فاکتورهای پیش‌التهابی کمتری داشتند [۲۲] حاملین ژنوتیپ TT در افراد غیر دیابتی ژاپنی سطح تری‌گلیسرید کمتر و HDL-C بیشتر را نسبت به CC و حاملین CC+CT [۲۳] نشان داد. در بیماران چینی مبتلا به کلسیفیکاسیون عروق کرونر کاهش خطرات قلبی عروقی در حاملین TT مشاهده شد و نشان داد ویسفاتین سرم با ایجاد کلسیفیکاسیون عروق کرونر(Coronary artery calcification) ارتباط دارد و آلل T پلی‌مورفیسم rs61330082 یک اثر محافظتی قلبی در بیماران مبتلا به CAC دارد [۲٤]. مطالعه‌ای بر روی ۳۱۸ بیمار مبتلا به آسیب‌های مغزی تروماتیک در جمعیت چین نشان داد سطوح ویسفاتین پلاسما بین ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 حتی پس از تنظیم برای سن، جنس و نمایهٔ تودهٔ بدن تفاوت معنی‌دار دارد و

حاملین ژنوتیپ CC بالاترین غلظت ویسفاتین پلاسما را دارد [۲۵]. همچنین تحقیقی در بیماران مبتلا به عروق کرونر نشان داد ژنوتیپ‌های CT و TT با سطح ویسفاتین ارتباط دارد و و این پلی مورفیسم ممکن است بتواند به‌عنوان یک نشانگر مفید برای پیش‌بینی توسعهٔ CAD استفاده شود [۲۶] اما در مطالعه حاضر ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم و سطح پلاسمایی ویسفاتین مشاهده نشد. بررسی توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه سالم و بیمار مبتلا به دیابت و درگروه‌بندی HOMA نشان داد که ژنوتیپ rs61330082 با دیابت و مقاومت به انسولین ارتباط ندارد. مطالعات ارتباط پلی مورفیسم rs61330082 را با سرطان‌ها نشان داده است. ارتباط پلی‌مورفیسم rs61330082 با سرطان ریه [۲۷] در جمعیت تایوان و با سرطان سلول سنگفرشی مری در جمعیت چین گزارش شده است [۲۸]، همچنین افزایش معنی‌دار آماری در خطر سرطان مثانه در حاملان آلل C و ژنوتیپ CC در جمعیت هان چین یافت شد [۲۹] البته دربرخی مطالعات از جمله در جمعیت تایوان ارتباطی بین پلی‌مورفیسم rs61330082 و سرطان سلول سنگفرشی دهان یافت نشد [۳۰]. با توجه به نتایج متناقض و اطلاعات بسیار محدود در زمینه پلی‌مورفیسم rs61330082 با بیماری‌های متابولیکی مطالعات بیشتری لازم است تا دقیق‌تر و به‌طور خاص نقش پاتوفیزیولوژیک ویسفاتین تعیین شود و پلی‌مورفیسم‌های مسئول این اثرات ژنتیکی به‌طور کامل شناخته شود [٤]. محدودیت اصلی مطالعهٔ حاضر، حجم کم نمونه، همچنین همگن نبودن افراد از نظر سن و جنس و نمایهٔ تودهٔ بدنی در گروه مورد و شاهد بود. پیشنهاد می‌شود مطالعه در حجم بزرگتر و با تفکیک دیابت و پره دیابت انجام شود.

نتیجه‌گیری

در پژوهش حاضر پلی‌مورفیسم rs61330082 با سطح ویسفاتین ارتباطی نداشت اما سطح LDL در افراد سالم و میزان قند خون ناشتا در افراد بیمار در ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs61330082 تفاوت معنی‌دار نشان داد. ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs61330082 و دیابت و مقاومت به انسولین یافت نشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از خانم دکتر لالهٔ قانعی، خانم دکتر ساعتیان در بیمارستان بوعلی تهران که در جمع‌آوری نمونه ما را یاری کردند کمال تقدیر و تشکر را داریم.

