

ارتباط پلی مورفیسم rs 2241766 ژن آدیپونکتین با سطح سرمی آدیپونکتین، مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو در یک جمعیت ایرانی

نسرین حاجیلو^۱، معصومه نژادعلی^{۱*}، لاله قانعی^۲

مقاله پژوهشی

مقدمه: آدیپونکتین پپتید مترشحه از سلول‌های چربی است که نقش مهمی در به‌روز مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو ایفا می‌کند. تعدادی از پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در ژن آدیپونکتین با کاهش بیان آدیپونکتین و T2DM ارتباط دارد. هدف از این مطالعه تعیین فراوانی پلی مورفیسم rs 2241766 در ژن آدیپونکتین و ارتباط آن با سطح آدیپونکتین، مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ در افراد پره دیابتی/دیابتی و سالم بود.

روش بررسی: این مطالعه به روش مورد-شاهدی انجام شد که ۷۳ فرد مبتلا به پره دیابت/دیابت با قند خون ناشتا بیشتر از ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر، بدون سابقه مصرف دارو به‌عنوان گروه مورد و ۷۶ نفر با قند خون ناشتا ۱۰۰-۷۰ میلی گرم در دسی لیتر به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. متغیرهای ها بیوشیمیایی و تن سنجی با روش‌های استاندارد و میزان آدیپونکتین و انسولین باکیت الیزا اندازه‌گیری شد. تعیین ژنوتیپ به روش PCR-RFLP انجام شد. داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SPSS Inc., Chicago, IL; version 16 تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: آنالیز رگرسیونی نشان داد پلی مورفیسم rs 2241766 ارتباط معنی داری با دیابت و مقاومت به انسولین ندارد. بین حاملین TG و TT در دو گروه سالم و پره دیابت/دیابت در هیچ یک از متغیرها اختلاف معنی داری یافت نشد. ارتباط منفی بین آدیپونکتین و مقاومت به انسولین مشاهده شد ($r = -0.225, p < 0.01$).

نتیجه‌گیری: براساس این مطالعه پلی مورفیسم rs 2241766 با سطح آدیپونکتین، مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ ارتباط ندارد، اما بین آدیپونکتین و مقاومت به انسولین ارتباط وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: پلی مورفیسم، دیابت نوع ۲، آدیپونکتین، مقاومت به انسولین، rs2241766

ارجاع: حاجیلو نسرین، نژادعلی معصومه، قانعی لاله. ارتباط پلی مورفیسم rs 2241766 ژن آدیپونکتین با سطح سرمی آدیپونکتین، مقاومت به انسولین و دیابت نوع دو در یک جمعیت ایرانی. مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد ۱۳۹۸؛ ۲۷ (۲): ۲۷-۱۲۱۶.

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد اسلام‌شهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلام‌شهر، ایران

۲- گروه پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تهران پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

* (نویسنده مسئول): تلفن: ۰۹۱۲۳۸۷۵۴۹۳، پست الکترونیکی: ma_nejadali@yahoo.com، کد پستی: ۳۳۱۴۷-۶۷۶۵۳

نتایج تحقیقات بر روی پلی مورفیسم‌های آدیپونکتین نشان می‌دهد عملکرد این واریانت‌ها بر بیماری‌های متابولیکی در جوامع و کشورهای مختلف یکسان نیست. از جمله پلی مورفیسم‌های معمول در ژن آدیپونکتین پلی مورفیسم rs 2241766 در اگزون ۲ است. این موتاسیون اگر چه خاموش است اما بر بیان mRNA و سطح آدیپونکتین موثر است (۱۱). گزارشات متفاوت در مورد اثرات این پلی مورفیسم در جمعیت‌ها موجود است، برای مثال در کشور کره برخلاف جمعیت‌های ژاپن و مصر بین پلی مورفیسم rs 2241766 با دیابت نوع ۲ ارتباطی مشاهده نشد (۱۲). این پلی مورفیسم در ژاپنی‌ها با حساسیت به انسولین و در جمعیت‌های یونان، فرانسه و اسپانیا با دیابت نوع ۲ و در آلمان با سندرم تخمدان پلی کیستیک و در جمعیت سوئد با چاقی ارتباط دارد (۶) دو مطالعه در زمینه ارتباط پلی مورفیسم rs 2241766 ژن آدیپونکتین و بیماری دیابت نوع ۲ در ایران انجام شد. در یک مطالعه که بر روی ۲۴۴ فرد دیابتی و ۹۹ فرد سالم در رفسنجان انجام شد، ارتباطی بین این پلی مورفیسم و دیابت مشاهده نشد (۱۳) اما در مطالعه دیگر که بر روی ۷۰ فرد سالم، ۸۰ بیمار دیابتی چاق و ۷۲ بیمار دیابتی غیر چاق انجام شد (۱۴) ارتباط این پلی مورفیسم و دیابت در افراد با وزن نرمال تأیید شد که در این مطالعه فراوانی ژنوتیپ TT در نمونه‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ غیر چاق بیشتر بود (۱۵). مطالعه حاضر، با توجه به تناقض نتایج محققان در بررسی ارتباط پلی مورفیسم با سطح آدیپونکتین، دیابت و مقاومت به انسولین و گزارشات ناهم‌سوی دو تحقیق در ایران، بر روی بیماران مبتلا به پره دیابت و دیابتی بدون سابقه مصرف داروهای متابولیکی انجام شد داروهایی مثل متفورمین که توسط بیماران دیابتی مصرف می‌شود، سطح آدیپونکتین را افزایش می‌دهند (۱۶). در این مطالعه فراوانی پلی مورفیسم rs 2241766 در افراد سالم و در بیماران پره دیابتی/دیابتی تعیین شد هم چنین ارتباط این پلی مورفیسم با دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین، سطح هورمون آدیپونکتین و متغیرهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی بررسی شد.

