

Investigation of the Association between *GFPT2* Gene Polymorphism and Risk of Type 2 Diabetes

Soyar Sari*

Department of Molecular & Cellular Sciences, Faculty of Advanced Sciences & Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding Author:
Soyar Sari, Department of Molecular & Cellular Sciences, Faculty of Advanced Sciences & Technology, Pharmaceutical Sciences Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Email:
sari.s@iaups.ac.ir

Received: 13 Sep, 2016

Accepted: 26 Oct, 2016

Abstract

Background and Objectives: Type 2 diabetes is one of the most common metabolic diseases and a complex disorder with a strong genetic predisposition, which significantly affects mortality. A series of factors, such as environmental factors and genetic background are involved in the disease. Recently, a new gene associated with type 2 diabetes has been discovered, which is called *GFPT2* and is located on the long arm of chromosome 5. Various mutations can alter *GFPT2* function and provide risk for diabetes. In this study, the association of *GFPT2* gene polymorphism and the risk of type 2 diabetes, was investigated.

Methods: In this case-control study, 150 type 2 diabetic patients and 150 healthy individuals, were randomly selected from the research population. *GFPT2* gene polymorphism was investigated using PCR-RFLP method. Chi-square test was used to determine the balance or imbalance in the two studied groups, the association between polymorphism and incidence of type 2 diabetes.

Results: In this study, a significant difference was observed in the genotype distribution of *GFPT2* gene in patients with type 2 diabetes in comparison with the healthy subjects [$p= 0.041$, (odds ratio: 2.81 (95% CI: 1.02-5.09)].

Conclusion: The results of the present study indicated that there is evidence that there is an association between genetic variant of *GFPT2* gene and the incidence of type 2 diabetes. Therefore, further studies are necessary to evaluate the importance of genetic variant in different populations.

Keywords: Human *GFPT2* protein; Polymorphism, Genetic; DNA restriction enzymes; Diabetes mellitus.

بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن *GFPT2* با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲

سویار ساری*

چکیده

زمینه و هدف: دیابت نوع ۲، یکی از شایع ترین بیماری های متابولیک و یک اختلال پیچیده با زمینه ژنتیکی قوی است که به طور مؤثری روی مرگ و میر تأثیر می گذارد. مجموعه ای از فاکتورها مانند عوامل محیطی و زمینه ژنتیکی در بروز بیماری دخیل هستند. اخیراً یک ژن جدید مرتبط با دیابت نوع ۲ کشف شده است که *GFPT2* نام گرفته و بر روی بازوی بلند کروموزم شماره ۵ قرار دارد. موتاسیون های زیادی می توانند باعث تغییر عملکرد این ژن شوند و زمینه را برای ایجاد بیماری دیابت فراهم کنند. در این مطالعه، ارتباط چندشکلی ژن *GFPT2* با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ بررسی گردید.

روش بررسی: در این مطالعه مورد - شاهدی، ۱۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ و ۱۵۰ فرد سالم، به طور تصادفی از جامعه پژوهش انتخاب شدند. پلی مورفیسم ژن *GFPT2* با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفت. از آزمون مربع کای دو جهت تعیین وجود تعادل یا عدم تعادل در ۲ گروه مورد مطالعه، وجود ارتباط بین پلی مورفیسم و وقوع بیماری دیابت نوع ۲ استفاده شد.

یافته ها: در این مطالعه، تفاوت معنی داری در توزیع ژنوتیپی ژن *GFPT2* بیماران دیابتی نوع ۲ در مقایسه با افراد سالم $\{p=0/041$ ، نسبت شانس $2/81$ (۵/۰۹-۱/۰۲ CI: ۹۵٪) مشاهده گردید. **نتیجه گیری:** نتایج تحقیق حاضر نشان داد شواهدی مبنی بر ارتباط واریانت ژنتیکی ژن *GFPT2* و بروز ابتلا به دیابت نوع ۲ وجود دارد. بنابراین، مطالعات بیشتر در زمینه ارزیابی اهمیت واریانت ژنتیکی مطالعه شده در جمعیت های مختلف ضروری است.

کلید واژه ها: پروتئین جی اف پی تی ۲ انسانی؛ پلی مورفیسم، ژنتیک؛ آنزیم های محدود کننده دی ان آ؛ دیابت ملیتوس.

گروه آموزشی علوم سلولی و مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

سویار ساری، گروه آموزشی علوم سلولی مولکولی، دانشکده علوم و فناوری های نوین، واحد علوم دارویی، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

sari.s@iaups.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۶/۲۲

تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۴

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Sari S. Investigation of the association between *GFPT2* gene polymorphism and risk of type 2 diabetes.