مآخذ

1. Ashoori M, Nezhadali M, Shiehmorteza M. The relationship between visfatin levels and anthropometric parameters, and insulin resistance in women with prediabetes and type 2 diabetes. *Yafteh*. 2018; 20(3):9-18.
2. Hajilo N, Nezhadali M, Ghanei L. Association of adiponectin gene rs2241766 polymorphism with serum adiponectin level, Insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in an Iranian population. *Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences*. 2019; 27(2): 1216-27.
3. Taheri H, Sarhadi E, Peyvand M, Hashemzehi Gonaki Z. Prevalence and severity of neuropathy in patients with type II diabetes in Zahedan, Iran. *Journal of Diabetes Nursing*. 2020; 8(2):1096-104.
4. Karimi R, Nezhadali M, Hedayati M. Association of visfatin gene polymorphism rs4730153 with anthropometric characteristics, visfatin level, insulin resistance and lipid metabolism in Iranian diabetic/prediabetic population. *Koomesh*. 2021; 23(5): 541-547.
5. Karimi H, Nezhadali M, Mahdavi M, Saatian M, Saeedi L. Association of Visfatin with Blood Glucose, Insulin Resistance and Body Mass Index in Patients with Type 2 Diabetes/Pre-Diabetes. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. 2021; 12(3):3984-3992.
6. Saddi-Rosa P, Oliveira CS, Giuffrida F, Reis AF. Visfatin, glucose metabolism and vascular disease: a review of evidence. *Diabetology & metabolic syndrome*. 2010; 2(1):1-6.
7. Marjani S, Nezhadali M, Hekmat A, Yeganeh MZ. Investigating Visfatin gene Polymorphism rs4730153 with Insulin Resistance and Non-Alcoholic Fatty Liver Diseases in Iranian Population. *Iranian Journal of Public Health*. 2022; 8; 51(5):1143-51.
8. Vasilache SL, Mărginean CO, Boaghi A, Pop RM, Banescu C, Moldovan VG, et al. Implications of visfatin genetic variants in the metabolic profile of the Romanian pediatric population. *Revista Română de Medicină de Laborator*. 2020; 28(2);163-174.

9. Ooi DS, Ong SG, Heng CK, Loke KY, Lee YS.In-vitro function of upstream visfatin polymorphisms that are associated with adverse cardiometabolic parameters in obese children. *BMC genomics*. 2016; 17:1-7.
10. Bailey SD, Loredo-Osti JC, Lepage P, Faith J, Fontaine J, Desbiens KM, et al. Common polymorphisms in the promoter of the visfatin gene (PBEF1) influence plasma insulin levels in a French-Canadian population. *Diabetes*. 2006; 55(10):2896-902.
11. Ooi SQ, Chan RM, Poh LK, Loke KY, Heng CK, Chan YH, et al. Visfatin and its genetic variants are associated with obesity-related morbidities and cardiometabolic risk in severely obese children. *Pediatric Obesity*. 2014; 9(2):81-91.
12. Pooladi S, Sadeghi S, Vahedprast H, Bagherzadeh R, Sharifi S. Effect of the training based on islamic lifestyle model on fasting blood glucose and glycosylated hemoglobin in people with prediabetes. *Journal of Diabetes Nursing*. 2019; 10;7(1):683-93.
13. Hosseini M, Nezhadali M, Hedayati M. Association of vaspin rs2236242 gene polymorphism with serum vaspin level, insulin resistance and diabetes in an Iranian diabetic/pre-diabetic population. *Journal of Medical Biochemistry*. 2021; 40(1):33.
14. Wu Z, Sun Y, Huang Y, Zhu S, Feng Y, Ye H, et al. Genetic variant in visfatin gene promoter contributes to reduced risk of hepatocellular carcinoma in a Chinese population. *Oncotarget*. 2016; 11;7(47):77968.
15. Al Mansour MA. The prevalence and risk factors of type 2 diabetes mellitus (DMT2) in a semi-urban Saudi population. *IJERPH*. 2019;17(1):1-8.
16. Sonmez A, Yumuk V, Haymana C, Demirci I, Barcin C, Kıyıcı S, et al. Impact of obesity on the metabolic control of type 2 diabetes: results of the Turkish nationwide survey of glycemic and other metabolic parameters of patients with diabetes mellitus (TEMD obesity study). *Obesity facts*. 2019; 12(2):167-78.
17. Chen MP, Chung FM, Chang DM, Tsai JC, Huang HF, Shin SJ, et al. Elevated plasma level of visfatin/pre-B cell colony-enhancing factor in patients with type 2 diabetes mellitus. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006; 91(1):295-9.
18. López-Bermejo A, Chico-Julià B, Fernàndez-Balsells M, Recasens M, Esteve E, Casamitjana R, et al. Serum visfatin increases with progressive β-cell deterioration. *Diabetes*. 2006; 55(10):2871-2875.
19. Celebi A, Gurler M, Koc DO, Ozdemir AA, Ekizoglu I, Altay M, et al. Serum visfatin levels in patients with subclinical and newly diagnosed type 2 diabetes mellitus. *Acta Medica Mediterranea*. 2017; 33(2):197-201.19.
20. Radzicka S, Pietryga M, Iciek R, Brązert J. The role of visfatin in pathogenesis of gestational diabetes (GDM). *Ginekologia polska*. 2018; 89(9):518-21.
21. Yaturu S, Davis J, Franklin L, Shi R, Venkatesh P, Jain SK. Visfatin levels are low in subjects with type 2 diabetes compared to age-matched controls. *journal of diabetes mellitus*. 2012; 2(4):373-377.
22. Chang ML, Lin YS, Chang MY, Hsu CL, Chien RN, Fann CS. Accelerated cardiovascular risk after viral clearance in hepatitis C patients with the NAMPT-rs61330082 TT genotype: An 8-year prospective cohort study. *Virulence*. 2021; 12(1):270-80.
23. Tokunaga A, Miura A, Okauchi Y, Segawa K, Fukuhara A, Okita K, et al. The -1535 promoter variant of the visfatin gene is associated with serum triglyceride and HDL-cholesterol levels in Japanese subjects. *Endocr J*. 2008; 55:205–212
24. Jin LW, Zheng SB, Zhou ZH, Pan SF, Zheng Y. Correlation between polymorphisms in the visfatin gene and its expression in the serum and coronary artery calcification. *Genet Mol Res*. 2016;15(2):10-4238.
25. Weng JF, Chen J, Hong WC, Luo LF, Yu W, Luo SD. Plasma visfatin, associated with a genetic polymorphism− 1535C> T, is correlated with C-reactive protein in Chinese Han patients with traumatic brain injury. *Peptides*. 2013; 40:8-12.
26. Wang LS, Yan JJ, Tang NP, Zhu J, Wang YS, Wang QM, et al. A polymorphism in the visfatin gene promoter is related to decreased plasma levels of inflammatory markers in patients with coronary artery disease. *Molecular biology reports*. 2011; 38:819-25.
27. Chang SL, Yang PJ, Lin YY, Jiang YJ, Liu PI, Huang CL, et al. Genetic Associations of Visfatin Polymorphisms with EGFR Status and Clinicopathologic Characteristics in Lung Adenocarcinoma. International *Journal of Environmental Research and Public Health*. 2022; 19(22):15172.
28. Zhang C, Yan D, Wang S, Xu C, Du W, Ning T, et al. Genetic polymorphisms of NAMPT related with susceptibility to esophageal squamous cell carcinoma. *BMC gastroenterology*. 2015; 15:1-5.
29. Zhang K, Zhou B, Zhang P, Zhang Z, Chen P, Pu Y, et al. Genetic variants in NAMPT predict bladder cancer risk and prognosis in individuals from southwest Chinese Han group. *Tumor Biology*. 2014; 35:4031-
30. Chen KJ, Hsieh MH, Lin YY, Chen MY, Lien MY, Yang SF, et al. Visfatin Polymorphisms, Lifestyle Risk Factors and Risk of Oral Squamous Cell Carcinoma in a Cohort of Taiwanese Males. *International Journal of Medical Sciences*. 2022; 19(4):762.