دیابت یک بیماری متابولیکی و یک مشکل بزرگ بهداشتی با شیوع رو به افزایش در جهان است (۱) که به‌طور نگران‌کننده‌ای در حال افزایش است. شیوع دیابت در ایران بالا و حدود ۷/۷ درصد گزارش شده است (۲). دیابت شایع‌ترین اختلال غدد درون ریز است (۳) که به علت اختلال در عملکرد سلول‌های بتا پانکراس یا مقاومت سلول‌های بدن در برابر انسولین ایجاد می‌شود (۱). آدیپونکتین، یک سیتوکین ضدالتهابی است که به‌میزان فراوان، از بافت چربی ترشح می‌شود (۴). ژن آدیپونکتین روی کروموزوم 3q27 قرار گرفته است (۵). اندازه آن ۱۶kD و حاوی ۳ اگزون و ۲ اینترون است که پروتئینی با ۲۴۴ اسیدآمینو را می‌سازد (۶) آدیپونکتین دارای ۴ دومن قابل تشخیص است (۶،۷) که در انتهای آمین دارای توالی راهنماست، به‌دنبال آن یک ناحیه بسیار متغیر کوتاه و بعد آن یک هلیکس کلان‌مانند و در انتهای C یک دومن کروی، مشابه با ساختار TNF و فاکتور کمپلمان C1q وجود دارد (۶).

غلظت آدیپونکتین پلازما در زنان بیشتر از مردان است که احتمالاً به دلیل وجود مقدار بیشتر چربی در زنان است (۸) آدیپونکتین دارای دوگیرنده می‌باشد. هر دو گیرنده فعالیت پروتئین‌کیناز وابسته به آدنوزین منوفسفات را افزایش داده و به‌دنبال آن اکسیداسیون اسیدهای چرب و جذب گلوکز را القا می‌کنند (۶). آدیپونکتین با تاثیر روی جذب گلوکز عضلانی، هیپرگلیسمی را در بیماران دیابتی می‌کاهد و بافت‌های بدن را به انسولین حساس می‌کند (۴). آدیپونکتین دارای اثرات ضدالتهابی و حساس‌کننده به انسولین است و از این‌رو نقش حافظتی در دیابت نوع ۲، چاقی، فشارخون بالا و بیماری عروق کرونر دارد. کاهش سطح آدیپونکتین ناشی از تعامل عوامل ژنتیکی و محیطی (۴)، نقش مهمی در ایجاد مقاومت به انسولین، T2DM (۹) و چاقی ایفا می‌کند (۱۰). مطالعات نشان داده است در جمعیت‌هایی که سطح آدیپونکتین پایین‌تری دارند دیابت نوع ۲ شایع‌تر است (۶).

روش بررسی

جمعیت مورد بررسی، از افراد ساکن تهران و استان زنجان بودند. شرکت کنندگان در این مطالعه مورد و شاهدی، (زن و مرد) با حداقل ۱۲ سال و حداکثر ۷۰ سال و از مراجعه کنندگان به آزمایشگاه تشخیص طبی خصوصی شهر زنجان و بیمارستان بوعلی تهران انتخاب شدند. زمان مطالعه از آذر ۱۳۹۵ لغایت شهریور ۱۳۹۶ بود که بر اساس تفاهم نامه هلسینکی انجام گردید. حجم نمونه بر اساس فرمول، نرم افزار MedCalc محاسبه شد. در این مطالعه، ۷۳ نفر، در گروه بیمار مبتلا به پره دیابت/ دیابت نوع دو با قند خون ناشتای بیشتر از ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر (اطلاعات ۳ نفر از بیماران به دلیل عدم رضایت کامل در آنالیز آماری حذف شد) و ۷۶ نفر در گروه کنترل، با قند ناشتای بین ۷۰ تا ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر قرار گرفتند. شرط ورود افراد به گروه پره دیابت/دیابت، قند بالای ۱۰۰ میلی گرم در دسی لیتر و عدم سابقه مصرف داروی ضد دیابت بود که این مهم از ویژگی های منحصر بفرد این مطالعه بود. جهت رعایت موازین اخلاقی، اطلاعات در زمینه این مطالعه به افراد داده شد که در صورت داشتن رضایت کامل در این مطالعه وارد شدند. شرط ورود افراد در این طرح، بیماری نبودند که سابقه مصرف داروی ضد دیابت نداشتند و شرط خروج سابقه مصرف داروی متابولیکی، تخمدان پلی کیستیک، مصرف مواد مخدر، بیماری حاد، حاملگی، بیماری کلیوی، بیماری های کبد، بیماری قلبی، سرطان، بیماری های ایمنی، عفونت و فشار خون بالا و سایر بیماری های شناخته شده بود. افراد مبتلا به پره دیابت دارای قند خون ناشتا ۱۰۰ تا ۱۲۵ میلی گرم در دسی لیتر بودند در حالی که قند خون ناشتا افراد دیابتی ۱۲۶ میلی گرم در دسی لیتر و بالاتر بود (۱۷).

افراد مراجعه کننده پس از ۲ بار اندازه گیری قند خون به قرار گیری در دو گروه مورد بررسی، هدایت شدند. اندازه گیری BMI (kg/m²) به روش استاندارد انجام شد. ابتدا وزن افراد با استفاده از ترازوی عقربه ای سکا و با دقت ۰/۱ Kg، سپس قد افراد با استفاده از قدسنج دیواری سکا، بدون کفش و با دقت ۰/۵ cm اندازه گیری شد. برای تعیین دور کمر، متر می بایست

در یک راستا، در میانه محدوده بین دنده آخر و استخوان لگن قرار گیرد، که معمولاً اندازه دور کمر، بالای ناف اندازه گیری می شود. از افراد مراجعه کننده با رعایت ۱۴-۱۲ ساعت ناشتایی ۱۰ میلی لیتر نمونه خون محیطی گرفته شد، که ۵ میلی لیتر از نمونه مذکور در لوله حاوی ضد انعقاد (۳mg/ml EDTA) و باقی مانده آن در لوله ای فاقد ضد انعقاد ریخته شد. بعد از لخته شدن خون، لوله فاقد ضد انعقاد به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ (۳۰۰۰ rpm) و سرم آن جدا شد و در لوله های کوچک دردار با حجم نهایی ۱/۵ میلی لیتر تقسیم گردید و به پژوهشگاه غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی جهت اندازه گیری متغیرهای بیوشیمیایی منتقل گردید.

