مجله دیابت و متابولیسم ایران. مهر- آبان ۱۳۹۸؛ دوره ۱۹ (شماره ۱) ۵۰-۴۴

مقاله پژوهشی

بررسی متیلاسیون پروموتر ژن TNF-α در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو

زهرا مرادی[۱]، مهرناز السادات راوری[۱]، عفت فرخی[۲*]، مرتضی هاشم زاده چالشتری[۳]

چکیده

مقدمه: دیابت نوع دو شرایط التهابی مزمنی است که آمیزه‌ای از عوامل ژنتیکی و محیطی در آن نقش دارد. فاکتور نکروز توموری آلفا یا TNF- α به‌عنوان یک سایتوکاین پیش التهابی مترشحه از بافت چربی با تأثیر بر مسیر سیگنالینگ انسولین می‌تواند در ایجاد مقاومت به انسولین در بیماران دیابت نوع دو نقش داشته باشد. با توجه اهمیت تغییرات اپی ژنتیک در ایجاد بیماری‌های چند عاملی، این مطالعه با هدف بررسی متیلاسیون پروموتر ژن *TNF-α* در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو و مقایسه‌ی آن با افراد غیر دیابتی انجام گردید.

روش‌ها: این مطالعه بر روی ٦١ بیمار دیابت نوع دو و ۳۱ فرد غیر دیابتی انجام شد. بیماران شامل دو گروه مبتلایان کمتر از ۵ سال و مبتلایان بیشتر از ۵ سال بودند. گروه‌ها از نظر ویژگی‌های دموگرافیک همسان بودند. پروفایل لیپیدی با کیت‌های استاندارد اندازه‌گیری شد. سپس ناحیه‌ی پروموتر ژن TNF-α به روش تیمار با بیسولفیت، انجام Nested PCR و نهایتاً تعین توالی بررسی گردید.

یافته‌ها: در مطالعه‌ی ما ارتباطی بین متیلاسون مناطق CpG پروموتر ژن *TNF-a* در گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. همچنین بین زنان و مردان در ارتباط با متیلاسیون پروموتر ژن *TNF-a* درگروههای دیابتی و غیر دیابتی تغییری مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد تغییرات اپی ژنتیکی سایتوکاین‌هایی که در ایجاد مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی نوع دو نقش دارند در نمونه‌ی خون محیطی محسوس نیست و در این رابطه احتمالاً بافت‌های دیگر باید مورد بررسی قرار گیرند.

واژگان کلیدی: دیابت نوع دو، اپی ژنتیک، TNF-α، متیلاسیون DNA

۱- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده‌ی علوم پایه‌ی سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- گروه پزشکی مولکولی، دانشکده‌ی فناوری‌های نوین، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- مرکز تحقیقات مدل‌سازی در سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

***نشانی**: شهرکرد، رحمتیه، دانشکده‌ی پزشکی، دانشکده‌ی فناوری های نوین، گروه پزشکی مولکولی، تلفن: ۳۳۳۳۵٦٥٤ ۰۳۸، نمابر: ۳۳۳۳۰۷۰۹ ۰۳۸، پست الکترونیک: e_farrokhi_k@yahoo.con

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۱۱ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۸/۰۸/۲۰** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۹**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]