Qom Univ Med Sci J 2018;11(10):64-69. [Full Text in Persian]

مقدمه

دیابت نوع ۲، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های متابولیک و یک اختلال پیچیده با زمینه ژنتیکی قوی است که به‌طور مؤثری روی مرگ‌ومیر و ایجاد دیگر بیماری‌ها تأثیرگذار است (۴-۱). مجموعه‌ای از فاکتورها مانند عوامل محیطی و زمینه ژنتیکی، در ابتلا و بروز بیماری دخیل هستند (۷-۵). تاکنون دلیل قطعی پیدایش این بیماری مشخص نشده و نرخ شیوع آن نیز رو به افزایش است. با توجه به طبقه‌بندی کشورها طبق گسترش جغرافیایی، شیوع بیماری در مناطق آمریکایی و شرق میانی، بیش از حد بالا بوده است. در دهه اخیر، به‌طور نگران‌کننده‌ای شیوع این بیماری در ایران، افزایش یافته است (۸-۱۱). از لحاظ ژنتیکی، پلی‌مورفیسم ژن‌های زیادی در ارتباط با این بیماری شناخته شده‌اند. اخیراً با مطالعات وابستگی گسترده ژنومی، یک ژن جدید مرتبط با دیابت نوع ۲ کشف شده است (۱۵-۱۲). این ژن که *GFPT2* نام دارد و بر روی بازوی بلند کروموزم شماره ۵ قرار گرفته، اولین بار در موش تشخیص داده شد. اما تاکنون مطالعات اندکی بر روی پلی‌مورفیسم‌های ژن *GFPT2* و ارتباط آن با بیماری دیابت نوع ۲ انجام شده است. ژن *GFPT2*، آنزیم گلوتامین: فروکتوز ۶- فسفات آمینو ترانسفراز را کد می‌کند و جهش در این ژن منجر به کاهش یا فقدان عملکرد این آنزیم در مسیر هگزوز آمین شده که خود باعث افزایش گلوکز خون و مقاومت به انسولین می‌شود (۱۶). اهمیت این بررسی و توجه به پلی‌مورفیسم ژن *GFPT2* از یک سو (معطوف به نقش مهم آن در ایجاد بیماری‌های متابولیکی و ارتباط آن با بیماری دیابت نوع ۲) و از سوی دیگر، به علت عدم وجود مطالعاتی در خصوص ارتباط این پلی‌مورفیسم با بیماری دیابت نوع ۲ در کشور، این مطالعه با هدف بررسی همراهی چند شکلی ژن *GFPT2* با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ انجام گرفت.

روش بررسی

این مطالعه به‌صورت مورد - شاهدهی بر روی ۱۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ و ۱۵۰ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل انجام شد (قابل ذکر است انتخاب این تعداد نمونه، براساس امکانات و دسترسی محدود به نمونه‌ها بود).

افراد دیابتی از مراجعه‌کنندگان به درمانگاه‌های سراسر شهر تهران بودند و مصاحبه در بخش پذیرش به‌صورت خصوصی صورت گرفت. به افراد شرکت‌کننده در مطالعه (جهت بررسی بیوشیمیایی و ژنتیکی)، آگاهی کافی داده شد و رضایت از انجام تحقیق اخذ گردید.

گروه کنترل از بین افراد سالم که معیارهای ابتلا به دیابت و سابقه فامیلی دیابت در اقوام درجه اول و دوم نداشتند، به‌طور تصادفی انتخاب شدند. ابتلا به دیابت با معیارهای سازمان جهانی بهداشت (WHO)، به‌صورت قند خون ناشتا (FBS) بالاتر از ۱۲۶ میلی‌گرم بردسی‌لیتر یا قند ۲ ساعته پس از مصرف گلوکز (OGTT) بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بردسی‌لیتر و یا مصرف داروی ضد دیابت به تجویز پزشک تعریف شده است (۱۷). از هر یک از افراد تحت مطالعه به میزان ۵ میلی‌لیتر خون محیطی گرفته شد، سپس مقدار تری‌گلیسرید (TG)، قند خون ناشتا (FBS)، هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) و کلسترول سرم با روش‌های استاندارد آزمایشگاهی اندازه‌گیری شد. بررسی پلی‌مورفیسم ژن *GFPT2* با روش PCR-RFLP صورت گرفت. برای هر فرد بیمار و سالم، DNA ژنومی با استفاده از روش فنل - کلروفرم استخراج گردید (۱۸). پلی‌مورفیسم ژن *GFPT2* به‌وسیله PCR و هضم آنزیم محدودگر Tsp5091 مشخص شد.