تعیین ژنوتیپ

برای تعیین ژنوتیپ ابتدا استخراج DNA از لوله های ضد انعقاد توسط روش Salting Out (۱۸) انجام شد. سپس با استفاده از روش PCR یک توالی ۳۷۲ جفت بازی از اگزون شماره ۲ مربوط به ژن آدیپونکتین که حاوی پلی مورفیسم +45 T/G بود، در دستگاه ترموسایکلر مدل Applied Biosystems 2070 شرکت ABI تکثیر گردید. برای این کار از دو پرایمر استفاده شد که توسط نرم افزار Gene runner طراحی شد. عملکرد اختصاصی آغازگرها با Blast تائید و توسط شرکت تولیدی و تحقیقاتی پیشگام تهیه گردید:

FORWARD primer:

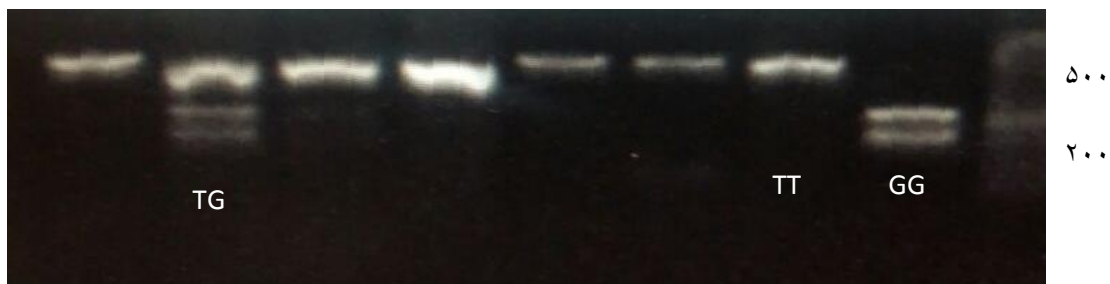
5'_GAAGTAGACTCTGCTGAGATGG_3'

REVERSE primer:

5'_TATCAGTGTAGGAGGTCTGTGATG_3'

جهت انجام PCR، مخلوط نهایی را با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر درون میکروتیوب های ۰/۲ آماده کردیم. مخلوط واکنش شامل Taq polymerase, dNTP, Master mix (۰/۹ MgCl₂) به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر، یک میکرولیتر DNA، ۰/۹ میکرولیتر از هر پرایمر (primer reverse و primer forward) و ۹/۸ آب مقطر بود که جهت تکثیر قطعه حامل پلی مورفیسم rs 2241766 ژن آدیپونکتین به دستگاه Thermal cycler

گردید. تعیین ژنوتیپ با تکنیک RFLP و آنزیم محدودکننده SmaI شرکت فرمنتاز انجام شد. محصولات PCR مدت ۱۶ ساعت توسط آنزیم SmaI در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس ژنوتیپها با الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۲٪ تعیین شد. رنگ آمیزی ژل با استفاده از Gel Red انجام و نتیجه الکتروفورز با دستگاه Transluminator مشاهده گردید. نتیجه الکتروفورز محصولات PCR پلی مورفیسم rs 2241766 با استفاده از تکنیک RFLP در شکل (۱) نشان داده شده است. ژنوتیپ TT با باند ۳۷۲ جفت باز، ژنوتیپ TG با باندهای ۳۷۲، ۲۰۹، ۱۶۳ جفت باز و ژنوتیپ GG با باندهای ۱۶۳، ۲۰۹، ۱۶۳ جفت باز مشخص گردید (شکل ۱). در این مطالعه ۶ نفر با ژنوتیپ GG مشاهده شد، از این رو در آنالیز آماری حذف گردید.



شکل ۱: نتیجه هضم آنزیمی پلی مورفیسم rs 2241766 توسط SmaI. در این شکل طول قطعات بریده شده بوسیله آنزیم نمایش داده شده است. ژنوتیپ TG سه باند با طول های ۳۷۲ bp و ۲۰۹ bp و ۱۶۳ bp؛ ژنوتیپ GG دو باند با طول های ۲۰۹ bp و ۱۶۳ bp؛ ژنوتیپ TT یک باند با طول ۳۷۲ bp

گروه تقسیم شدند افراد حساس به انسولین که میزان HOMA-IR، کمتر از ۲/۲۴ بود. افراد مقاوم به انسولین بینابینی ۳/۵۹ \leq HOMA-IR \leq ۲/۲۴ و افراد مقاوم به انسولین که میزان HOMA-IR بیشتر از ۳/۵۹ بود (۱۹).