مقدمه

امروزه دیابت در حال تبدیل شدن به یک مشکل جهانی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه است. دیابت نوع دو (T2DM) با فراوانی ۹۰ درصد به‌عنوان شایع‌ترین شکل دیابت شناخته می‌شود [۱]. دانشمندان شیوع دیابت در سراسر دنیا را در سال ۲۰۵۰ حدود ۲۱ درصد پیش بینی کرده‌اند. مشخص شده است که قاره‌ی آسیا یکی از مناطقی است که دیابت نوع دو بیشترین شیوع را در آن دارد [۲]. دیابت نوع دو شرایط التهابی مزمنی است که آمیزه‌ای از عوامل ژنتیکی و محیطی در آن نقش دارد. علت بروز این بیماری مقاومت انسولین محیطی و کمبود ترشح انسولین به‌دلایلی از جمله آپوپتوز سلول‌های بتا پانکراس است [۳]. اگرچه پاتوفیزیولوژی دیابت به‌طور کامل مشخص نشده است اما ژنتیک یک بخش جدایی ناپذیر این بیماری را شکل می‌دهد [۳, ٤]. با این وجود این ژنتیک تنها ۱۰ تا ۱۵ درصد از موارد دیابت نوع دو را شامل می‌شود. در واقع خطر فاکتورهای محیطی اصلی از جمله چاقی، کمبود فعالیت فیزیکی، تغذیه مادر در دوران بارداری، مصرف سیگار توسط مادر در دوران بارداری، افزایش و کاهش وزن و استرس در زمان تولد و افزایش سن می‌تواند در بروز دیابت نوع دو نقش مهمی داشته باشند [۵]. چاقی به عنوان یک خطر فاکتور اصلی در بروز دیابت شرایط پیش التهابی در آدیپوسیت‌ها است. در افراد مستعد (از لحاظ ژنتیکی) زمانی که وزن بدن با افزایش سن بالا می‌رود یک حالت موازی از التهاب مزمن، که توسط افزایش سایتوکاین‌های پیش التهابی مشخص می‌شود، می‌تواند تغییراتی را ایجاد کند [۳]. در بافت چربی افراد چاق به‌دلیل تجمع چربی، مهاجرت سلول‌های ایمنی خصوصاً ماکروفاژها افزایش می‌یابد. فاکتور نکروز توموری آلفا[1] یا TNF-α به‌عنوان یک سایتوکاین پیش التهابی مهم توسط فعال شدن مسیرهای سیگنالینگ MAPK و NFκB از این سلول‌های ایمنی ترشح می‌شود که این سایتوکاین خود سبب ترشح دیگر سایتوکاین‌ها از جمله IL-1β و IL-6 می‌شود. TNF- و IL-6 از طریق رسپتور کلاسیک انسولین (IR) سبب تحریک مسیرهای التهابی JNK و NF-κB/IKK-β می‌شوند. TNF- و سایر آدیپوکاین‌ها با فسفریلاسیون IRS-1 از عملکرد آن برای فعالسازی مسیر PI3K/Akt جلوگیری و در نتیجه مسیر سیگنالینگ انسولین را قطع می‌کند [۸-٦].

با توجه به ماهیت چند عاملی دیابت فاکتورهای محیطی نقش مهمی در بروز دیابت دارند. در واقع عوامل محیطی اثر خود بر ژنوم را از طریق اپی‌ژنتیک اعمال می‌کنند [٤]. این تغییرات سبب تغییر در بیان ژن بدون تغییر در توالی DNA می‌شوند. سه تغییر اپی‌ژنتیکی اصلی شامل متیلاسیون DNA، استیلاسیون هیستون‌ها و سازوکارهای بر پایه RNA هستند [۹]. متیلاسیون DNA نقش مهمی در بروز دیابت نوع دو ایفا می‌کند. در واقع مطالعات EWAS[2] نشان داده است که رابطه‌ی مهمی بین چاقی، دیابت نوع دو و BMI (Body Mass Index) با متیلاسیون DNA وجود دارد [۱۰]. شواهد در حال افزایش نشان می‌دهد که متیلاسیون DNA پاتوژنز دیابت نوع دو را از طریق اثر بر ترشح انسولین از سلول‌های بتا پانکراس و مقاومت انسولین تحت تاثیر قرار می‌دهد.

مطالعات نشان داده است که تحت شرایط دیابت و گلوکز بالا برخی تغییرات اپی‌ژنتیک، از جمله افزایش استیلاسیون هیستون‌ها در پروموتر TNF- α در دیابت نوع یک و نوع دو در سلول‌های خون محیطی مشاهده شده است. همچنین نشان داده شده که متیلاسیون پروموتر این ژن در زنان دارای چربی بدنی مرکزی بالاتر کمتر است. بنابراین امروزه راهبردهای درمانی مبتنی بر داروهای ضد αTNF- گسترش یافته است [۱۳-۱۱]. با توجه اهمیت تغییرات اپی ژنتیک در ایجاد بیماری‌های چند عاملی، این مطالعه با هدف بررسی متیلاسیون پروموتر ژن *TNF-α* در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو و مقایسه آن با افراد غیر دیابتی انجام گردید.

روش‌ها

طرح مورد مطالعه بر روی نمونه‌های مرکز کوهورت شهرکرد صورت گرفت و با کد IR.SKUMS.REC.1396.257 در

[1] Tumor necrosis factor α

[2] Epigenome-wide association studies

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]

تاریخ ۹۶/۱۱/۲۹ در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به تصویب رسیده است. آزمایشات در مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام گردید.