واکنش PCR با استفاده از دستگاه PCR (مدل Hamburg, Germany Eppendorf, Master cycler pro) در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی DNA الگو، پرایمر - پیشرو 3'-GGCTTTCTGTAGCCGTGGT-5' و پرایمر-پسرو 3'-TACTATGGGCAAGGAGCAG-5' هر کدام 20pmol، dNTP هر کدام 200µM و آنزیم Taq پلیمرز ۱ واحد (سیناژن) انجام شد.

برنامه واکنش PCR شامل: ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه (جهت pre-denaturation به‌صورت ۳۵ سیکل ۹۴ درجه به مدت ۳۵ ثانیه به‌منظور denaturation بود.)، ۵۸ درجه به مدت ۳۰ ثانیه (جهت انجام Annealing) و برای طولیل شدن در دمای ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه (برای انجام Extension)، در نهایت پس از اتمام ۳۵ سیکل، مخلوط واکنش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۷۲ درجه باقی ماند تا عمل طولیل شدن نهایی انجام شد (جهت Final elongation).

توزیع ژنوتیپ‌ها و الل‌های مختلف در هر دو گروه سالم و بیمار با هم مقایسه شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه، گروه بیمار و سالم از نظر جنسیت، ۶۳٪ زن و مابقی مرد بودند (به‌طور تصادفی). میانگین سنی افراد بیمار، ۶۱/۵±۴/۲ سال و میانگین سنی افراد سالم، ۵۹±۲/۱ سال بود. در افراد بیمار کمترین زمان مدت ابتلا یک‌سال و بیشترین زمان ۳۰ سال گزارش شد. اکثر بیماران و افراد سالم متأهل و سطح تحصیلات آنها از بیسواد تا دکتری بود. در این مطالعه، ارتباط پلی مورفیسم ژن GFPT2 با خطر بروز دیابت نوع ۲ در ۱۵۰ بیمار مورد بررسی قرار گرفت. مشخصات بیوشیمیایی و بالینی افراد بیمار و سالم در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

۵ میکرولیتر از محصول PCR به‌وسیله آنزیم محدودگر Tsp5091 (فرمتاز)، در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. محصول هضم شده پس از الکتروفورز، روی ژل آگارز ۳٪ و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید زیر نور ماوراءبنفش مشاهده گردید (اگر نمونه‌ها در ژل آگارز فقط حاوی قطعات ۲۱۸ و ۱۴۳bp باشند، نشانه وجود ژنوتیپ TT و اگر حاوی قطعات ۲۱۸، ۱۴۳ و ۳۶۱bp باشند، نشانه وجود ژنوتیپ CT و در صورتی که حاوی قطعه ۳۶۱bp باشند، نشانه وجود ژنوتیپ CC می‌باشد).

متغیرهای کمی به‌صورت میانگین ± انحراف معیار و متغیرهای کیفی براساس درصد بیان شدند. داده‌ها با استفاده از آزمون تی‌تست (جهت مقایسه متغیرها بین گروه سالم و بیمار)، آزمون کای‌دو (جهت فراوانی آلل با شمارش و محاسبه نسبت آنها) و قرارگیری جامعه در تعادل هاردی - واینبرگ تحلیل شدند.

جدول شماره ۱: توزیع متغیرهای بالینی و بیوشیمیایی در بیماران دیابتی و افراد سالم

شاخص	گروه‌ها	دیابتی	سالم
قند خون ناشتا (میلی گرم بردسی لیتر)	۲۷۴±۵۷	۶۵±۱۵°	
کلسترول (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۲۳±۵۴	۱۵۲/۳±۳۱	
تری گلیسرید (میلی گرم بردسی لیتر)	۲۵۳±۱۹	۱۶۴±۴۳°	
هموگلوبین گلیکوزیله (درصد)	۵/۲±۱/۸	۶±۲/۴°	

مقادیر بر حسب میانگین ± انحراف معیار بیان شده است.