تجزیه و تحلیل آماری

برای تجزیه و تحلیل داده‌های آماری و بررسی فرضیات تحقیق، از آمارهای توصیفی و آزمون های استنباطی متناسب با داده‌ها و متغیرها استفاده گردید. برای استفاده از شاخص های مناسب آمار توصیفی و آمار استنباطی با استفاده از آزمون کلموگروف اسمیرنوف توزیع متغیرهای مورد مطالعه مشخص شد. برای تجزیه و تحلیل فرضیه‌های تحقیق از آزمون

منتقل گردید برنامه ترموسایکلر برای عملکرد بیشتر پرایمر در دو مرحله تنظیم گردید. در مرحله اول، دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، صورت گرفت. سپس ۱۰ سیکل که شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر به DNA در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه انجام شد. در مرحله دوم، ۲۰ سیکل، با دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، سپس اتصال پرایمر به DNA در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۶۰ ثانیه و در نهایت گسترش نهایی به مدت ۱۰ دقیقه با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد صورت گرفت، در نهایت قطعه‌ای به طول ۳۷۲ جفت باز حاصل

بررسی پارامترهای بیوشیمیایی

میزان کلسترول تام، تری گلیسرید سرم و قند خون ناشتا، HDL-C به روش رنگ سنجی آنزیمی و با کیت های تجاری شرکت پارس آزمون و با روش الایزا توسط دستگاه Biotechnica مدل BT3500 اندازه گیری شد. LDL-کلسترول از طریق فرمول فریدوالد محاسبه گردید. غلظت سرمی آدیپونکتین و انسولین با استفاده از کیت ELISA کمپانی Mercodia سوئد در پژوهشگاه غدد و متابولیسم شهید بهشتی اندازه گیری شد. مقاومت به انسولین بر اساس فرمول HOMA-IR = گلوکز ناشتا سرم (mmol/lit) \times انسولین ناشتا سرم (microunit/lit) / ۲۲/۵ محاسبه شد. با توجه به مقادیر HOMA-IR جمعیت مورد مطالعه به سه

نشد اما در سایر متغیرها یعنی سن، نمایه توده بدنی، دور کمر، دور باسن، تری گلیسرید و قند ناشتا تفاوت معنی دار بود (جدول ۱). بررسی متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی برای افراد سالم و بیمار به تفکیک ژنوتیپها در جدول ۲ و ۳ آمده است. نتایج نشان داد تفاوت معنی دار در متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی در حاملین ژنوتیپهای پلی مورفیسم rs2241766 برای افراد سالم و بیمار وجود ندارد ($p > 0.05$). در (جدول ۲) متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی برای افراد سالم به تفکیک ژنوتیپها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در افراد سالم حامل ژنوتیپ TT در هیچ یک از متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی اختلاف معنی دار وجود ندارند ($p > 0.05$). در جدول ۳ متغیرهای بیوشیمیایی در افراد بیمار به تفکیک ژنوتیپها آمده است، نتایج نشان می دهد در افراد بیمار حامل ژنوتیپ های TG, TT نیز، در هیچ یک از متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی تفاوت معنی دار وجود ندارند ($p > 0.05$). متغیرهای کمی با توزیع نرمال به صورت میانگین و انحراف استاندارد و متغیرهای کمی با توزیع چوله به صورت میانه و دامنه میان چارکی گزارش شدند.

تی مستقل، من ویتنی بهره گرفته شد. عوامل کیفی با استفاده از آزمون کای دو یا فیشر مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپها با دیابت، از آنالیز آماری رگرسیون لجستیک، محاسبه OR با فاصله اطمینان استفاده شد. تجزیه و تحلیل دادهها با استفاده از نرم افزار SPSS Inc., Chicago, IL; version 16 انجام شد و سطح معنی دار آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

ملاحظات اخلاقی

پروپوزال این تحقیق، در کمیته سازمانی اخلاق در پژوهشهای زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی آزاد اسلامی تهران مورد تایید قرار گرفته است (کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1396.290).

نتایج

در این مطالعه ۱۴۹ فرد شرکت کردند که ۷۳ نفر پره دیابتی/دیابتی و ۷۶ نفر سالم بودند. میانگین سنی افراد دیابتی ۵۲/۹ و افراد سالم ۳۶/۹ سال بود. در این مطالعه بین دو گروه پره دیابتی/دیابتی و سالم در متغیرهای انسولین، کلسترول، آدیپونکتین، HDL و LDL تفاوت معنی دار مشاهده

جدول ۱: توزیع متغیرهای تن سنجی، متغیرهای قند و لیپید، هومونهای انسولین و آدیپونکتین در دو گروه سالم و بیمار

متغیر کمی	بیمار	سالم	P-value
سن (سال)	۵۲/۹±۱۳/۱	۳۶/۹±۱۱/۷	<۰/۰۰۱
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۷/۴(۲۴/۸-۲۹/۸)	۲۴/۲ (۲۱/۵-۲۷/۳)	<۰/۰۰۱
دور کمر (سانتی متر)	۹۶/۳±۱۲/۶	۱۰۳/۱±۱۳/۱	۰/۰۰۶
دور باسن (سانتی متر)	۱۰۵/۲±۱۴/۶	۹۶/۹±۱۵/۷	۰/۰۰۴
HDL (میلی گرم بر دسی لیتر)	۴۶(۳۴-۵۴)	۴۷ (۴۰/۲-۵۷)	۰/۲۳۲
LDL (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۱۵/۳±۴۲	۱۰۴/۳±۲۳/۲	۰/۱۴۳
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۸۵/۸±۴۹	۱۶۶/۸±۴۰/۱	۰/۰۵۵
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۳۸ (۹۸/۷-۲۰۲)	۹۵/۵ (۸۳/۲-۱۶۱)	۰/۲۴۱
قند ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۴۶(۱۲۳-۱۸۰)	۸۸/۵ (۸۲-۹۴)	<۰/۰۰۱
انسولین (میلی یونیت بر لیتر)	۹/۵ (۶/۱-۱۵/۳)	۸/۴ (۵/۵-۱۳/۹۶)	۰/۲۱۹
آدیپونکتین (میلی گرم بر لیتر)	۶/۶ (۵/۲-۹/۴)	۷/۴(۵/۴-۱۱/۳)	۰/۱۱۵

جدول ۲: بررسی متغیرهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی در افراد سالم حامل ژنوتیپ‌های T و TG در پلی‌مورفیسم rs2241766