جمع آوری و آماده سازی نمونه‌ها

این مطالعه بر روی نمونه‌های خون افراد مبتلا به دیابت نوع دو دارای قند خون بالای ۱۸۰ mg/dl و سن بالای ۳۰ سال که به مرکز کوهورت شهرکرد مراجعه نمودند، صورت گرفت. به‌صورت تصادفی از ٦١ نمونه خون بیمار مبتلا به دیابت نوع دو استفاده شد که با نمونه‌های خون ۳۰ فرد غیر دیابتی (کنترل) مقایسه شدند. حجم نمونه در هر گروه با استفاده از آزمون آماری محاسبه گردید. افراد دارای سن بین ٤١ تا ۷۰ سال بودند. بیماران به دو گروه ۳۱ نفره افراد دارای سابقه‌ی ابتلا بیشتر از ۵ سال و گروه ۳۰ نفره افراد دارای سابقه‌ی ابتلا کمتر از ۵ سال برای بیماری تقسیم شدند. گروه کنترل و بیمار از نظر سن و جنس مطابقت داشتند. گروه کنترل هیچ‌گونه سابقه‌ی خانوادگی دیابت و فشار خون بالا نداشتند و قند خون آنها کمتر از ۱۱۰ mg/dl بود.

آزمایشات بیوشیمیایی

آزمایشات بیوشیمیایی خون شامل اندازه‌گیری قند، کلسترول، تری‌گلیسرید و HDL در مرکز کوهورت شهرکرد با استفاده از کیت‌های تشخیصی پارس آزمون اندازه‌گیری شد.

استخراج DNA و تیمار با بیسولفیت

نمونه‌های خون در تیوب‌های حاوی EDTA (0.5M) جمع‌آوری شدند. DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناکلون، EX6071، ایران) استخراج شدند. کیفیت نمونه‌ها با استفاده از دستگاه نانودراپ ۲۰۰۰ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) بررسی شد. تیمار بی سولفیت با استفاده از کیت (Qiagen, cat. nos. 59824 EpiTect Fast DNA Bisulfite Kit, Germany صورت گرفت که در طی این فرایند سیتوزین غیرمتیله به یوراسیل تبدیل می‌شود اما سیتوزین‌های متیله بدون تغییر باقی می‌مانند.

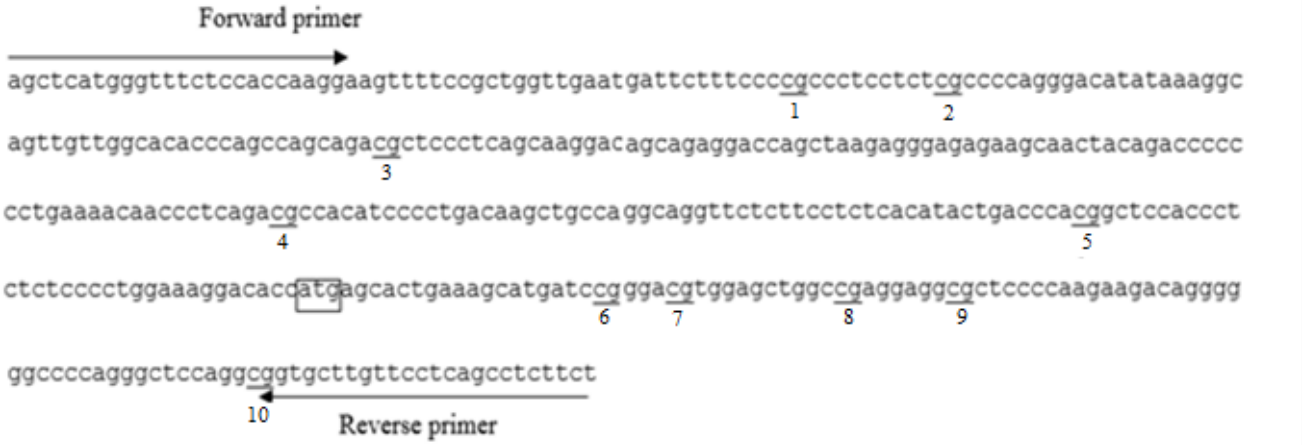
طراحی پرایمر و انجام واکنش PCR

ناحیه‌ی پروموتری ژن TNF-α (NG_007462.1) با استفاده از روش Nested PCR و پرایمرهای متیله ویژه پروموتر تکثیر شد. در ناحیه‌ی پروموتر و 5'UTR ژن TNF-α، در اطراف ناحیه‌ی کد کننده (CDS) ۱۰ ناحیه CpG وجود دارند که در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفت (شکل ۱).