The Effect of Visfatin Rs61330082 Gene Polymorphism on Serum Level of Visfatin, Type 2 Diabetes and Insulin Resistance in an Iranian Population

Fariba Soltanzadeh[1], Masoumeh Nezhadali[*1], Leila Pishkar[1]

1. Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran

ABSTRACT

Background: Type 2 diabetes is a metabolic disease and the most common endocrine disorder. Visfatin is a cytokine with insulin-mimetic effects which is associated with diabetes. The rs61330082 polymorphism is located in the promoter region of visfatin gene and regulates visfatin gene expression. The aim of this study is to investigate the association of rs61330082 polymorphism of the visfatin gene with biochemical and anthropometric variables, visfatin level, diabetes and insulin resistance.

Methods: This case-control study was performed on 80 patients with type 2 diabetes and 80 controls (persons without diabetes). Biochemical and anthropometric parameters were determined using standard methods. Insulin and visfatin levels were measured by ELISA method. Genotype was determined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism method. The data was analyzed with SPSS software.

Results: LDL-C level in healthy people and fasting blood sugar level in patients showed a significant difference in carriers of rs61330082 polymorphism genotypes. No associations was found between visfatin level and single nucleotide polymorphism rs61330082 in the current study. Regression analysis showed that genotypes of rs61330082 polymorphism are not significantly associated with type 2 diabetes and insulin resistance.

Conclusion: The rs61330082 polymorphism is associated with LDL-C in healthy subjects and FBS in patients with T2D. Visfatin rs61330082 polymorphism is not associated with visfatin level and type 2 diabetes and insulin resistance.

Keywords: Visfatin, Single Nucleotide Polymorphism, Nicotinamide Phosphoribosyl Transferase, Insulin Resistance

* Islamshahr, Namaz Square, Shahid Sayad Shirazi Street Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Tel: 021 5636 3059, E-mail: Masoumeh.Nezhadali@iau.ac.ir

Copyright © 2023 Iranian Journal of Diabetes and Metabolism and Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.