متغیر	TT	TG	P-value
سن (سال)	۳۷/۸±۱۰/۶	۳۱/۶±۱۲/۲	۰/۱۶۶
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۴/۲(۲۱/۵-۲۷/۲)	۲۴/۷(۲۳/۱-۲۸/۳)	۰/۵۳۷
دورکمر (سانتی متر)	۱۰۵/۲±۱۴	۱۰۱/۵±۵/۳	۰/۴۷۲
دور باسن (سانتی متر)	۹۷/۳±۱۸/۴	۹۴±۸/۳	۰/۶۳۰
HDL (میلی گرم بر دسی لیتر)	۵۳ (۴۰-۶۱/۵)	۴۶(۴۱-۴۸)	۰/۳۷۳
LDL (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۰۰/۲±۲۵/۳	۱۱۹/۳±۱۷/۸	۰/۰۸۷
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۶۰/۱±۴۸	۱۸۷/۱±۲۰/۷	۰/۳۴۸
تری‌گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۹۵/۵(۷۸-۱۵۶/۷)	۹۴ (۸۵-۱۱۳)	۰/۸۸۰
قندناشتا (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	۸۷ (۸۰-۹۴)	۹۲ (۸۶/۵-۹۶)	۰/۱۲۲
انسولین (میلی‌یونیت بر لیتر)	۹/۵ (۶/۳-۱۶)	۵/۸ (۴/۸-۹)	۰/۰۸۱
آدیپونکتین (میلی‌گرم بر لیتر)	۷/۳(۵/۵-۱۱/۶)	۷/۲ (۶/۱-۱۰/۶)	۰/۹۱۰

جدول ۳: بررسی متغیرهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی در بیماران حامل ژنوتیپ‌های TT و TG در پلی‌مورفیسم rs2241766

متغیر	TT	TG	P-value
سن (سال)	۵۲/۹±۱۳/۴	۵۲/۵±۱۴/۱	۰/۹۰۱
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)	۲۷/۳(۲۴/۷-۲۹/۳)	۲۷/۱(۲۴/۳-۳۰/۱)	۰/۹۱۶
دورکمر (سانتی متر)	۹۶/۷±۱۰/۶	۹۴/۱±۱۸/۳	۰/۵۰۶
دور باسن (سانتی متر)	۱۰۵/۲±۱۴/۷	۱۰۴/۵±۱۷/۱	۰/۸۷۹
HDL (میلی گرم بر دسی لیتر)	۴۵ (۳۴-۵۳)	۴۶ (۴۲-۵۶)	۰/۴۰۹
LDL (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۱۱/۷±۴۱/۸	۱۱۶/۹±۳۳/۹	۰/۷۰۸
کلسترول (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۹۰±۵۴/۲	۱۹۵/۵±۳۲/۹	۰/۰۶۶
تری‌گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۳۶ (۹۱-۲۰۱)	(۱۰۱/۵-۲۰۰/۲) ۱۴۷	۰/۵۱۶
قندناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۴۰ (۱۱۹-۱۹۹)	۱۵۰ (۱۲۲-۲۰/۷)	۰/۶۷۶
انسولین (میلی یونیت بر لیتر)	۸/۶ (۶-۱۵/۲)	۹/۴ (۷/۷-۱۳/۵)	۰/۷۱۷
آدیپونکتین (میلی گرم بر لیتر)	۶/۶ (۵/۲-۹/۵)	۶/۶ (۴/۲-۹/۲)	۰/۵۱۲

برای مقایسه، متغیرهای با توزیع نرمال از آزمون تی مستقل و متغیرهای چوله از من‌ویتنی استفاده شد متغیرها با $p\text{-value} < 0/05$ قابل استناد است.

ارتباط معنی دار بین این پلی‌مورفیسم و مقاومت به انسولین وجود ندارد ($p=0/725$). بررسی هم‌بستگی آدیپونکتین با قند خون ناشتا و شاخص مقاومت به انسولین با استفاده از آزمون اسپیرمن نشان داد آدیپونکتین با شاخص مقاومت به انسولین ارتباط معنی دار و منفی دارد ($p < 0/01$ ، $r = -0/225$). به عبارت دیگر افزایش سطح آدیپونکتین موجب کاهش مقاومت به انسولین می‌شود.

تحلیل رگرسیونی برای ژنوتیپ‌ها در جدول ۴ نشان داد تفاوت معنی دار در فراوانی افراد با ژنوتیپ‌های GG, TG, TT، در دو گروه سالم و پره‌دیابتی/دیابتی وجود ندارد به عبارت دیگر ارتباط آماری معنی داری بین ژنوتیپ‌ها با بیماری دیابت وجود ندارد ($p=0/371$ ، $p=0/123$). بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم rs2241766 با مقاومت به انسولین (جدول ۵) نشان می‌دهد

جدول ۴: تحلیل رگرسیونی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2241766 با بیماری دیابت

ژنوتیپ rs2241766	بیمار	سال	P-value	OR (95%CI)
TT	۴۷(۶۴/۴)	۵۸(۷۶/۳)	۰/۱۱۲	۰/۵۶(۰/۲۷-۱/۱۴)
GG	۵(۶/۸)	۱(۱/۳)	۰/۱۲۳	۵/۵۱(۰/۶۳-۴۸/۳۹)
TG	۲۱(۲۸/۸)	۱۷(۲۲/۴)	۰/۳۷۱	۱/۴۰(۰/۶۷-۲/۹۴)
G	۳۱(۲۱/۲)	۱۹(۱۲/۵)	۰/۱۱۲	۱/۷۸(۰/۸۷-۳/۶۴)
T	۱۱۵(۷۸/۸)	۱۳۳(۸۷/۵)	۰/۴۳۸	۰/۵۶(۰/۱۳-۲/۴۳)