پرایمرهای PCR با استفاده از نرم‌افزار Meth Primer طراحی شدند. توالی‌های پرایمر برای Nested PCR در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. برنامه‌ی دمایی واکنش PCR برای هر دو مرحله عبارت بود از: واسرشتگی اولیه در دمای ºC ۹۵ به‌مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل شامل ۹۵ºC به‌مدت ۳۰ ثانیه، ۵۱ºC به‌مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ºC به‌مدت ۳۰ ثانیه و در نهایت طویل‌سازی نهایی در دمای ºC ۷۲ به‌مدت ۵ دقیقه. در نهایت کیفیت محصول PCR با استفاده از ژل پلی‌آکریل‌آمید ۸ درصد بررسی شد.

محصولات PCR هر نمونه، جهت بررسی میزان متیلاسون تعیین توالی گردید. تعیین توالی با دستگاه ABI 3500 توسط شرکت ژنومین در تهران انجام گردید.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]



شکل ۱- مناطق CpG در پروموتر و 5'UTR ژن TNF-α

۱۰ منطقه CpG این ژن بررسی شده است. شروع ناحیه‌ی کد کننده در کادر مشخص شده است. زیر پرایمرها خط کشیده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرهای ژن *TNF-α* برای انجام Nested PCR

	توالی پرایمر (5′→3′)	طول محصول PCR (bp)
پرایمرهای مرحله‌ی اول	F1 GAGATAGAAGGTGTAGGGTTTATTAT R1 TCCAAAATACAACAAACAAAAAAAC	488
پرایمرهای مرحله‌ی دوم	F2 AGTTTATGGGTTTTTTTATTAAGG 3′ R2 AAAAAAAACTAAAAAACAAACACC 3′	394

بررسی‌های آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه‌ی ۱۸) صورت گرفت. از آزمون های one way ANOVA، کای دو و آزمون دقیق فیشر برای مقایسه‌ی میانگین گروه‌ها و متیلاسیون بین گروه‌ها استفاده شد. P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در این مطالعه ۶۱ فرد مبتلا به دیابت نوع دو (۳۱ بیمار دارای سابقه‌ی ابتلا بیشتر از ۵ سال و ۳۰ بیمار دارای سابقه‌ی ابتلا کمتر از ۵ سال) با ۳۰ فرد کنترل که از نظر سن و جنس مطابقت داشتند، مقایسه شدند. پروفایل لیپیدی و متیلاسیون ۱۰ منطقه CpG از پروموتر ژن TNF-α بررسی شد.

در این مطالعه به جز میزان قند خون ناشتا که بین گروه‌های مورد مطالعه ارتباط معنی‌دار را نشان داد، پروفایل لیپیدی و همچنین ویژگی‌های دموگرافیک بین گروه‌های مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۲). در بررسی نتایج تعیین توالی به‌دست آمده، ارتباط معنی‌داری بین متیلاسون مناطق CpG پروموتر ژن TNF-α در گروه‌های مورد مطالعه وجود مشاهده نشد (جدول ۲).

تعداد متیلاسیون مناطق CpG در ژن TNF-α به تفکیک جنسیت در گروه‌های مورد مطالعه نیز بررسی گردید. نتایج ما اختلاف معنی‌داری را در بین زنان و مردان در ارتباط با متیلاسیون پروموتر ژن TNF-α را نشان نداد (جدول ۳).

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]

جدول ۲-مقایسه ویژگی‌های دموگرافیک و پروفایل لیپیدی و میزان متیلاسیون پروموتر ژن *TNF-a* در گروه‌های مورد مطالعه