ژنوتیپ TT در بیماران مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه کنترل بود ($p=0/041$)، نسبت شانس برابر ۲/۸۱ (۹۵٪ CI: ۱/۰۲-۵/۰۹). تفاوت معنی‌داری بین جنسیت بیماران در مقایسه با گروه کنترل (زن یا مرد بودن) با فراوانی ژنوتیپ TT مشاهده نگردید. همچنین بین قند خون ناشتا و HbA1c در بیماران با ژنوتیپ‌های CC و TC، اختلاف معنی‌داری دیده نشد (۰/۵، ۰/۷، ۰/۲، ۰/۱)، ولی در بیماران با ژنوتیپ TT، اختلاف معنی‌دار بود (۰/۰۰۱، ۰/۰۰۳). درصد شیوع آللی C و T در افراد سالم و مبتلا مورد بررسی در جدول شماره ۲ آورده شده است.

گروه سالم و دیابتی از نظر سنی در یک رده قرار داشتند و اختلاف فراوانی نمونه‌های زن و مرد بین دو گروه معنی‌دار نبود. میانگین مقادیر FBS ($p<0/004$)، TG ($p<0/002$) و HbA1c ($p<0/04$) در بیماران دیابتی به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد سالم بود. اختلاف معنی‌داری در میزان کلسترول بین دو گروه مشاهده نشد و هر دو گروه کنترل و بیمار از نظر شرایط تعادل هاردی - واینبرگ با درجه آزادی یک، در حال تعادل بودند. فراوانی ژنوتیپ‌ها در هر دو گروه، دارای تعادل هاردی - واینبرگ بود. نتایج حاصل از درصد شیوع ژنوتیپ‌های C/T C/C و T/T در افراد سالم و بیمار، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در

جدول شماره ۲: فراوانی آللی چندشکلی ژن GFPT2 در جمعیت مورد مطالعه

الل‌ها	بیماران		شاهد	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد
الل C	۱۰۲	۳۴	۱۴۴	۴۸
الل T	۱۹۸	۶۶	۱۵۶	۵۲

فراوانی آللی در هر دو گروه، دارای تعادل هاردی - واینبرگ
 بود. فراوانی ژنوتیپی گروه‌های مورد مطالعه، در جدول شماره ۳ ارائه شده است.

جدول شماره ۳: فراوانی ژنوتیپی چند شکلی ژن GFPT2 در جمعیت مورد مطالعه

pvalue	OR(95%CI)	درصد	بیماران		گروه
			تعداد	درصد	ژنوتیپ
۰/۵۹	۲/۰۳(۱/۹۸-۴/۹۳)	۲۷/۳۳	۴۱	۱۶/۶۶	C/C
۰/۳۴	۲/۱۲(۱/۵۷-۴/۰۲)	۴۱/۳۳	۶۲	۳۴/۶۶	C/T
۰/۰۴۱	۲/۸۱(۱/۰۲-۵/۰۹)	۳۱/۳۳	۴۷	۴۸/۶۶	T/T

بر اساس آزمون تی تست، متغیرهای دارای اختلاف معنی دار $p < 0/05$ با علامت * مشخص شده‌اند.

Zhang و همکاران در آفریقا (سال ۲۰۰۴) با بررسی ارتباط پلی مورفیسم ژن GFPT2 با ابتلا به نفروپاتی دیابت، نشان دادند افراد با ژنوتیپ TT، در معرض خطر ابتلا به نفروپاتی دیابت هستند (۱۶). این مطالعه گزارشی برای قبول و یا رد ارتباط بین پلی مورفیسم ژن GFPT2 و خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ بود.

در سایر متغیرها بین گروه کنترل و دیابتی، اختلاف معنی داری در $p < 0/05$ مشاهده نشد.

بحث

ژن GFPT2، آنزیم گلوتامین: فروکتوز، ۶- فسفات آمینو ترانسفراز را کد می‌کند. مشخص شده است جهش در این ژن باعث کاهش یا فقدان عملکرد این آنزیم در مسیر هگوز آمین می‌گردد که این مسئله خود باعث افزایش گلوکز خون و دیابت می‌شود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد پلی مورفیسم ژن GFPT2 با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ همراه است. نتایج مطالعه حاضر، نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در فراوانی ژنوتیپ TT در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با گروه کنترل بود. ارتباط چندشکلی‌های ژن GFPT2 و بیماری دیابت نوع ۲ (سال ۲۰۱۰) در هند مورد بررسی قرار گرفت. در مطالعه، Pushplata و همکاران در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ (دارای ژنوتیپ TT)، شیوع بالاتری نسبت به زنان سالم این جمعیت گزارش شد که در نتیجه نشان داد چندشکلی‌های مذکور با افزایش خطر بروز دیابت نوع ۲ ارتباط دارند (۱۹).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد فراوانی ژنوتیپ TT ژن GFPT2 در جمعیت مبتلا به دیابت نوع ۲ و در نتیجه ارتباط پلی مورفیسم ژن GFPT2، با افزایش خطر بروز ابتلا به دیابت نوع ۲ همراه است. تأیید اهمیت واریانت ژنتیکی مطالعه‌شده، نیازمند تحقیقات بیشتر در سایر جوامع می‌باشد.