. با استفاده از رگرسیون لجستیک ارتباط بین خطر ابتلا به بیماری دیابت و هر یک از ژنوتیپ‌ها مورد بررسی قرار گرفت سطح معنی داری مقدار ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

جدول ۵: توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2241766 در گروه بندی HOMA-IR

Pvalue	GT	TT	
	۱۸ (۴۷/۳)	۵۱(۴۸/۵)	حساس به انسولین
	۱۰ (۲۶/۳)	۲۲(۲۱)	مقاوم به انسولین بینابینی
۰/۷۵۲	۱۰ (۲۶/۳)	۳۲(۳۰/۵)	مقاوم به انسولین

بحث

T2DM نشان داده شد در این مطالعات توزیع پلی مورفیسم rs2241766 ژن آدیپونکتین در بیماران T2DM بیشتر از گروه کنترل بود (۲۶)، حال آن که در جمعیت‌های فرانسه، ایتالیا (۲۲) و ایران (۲۸) مشابه نتایج ما هیچ ارتباطی بین این پلی مورفیسم و دیابت نوع ۲ مشاهده نشد (۲۶،۲۷) محققان آسیایی و اروپایی نتایج متناقضی در زمینه ارتباط ژنوتیپ‌های این پلی مورفیسم با بیماری دیابت گزارش کرده اند (۲۹). برخی محققان آلل G از پلی مورفیسم ژن $G > 45T +$ را یک عامل مستعد برای T2DM در جمعیت آسیا معرفی کردند حال آن که در جمعیت قفقازی بین T2DM و $G > 45T +$ ارتباطی مشاهده نشده است (۳۰). در مطالعه محمدزاده فراوانی ژنوتیپ TT در بیماران دیابتی چاق بیشتر بود (۱۵) حال آن که در مطالعه پیش رو، تحلیل رگرسیونی ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs2241766 نشان داد هیچ یک از ژنوتیپ‌ها در بیماری دیابت نقش ندارند. انسولین یک هورمون پپتیدی است که با تسهیل جذب گلوکز سلولی و تنظیم میزان متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین، میزان گلوکز خون طبیعی را حفظ می کند. هیپرانسولینمی هنگامی رخ می دهد که ترشح سلول های β پانکراس برای حفظ سطح قند خون در بافت عضلانی و بافت

در تحقیق حاضر ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم rs2241766 با سطح آدیپونکتین سرم، سن، نمایه توده بدنی، دور کمر، دور باسن انسولین و پروفایل لیپیدی مشاهده نشد. مطالعه در جمعیت فنلاند نیز مشابه نتایج ما بود (۲۰). در مطالعات متآنالیز ارتباط ژن آدیپونکتین و غلظت آن با دیابت نوع ۲ (۱۵) و سندرم متابولیک (۲۱،۲۲) تایید شده است. در مصر ارتباط پلی مورفیسم rs2241766 با سطح سرمی آدیپونکتین تائید شده است (۱۲). Fan و همکارانش ارتباط این پلی مورفیسم را با افزایش خطر فشار خون گزارش کردند (۵). اما در مطالعات انجام شده در جمعیت چین ارتباطی بین این پلی مورفیسم با سطح پلاسمائی آدیپونکتین و فشار خون (۲۰) و دیابت بارداری گزارش نشد (۲۳). فراوانی ژنوتیپ‌های TT,GG, TG پلی مورفیسم rs2241766 در جمعیت مصر بین گروه های کنترل و بیماران مبتلا به T2DM اختلاف معنی داری نشان داد (۱۲) محققان چینی نیز ارتباط این پلی مورفیسم را با دیابت (۲۴) و کبد چرب (۲۵) گزارش کردند، هم چنین در جمعیت های اروپا، اسپانیا، مصر، عراق (۲۶) و هند (۲۷) ارتباط پلی مورفیسم rs2241766 ژن آدیپونکتین با افزایش خطر

نتیجه گیری

پژوهش حاضر نشان می‌دهد بین آدیپونکتین و قند ناشتا و مقاومت به انسولین ارتباط منفی معنی دار وجود دارد، بنابراین به نظر می‌رسد آدیپونکتین هورمونی مناسب در افزایش حساسیت به انسولین در جمعیت ایران است. با توجه به نتایج، در جمعیت ما بین پلی‌مورفیسم rs 2241766 ژن آدیپونکتین با دیابت نوع ۲، مقاومت به انسولین، سطح آدیپونکتین، متغیرهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی ارتباطی وجود ندارد، لذا این پلی‌مورفیسم نمی‌تواند مارکری برای دیابت یا مقاومت به انسولین در جمعیت ما استفاده شود. پیشنهاد می‌شود بررسی دیگر پلی‌مورفیسم‌های ژن آدیپونکتین در جامعه آماری با تعداد بیشتر جهت روشن شدن دقیق نقش این ژن در دیابت و سایر بیماری‌های متابولیکی در جمعیت ایران انجام شود.

سپاسگزاری

مقاله حاضر برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد است و منابع مالی آن توسط دانشجو و دانشگاه آزاد اسلام‌شهر تامین شده است. مراتب سپاس و قدردانی خود را از تمامی افراد شرکت‌کننده در این تحقیق، استاد بزرگوار آقای دکتر مهدی هدایتی و آقای دکتر مهران زمانی‌زاده و دوستان عزیز که در پژوهشکده غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی ما را یاری رساندند اعلام می‌نمایم.