متغیرها	کنترل	گروه با سابقه ابتلا کمتر از ۵ سال	گروه با سابقه ابتلا بیشتر از ۵ سال
*جنسیت			
مرد	۱۰ (۳۳/۳)	۱۰ (۳۳/۳)	۱۲(۳۸/۷)
زن	۲۰ (٦٦/۷)	۲۰(٦٦/۷)	۱۹(٦۱/۳)
سن	٥٤/٥±۸/٦	٥٥/۹±۸/۱	٥٥/۳±۸/۲
BMI (kg/m^2)	۲۸/٤±٤/٦	۳۰/۲±٥/۳	۲۸/٥±۳/۸
قند خون ناشتا (mg/dl)	۹۰/۹±۲/٤	**۱۱٥/٥±٤/۳	**۱٥٥/٦±۱٥/۱
کلسترول (mg/dl)	۱۹۷/۱±۷/۳	۱۷۹/٥±۷/۷	۱۸۳/٥±۸/۲
تری گلیسرید (mg/dl)	۱٦٤/۳±۱٥/۱	۱٦۸/۹±۱٤/٤	۱٥۹/۳±۱۳/۷
HDL (mg/dl)	٥۱/۱±۲/۱	٥۰/۹±۲/۱	٤۹/٦±۲/٤
میانگین تعداد متیلاسیون CpG *TNF-a*	۰/٤۷±۰/۱	۰/٤۷±۰/۱	۰/٥۲±۰/۱

۳۰نمونه کنترل، ۳۱ بیمار دارای سابقه ابتلا بیشتر از ۵ سال و ۳۰ بیمار دارای سابقه‌ی ابتلا کمتر از ۵ سال بررسی شدند.

* متغیر جنس با فراوانی (درصد) و سایر متغیرها به‌صورت Mean ± SEM ذکر گردیده‌اند.

** P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل

جدول ۳ - مقایسه تعداد متیلاسیون مناطق CpG در ژن *TNF-a* به تفکیک جنسیت در گروه‌های مورد مطالعه

متغیر	گروه‌ها	جنس	میانگین تعداد متیلاسیون
CpG *TNF-a*	کنترل	مرد	۰/٥۰±۰/۲
		زن	۰/٤٥±۰/۱
	بیمار	مرد	۰/٤۱±۰/۱
متغیر		زن	۰/٥٤±۰/۱

تعداد مناطق CpG بررسی شده در ژن *TNF-a* در ۳۱ فرد غیر دیابتی و ٦۱ فرد دیابتی که با روش تیمار بیسولفیت و تعیین توالی بررسی شدند. متغیرها به‌صورت Mean ± SEM مشخص شده است.

بحث

امروزه مشخص شده است که در ایجاد بیماری‌های چند عاملی علاوه بر تغییرات ژنتیکی، تغییرات اپی‌ژنتیک نقش مهمی دارد. بیماری دیابت نیز یک بیماری چند عاملی است که در طی چند سال مطالعه و کشف ژن‌های متعدد که در ایجاد بخش ژنتیکی آن نقش دارند مشخص شده است که عوامل محیطی در ایجاد آن نقش مهمی دارند. با توجه به این موضوع در این مطالعه سعی شده است که متیلاسیون ژن *TNF-a* که در مسیر مولکولی دیابت نقش دارد، بررسی شود. در این روش از تیمار بیسولفیتی که روش اصلی برای بررسی وضعیت متیلاسیون ژن‌ها است، استفاده شد. در این حالت سیتوزین‌های غیرمتیله به یوراسیل تبدیل می‌شوند که در طی واکنش PCR یوراسیل‌ها به تیمین تبدیل می‌شوند اما سیتوزین‌های متیله بدون تغییر باقی می‌مانند که پس از توالی‌یابی قابل تشخیص هستند. ژن *TNF-a* در مسیر مولکولی پاتوژنز دیابت به نوعی نقش اولیه دارد و

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]

باعث شروع وقایع مولکولی بعدی می‌شود. TNF-α اولین سایتوکین ترشحی از ماکروفاژهای تجمعی در بافت چربی است که آغازگر ترشح و فعال سازی سایر سایتوکاین‌ها و آپوپتوز جزایر β لانگرهانس یا قطع مسیر سیگنالینگ انسولین (ایجاد مقاومت انسولین در بافت‌های چربی سفید، کبد و ماهیچه به‌عنوان یکی از دلایل اصلی ایجاد دیابت) و متعاقباً فعال‌سازی مسیرهای آنزیمی درون سلولی می‌شود که باعث ایجاد شرایط التهابی و تولید گونه های فعال اکسیژن (ROS) در دیابت می‌شوند [۱۱].