تشریح و قدردانی

مطالعه حاضر نتیجه طرح تحقیقاتی یا پایان‌نامه‌ای نبوده و حاصل حمایت مالی نویسنده می‌باشد. بدین وسیله از همکاری تمامی بیماران و افراد سالم داوطلب شرکت‌کننده در این مطالعه به دلیل همکاری‌های لازم قدردانی می‌گردد.

References:

1. Rashmi B, Leif G. Genetics of type 2 diabetes—pitfalls and possibilities. *Genes (Basel)* 2015;6(1):87–123.
2. Xue Sun, Weihui Yu, Cheng Hu. Genetics of type 2 diabetes: Insights into the pathogenesis and its clinical application. *Bio Med Res Int*;2014(2014):1-16.
3. Chowdhury R, Narayan KM, Zabetian A, Raj S, Tabassum R. Genetic studies of type 2 diabetes in South Asians: A systematic overview. *Curr Diabets Rev* 2014;10(4):258-74.
4. Shu XO, Long J, Cai Q, Qi L, Xiang YB, Cho YS, et al. Identification of new genetic risk variants for type 2 diabetes. *PLoS Genet* 2010;6(9):e1001127.
5. Voight BF, Scott LJ, Steinthorsdottir V, Morris AP, Dina C, Welch RP, et al. Twelve type 2 diabetes susceptibility loci identified through large-scale association analysis. *Nat Genet* 2010;42(7):579-89.
6. Nolan C, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations from pathophysiology to prevention and management. *Lancet* 2011;378(9786):169-81.
7. Saini V. Molecular mechanisms of insulin resistance in type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes* 2010;1(3):68-75.
8. DeFronzo R, Eldor R, Ghani M. Pathophysiologic approach to therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2013;36(Suppl 2):S127–S138.
9. Leturque A, Brotlaroche E, Legall M. GLUT2 mutations translocation and receptor function in diet sugar managing. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009;296(5):E985-92.
10. Bao W, Hu FB, Rong S, Rong Y, Bowers K, Schisterman EF, et al. Predicting risk of type 2 diabetes mellitus with genetic risk models on the basis of established genome-wide association markers a systematic review. *Am J Epidemiol* 2013;178(8):1197-207.
11. Henquin J. Regulation of insulin secretion a matter of phase control and amplitude modulation. *Diabetologia* 2009;52(5):739-51.
12. Pagliuca F, Millman J, Gurtler M, Segel M, Dervort A, Hyojeryu J, et al. Generation of functional human pancreatic B cells invitro. *Cell* 2014;159(2):428-39.
13. Saaristo T, Moilanen L, Korpi.E, Vanhala M, Saltevo J, Niskanen L, et al. Life style intervention for prevention of type 2 diabetes in primary health care. *Diabetes Care* 2010;33(10):2146-51.
14. Tallapragada D, Bhaskar S, G Chandak. New insights from monogenic diabetes for “common” type 2 diabetes. *Front Genet* 2015;6:251.
15. Scott RA, Fall T, Pasko D, Barker A, Sharp SJ, Arriola L, et al. Common genetic variants highlight the role of insulin resistance and body fat distribution in type 2 diabetes, independently of obesity. *Diabetes* 2014;63(12):4378-87.
16. Zhang H, Jia Y, Cooper J, Hale T, Zhang Z, ElbeinL S. Common Variants in Glutamine: Fructose-6-Phosphate Amidotransferase 2 (GFPT2) gene are associated with Type 2 diabetes, Diabetic nephropathy, and increased GFPT2 mRNA levels. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89(2):748-55.
17. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1 diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15(7):539-53.
18. Ghayori B, Rashki A, Motaleb G, Dahmardei M. Association of PINK1 gene Polymorphism Ala340Thr with Type 2 diabetes in Sistan and Baluchistan province. *J Ilam Univ Med Sci* 2015;23(1):127-33.[Full Text in Persian]
19. Prasad P, Tiwari AK, Kumar KM, Ammini AC, Gupta A, Gupta R, et al. Association analysis of ADPRT1, AKR1B1, RAGE, GFPT2 and PAI-1 gene polymorphisms with chronic renal insufficiency among Asian Indians with type-2 diabetes. *BMC Med Genet* 2010;11:52.