تعارض در منافع: وجود ندارد

چربی افزایش می‌یابد (۳۱). آدیپونکتین از طریق فسفوریلاسیون و فعال‌شدن پروتئین‌کیناز، هوموستازی گلوکز و لیپید را تنظیم می‌کند، بنابراین سطح آدیپونکتین بالا با کاهش خطر T2DM همراه است (۲۹). در تحقیق ما مشابه برخی گزارشات قبلی در جمعیت ایران ارتباط معنی‌دار بین آدیپونکتین و قند ناشتا و مقاومت به انسولین مشاهده شد ($p < 0.05$) (۱۰). برخی تحقیقات نشان داده است که پلی‌مورفیسم rs2241766 با مقاومت به انسولین، اختلال تحمل گلوکز و سطوح بالای لیپوپروتئین‌ها و کلسترول تام خون مرتبط است (۳۲) اما در مطالعه ما ارتباطی بین ژنوتیپ‌های GG، TT و TG پلی‌مورفیسم rs2241766 با مقاومت به انسولین مشاهده نشد. تفاوت در نتایج تحقیقات در جمعیت‌های مختلف را می‌توان به سن، جنسیت، تداخل پلی‌مورفیسم‌ها و ژن‌های دیگر و حجم گروه‌های مورد بررسی نسبت داد. از ویژگی منحصر بفرد این تحقیق انتخاب بیماران دیابتی بود که سابقه مصرف داروهای متابولیکی نداشتند. در این مطالعه بین این پلی‌مورفیسم با بیماری دیابت و مقاومت به انسولین و سایر پارامترهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی ارتباطی مشاهده نشد. با توجه به این موضوع که ارتباط یک پلی‌مورفیسم با بیماری ممکن است در جمعیت‌های مختلف به دلیل زمینه ژنتیکی و محیطی، متفاوت ظاهر کند، از این رو نتایج مشابه یا متفاوت قابل انتظار است. حجم کم نمونه از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود که علت آن تعداد محدود افراد بدون سابقه مصرف داروی متابولیکی است.

References:

- 1-Gorgani Firouzjaeei S. *The relationship between type 2 diabetes and obesity*. J Faculty of Paramedicine. Army of the Islamic Republic of Iran 2009; 4(2): 40-4. [Persian]
- 2-Azami M, Moslemirad M, Mansouri A, Khataee M, Sayehmiri K. *The Prevalence of Depression in Patients with Diabetes in Iran*. J Babol Univ Med Sci 2017; 19(4): 16-27. [Persian]
- 3-Mohammadshahi M, Zakerzadeh M, Zakerkish M, Zarei M, Saki A. *Effects of Sesamin on the Glycemic Index, Lipid Profile, and Serum*

- Malondialdehyde Level of Patients with Type II Diabetes.** JBUMS 2016; 18(6): 7-14. [Persian]
- 4-Eazadi M, Kazemzadeh, Y, Behboody L, Banaiefar A. **Determining the relationship between serum adiponectin and insulin resistance in type 2 diabetic patients.** JBUMS 2013; 20(4): 393-400. [Persian]
- 5-Fan W, Qu X, Li J, Wang X, Bai Y4, Cao Q2, et al. **Associations between polymorphisms of the ADIPOQ gene and hypertension risk: a systematic and meta-analysis.** Sci Rep 2016; 7: 41683.
- 6-Gable DR, Hurel SJ, Humphries SE. **Adiponectin and its gene variants as risk factors for insulin resistance, the metabolic syndrome and cardiovascular disease.** Atherosclerosis 2006; 188(2): 231-44.
- 7-Rezaie F, Nezhadali M, Hedayati M. **Association of adiponectin rs17300539 gene polymorphism with a nonalcoholic fatty liver disease in an Iranian population.** Feyz, J Kashan Uni Med Sci 2018; 22(4): 379-86.
- 8-Kahn SE. **The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes.** Diabetologia 2003; 46: 3-19.
- 9-Díez JJ, Iglesias P. **The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease.** Eur J Endocrinol 2003; 148(3): 293-300.
- 10- Fraga VG, Gomes KB. **Adiponectin gene polymorphisms: Association with childhood obesity.** J Pediatric Genet 2014; 3: 17-28.
- 11- Takhshid MA Haem Z and Aboualizadeh F. **The association of circulating adiponectin and + 45 T/G polymorphism of adiponectin gene with gestational diabetes mellitus in Iranian population.** J Diabet Metab Disord 2015; 14(30): 1-7.
- 12- Motavi T, Salman T, Shaker O, Abdelhamid A. **Association of polymorphism in adiponectin (+45 T/G) and leptin (-2548 G/A) genes with type 2 diabetes mellitus in male Egyptians.** Arch Med Sci 2015; 11(5): 937-44.
- 13- Ranjbar SH, Amoli MM, Sajadi M, Larijani B. **Genetic association analysis of the adiponectin polymorphisms in type 2 diabetes with and without complications.** Iran J Diabetes Lipid Disorders 2011; 10: 1-4.
- 14- Hasani-Ranjbar S, Tavakkoly Bazzaz J, Amiri P, Amoli M.M, Larijani B. **Investigation of the frequency of +45T/G polymorphism of adiponectin gene in type 2 diabetic patients in a Tehranian population.** Iranian J Diabet Lipid Disorders 2007; 6 (3): 215-18.
- 15- Khodaeian M, Enayati S, Tabatabaei-Malazy O, Amoli M. **Association between Genetic Variants and Diabetes Mellitus in Iranian Populations: A Systematic Review of Observational Studies.** Hindawi Publishing Corporation. J Diabetes Res 2015: 21 pages.
- 16- Sharma PK, Bhansail A, Sialy R, Malhotra S, Pandhi p. **Effects of pioglitazone and metformin on plasma adiponectin in newly detected type 2 diabetes mellitus.** Clin Endocrinol 2006; 65(6): 722-28.
- 17- Piveta VM, Bittencourt CS, Oliveira CSV, Saddi-Rosa P, Meira DM, Giuffrida FMA, et al. **Individuals with prediabetes identified by**