در مورد ژن *TNF-a* تاکنون چندین مطالعه در افراد مبتلا به دیابت و یا بررسی وضعیت متیلاسیون پروموتر آن در افراد دارای چربی بالا صورت گرفته است. در یک بررسی که در سال ۲۰۱۶ به‌منظور بررسی سطح سرمی برخی سایتوکاین‌ها از جمله TNF-α در دیابت نوع دو انجام شد نشان داد که خطر بروز دیابت نوع دو به میزان زیادی با افزایش سطح سایتوکاین‌های التهابی از جمله TNF-α، IL-1β، IL-6، IL-18 و CRP مرتبط است [۱۴]. همچنین برخی مطالعات نشان داد در زنان دارای چاقی مرکزی بالاتر پروموتر ژن *TNF-a* دارای متیلاسیون کمتر است اما سطح پلاسمایی آن بالاتر است [۱۳].

مطالعه‌ی ما ارتباطی بین متیلاسیون پروموتر ژن *TNF-a* و دیابت نوع دو نشان نداد. همانگونه که می‌دانیم کنترل بیان ژن‌ها به‌واسطه‌ی تغییرات اپی ژنتیکی، علاوه بر متیلاسیون DNA، از مسیرهای دیگری مانند تغییرات هیستونی و micro RNA نیز صورت می‌گیرد. احتمال دارد عدم مشاهده متیلاسیون در پروموتر *TNF-a* در مطالعه‌ی ما به‌خاطر نقش سایر مسیرهای تنظیمی باشد. از طرفی با توجه به اینکه میزان BMI در گروه‌های مورد مطالعه‌ی ما اختلاف معنی‌داری نداشت می‌تواند دلیل دیگری بر عدم مشاهده اختلاف در میزان متیلاسیون در گروه‌های مورد مطالعه باشد. چرا که مطالعات نشان داده وجود چاقی می‌تواند عامل مؤثری در تغییرات اپی ژنتیکی ژن *TNF-a* باشد [۱۳].

اخیراً یک بررسی بر روی هیدروکسی متیلاسیون و متیلاسیون کلی DNA در سلول‌های خونی بیماران دیابت نوع دو که با دارو به خوبی کنترل شدند و بیمارانی که به‌طور مناسبی کنترل نشدند در مقایسه با افراد سالم نشان داد که پروموتر ژن *TNF-a* در افرادی که با دارو به‌طور مناسبی کنترل نشدند کمتر متیله شده است [۱۵]. ما میزان کنترل دیابت در بیماران را بررسی نکردیم و احتمالاً عدم مشاهده تغییر در میزان متیلاسیون می‌تواند با کنترل دیابت در بیماران مورد مطالعه ما مربوط باشد.

مطالعات اپی‌ژنتیک بر روی بافت خون که یک نمونه‌ی قابل دسترس است نسبت به سایر بافت‌هایی که در ارتباط با ایجاد دیابت هستند می‌تواند در تشخیص زودرس بیماری کمک کننده باشد. علی‌رغم اینکه ما تغییر در متیلاسیون پروموتر ژن *TNF-a* در نمونه‌ی خون محیطی بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نکردیم، شاید بتوان با مطالعه اپی‌ژنتیکی سایر ژن‌های دخیل در پاتوژنز بیماری در خون محیطی، از نمونه‌ی خون به‌عنوان مارکر در تشخیص و درمان بیماری دیابت بهره برد.

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌سد تغییرات اپی ژنتیکی سایتوکاین‌هایی مانند *TNF-a* که در ایجاد مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی نوع دو نقش دارند در نمونه خون محیطی محسوس نیست و در این رابطه احتمالاً بافت‌های دیگر باید مورد بررسی قرار گیرند.

سپاسگزاری

این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه خانم زهرا مرادی دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک است. هزینه‌ی این مطالعه توسط معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد تأمین گردیده است که بدین وسیله تقدیر و تشکر می‌گردد. از پرسنل محترم مرکز کوهورت دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد که در جمع‌آوری نمونه‌ها و انجام آزمایشات بیوشیمی ما را یاری کردند و همچنین افراد شرکت کننده در مطالعه تقدیر و تشکر می‌گردد.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]

مآخذ

1. Wu Y, Ding Y, Tanaka Y, Zhang W. Risk factors contributing to type 2 diabetes and recent advances in the treatment and prevention. *Int J Med Sci* 2014; 11(11):1185-200.
2. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology* [Review Article]. 2017; 14:88.
3. Kameswaran V, Bramswig NC, McKenna LB, Penn M, Schug J, Hand NJ, et al. Epigenetic regulation of the DLK1-MEG3 microRNA cluster in human type 2 diabetic islets. *Cell Metab* 2014; 19(1):135-45.
4. Kwak SH, Park KS. Recent progress in genetic and epigenetic research on type 2 diabetes. *Exp Mol Med* 2016; 48:e220.
5. Nilsson E, Ling C. DNA methylation links genetics, fetal environment, and an unhealthy lifestyle to the development of type 2 diabetes. *Clin Epigenetics* 2017; 9:105.
6. Makki K, Froguel P, Wolowczuk I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. *ISRN Inflamm* 2013; 2013:139239
7. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006; 444(7121):840-6.
8. Nicholas DA, Andrieu G, Strissel KJ, Nikolajczyk BS, Denis GV. BET bromodomain proteins and epigenetic regulation of inflammation: implications for type 2 diabetes and breast cancer. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74(2):231-43.
9. Sommese L, Zullo A, Mancini FP, Fabbricini R, Soricelli A, Napoli C. Clinical relevance of epigenetics in the onset and management of type 2 diabetes mellitus. *Epigenetics* 2017; 12(6):401-15.
10. Al Muftah WA, Al-Shafai M, Zaghlool SB, Visconti A, Tsai P-C, Kumar P, et al. Epigenetic associations of type 2 diabetes and BMI in an Arab population. *Clinical epigenetics* 2016; 8: 13.
11. Akash MSH, Rehman K, Liaqat A. Tumor Necrosis Factor-Alpha: Role in Development of Insulin Resistance and Pathogenesis of Type 2 Diabetes Mellitus. *J Cell Biochem* 2018; 119(1):105-10.
12. Miao F, Gonzalo IG, Lanting L, Natarajan R. In vivo chromatin remodeling events leading to inflammatory gene transcription under diabetic conditions. *J Biol Chem* 2004; 279(17):18091-7.
13. Hermsdorff HH, Mansego ML, Campión J, Milagro FI, Zulet MA, Martínez JA. TNF-alpha promoter methylation in peripheral white blood cells: Relationship with circulating TNFα, truncal fat and n-6 PUFA intake in young women. *Cytokine* 2013; 64(1):265-71.
14. Liu C, Feng X, Li Q, Wang Y, Li Q, Hua M. Adiponectin, TNF-alpha and inflammatory cytokines and risk of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Cytokine* 2016; 86:100-9.
15. Pinzon-Cortes JA, Perna-Chaux A, Rojas-Villamizar NS, Diaz-Basabe A, Polania-Villanueva DC, Jacome MF, et al. Effect of diabetes status and hyperglycemia on global DNA methylation and hydroxymethylation. *Endocr Connect* 2017; 6(8):708-25

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]

INVESTIGATION OF METHYLATION OF TNF-A GENE PROMOTER IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES

Zahra Moradi[1], Mehrnaz Sadat Ravari[1], Effat Farrokhi[2*], Morteza Hashemzadeh haleshtori [3]

1. *Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran*
2. *Department of Molecular Medicine, School of Advanced Technologies, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran*
3. *Modeling in Health Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran*

ABSTRACT

Background: Type II diabetes is a chronic inflammatory condition that is associated with a combination of genetic and environmental factors. Tumor necrosis factor alpha or TNF-α as an adipocyte cytokine, which affects the signaling pathway of insulin, can contribute to insulin resistance in type 2 diabetes patients. Considering the importance of epigenetic changes in multifactorial diseases, this study aimed to investigate TNF-α promoter methylation in patients with type 2 diabetes.

Methods: This study was performed on 61 patients with type 2 diabetes and 31 non-diabetic patients. The Groups were matched in terms of demographic characteristics. The lipid profiles were measured by standard kits. TNF-α promoter methylation levels were measured by bisulphite treatment method, Nested PCR and sequencing.

Results: There was no association between TNF-α promoter methylation gene promoter and type 2 diabetes in the studied groups. Also, there was no association between TNF-α promoter methylation in diabetic and non-diabetic groups between males and females.

Conclusion: The epigenetic changes in cytokines that contribute to insulin resistance in type 2 diabetic patients seem to be ineffective in peripheral blood samples, and other tissues may need to be investigated in this regard.

Keywords: Type 2 diabetes mellitus, Epigenetic, TNF-α, DNA methylation

*Department of Molecular Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Rahmatieh, Shahrekord, Iran. Tel: +98 3833335654 fax: +983833330709. E-mail: e_farrokhi_k@yahoo.com

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-24]