- HbA1c undergoing coronary angiography have worse cardiometabolic profile than those identified by fasting glucose.* Diabetol Metab Syndr 2014; 6: 138.
- 18- Rumi Y, Mohammad Amoli M, Hosni Ranjbar S, Ballaei P, Sajjadi MAI, Larijani B. *Investigation of the relationship between adiponectin (-11391G/A) polymorphism (-11391G/A) (+45 T/G) and waist circumference and type 1 diabetes in Iranian population.* Iran J Diabetes Lipid Disorders, August-September 2011; 1(6): 608-13.
- 19- Bahar A, Kashi Z, Sohrab M, Kosaryan M, Janbabai G. *Relationship between beta-globin gene carrier state and insulin resistance.* J Diabet Metabolic Disorder 2012; 11(22): 1-4.
- 20- Wu J, Xu G, Cai W, Huang Y, Xie N, Shen Y, et al. *The association of two polymorphism in adiponectin-encoding gene with hypertension risk and the changes of circulating adiponectin and blood pressure: A meta-analysis.* oncotarget 2017; 8(9): 14636-45.
- 21- Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Cokkinos DV. *Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome.* Postgrad Med J 2005; 81(956): 358-66.
- 22- Kim DW, Kim BS, Kwon HS, Kim CG, Lee HW, Choi WH, et al. *Atrophy of brown adipocytes in the adult mouse causes transformation into white adipocyte-like cells.* ExpMol Med 2003; 35 (6): 518-26.
- 23- Xu F, Zhang H, Qi H. *No association of adiponectin +45 T/G polymorphism with the risk of gestational diabetes mellitus: Evidence from a meta-analysis* 2016; 17(2): 1-6.
- 24- Li Y, Li X, Shi L, Yang M, Yang Y, Tao W, et al. *Association of Adiponectin SNP+45 and SNP+276 with Type 2 Diabetes in Han Chinese Populations: A Meta-Analysis of 26 Case-Control Studies.* PLoS ONE 2011; 6(5): e19686.
- 25- Du S, Lu L, Liu Y, Dong Q, Xuan S, Xin Y. *Association of Adiponectin Gene Polymorphisms With the Risk of Coronary Artery Disease in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Chinese Han Population.* Hepat Mon 2016; 16(7): 1-9.
- 26- Ali Norryaa A, Qaddoori AA. *Association of +45(T/G) polymorphism in the adiponectin gene with type 2 diabetes mellitus in Iraq patient international.* International journal of advanced biological research 2013; 3 (4):549-552.
- 27- Ashif CM, Balasubramanian T, Kumar P, Okais D. *A Review on Role of Cytokine Gene Polymorphisms in Type 2 Diabetes Mellitus.* Int J Pharm Sci Rev Res 2016; 39(2): 85-92.
- 28- Mohammadzadeh G, Zarghami N. *Associations between single-nucleotide polymorphisms of the adiponectin gene, serum adiponectin levels and increased risk of type 2 diabetes mellitus in Iranian obese individuals.* Scand J Clin Lab Invest 2009; 69(7): 764-71.
- 29- Yuan H, Sun L, Li X, Che F, Zhu X, Yang F, et al. *Association of Adiponectin Polymorphism with Metabolic Syndrome Risk and Adiponectin Level with Stroke Risk: A*

- Meta- Analysis.Scientific reports* 2016; 6:31945 .
- 30- Fan Y, Wang K, Xu S, Chen G, Di H, Cao M, et al. *Association between ADIPOQ +45T>G Polymorphism and Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 704-23.
- 31- Gisela Wilcox. *Insulin and Insulin Resistance*. *Clin Biochem Rev* 2005; 26: 19-39.
- 32- Bilovol OM, Bobronnikova LR. *Peculiarities of pathogenesis of comorbid arterial hypertension and diabetes mellitus 2 type*. *Empirical and applied research Paradigmata poznání* 2017:56-61.

Association of adiponectin gene rs2241766 polymorphism with serum adiponectin level, Insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in an Iranian population

Nasrin Hajilo¹, Masoumeh Nezhadali^{*1}, Laleh Ghanei²

Original Article

Introduction: Adiponectin is a peptide secreted from fat cells that plays an important role in the development of insulin resistance and type 2 diabetes. A number of single nucleotide polymorphisms in the adiponectin gene are associated with lower adiponectin expression and T2DM. The aim of this study was to determine the frequency of rs 2241766 polymorphism in adiponectin gene and its relation with adiponectin level, insulin resistance, type 2 diabetes and in pre diabetes/diabetes and healthy individuals.

Methods: This study was performed in a case-control method. 73 prediabetic/diabetic patients with fasting blood sugar >100 mg/dl was selected as the case group without drug history, and 76 individuals with FBS 70-100 mg/dl as the control group. Biochemical and anthropometric variables were measured by standard methods and the levels of adiponectin and insulin hormone were measured using commercially available human ELISA kit. The determination of genotyping was done using PCR-RFLP method. Data were analyzed by SPSS software version 19.

Results: Regression analysis showed that polymorphism rs2241766 in the adiponectin gene has no significant relation with diabetes and insulin resistance. No significant difference was found between TT and TG carriers for any of the variables in the two groups (pre diabetes/diabetes and Non-diabetic). A negative correlation was seen between adiponectin and insulin resistance ($r=-0.225$, $p<0/01$).

Conclusion: According to this study, adiponectin gene polymorphism rs2241766 is not associated with adiponectin levels, insulin resistance and type 2 diabetes, but there was a correlation between adiponectin and insulin resistance.

Keywords: Polymorphism, Diabetes Type 2, Adiponectin, Insulin resistance, rs2241766

Citation: Hajilo N, Nezhadali M², Ghanei L. Association of adiponectin gene rs2241766 polymorphism with serum adiponectin level, Insulin resistance and type 2 diabetes mellitus in an Iranian population. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2019; 27(2): 1216-27.

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

²Faculty of Medical, Tehran Medical Branch, Islamic Azad University, Tehran,

*Corresponding author: Tel: 09123875493, email: ma_nejadali@yahoo.com