

Original Article

Association of Adiponectin rs1501299 Gene Polymorphism with Adiponectin Levels and Type 2 Diabetes in an Iranian Population

Samane Saleh¹ , Masoumeh Nejadali^{1*} , Mehdi Hedayati² 

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

²Cellular & Molecular
Endocrine Research Center,
Research Institute for
Endocrine Sciences, Shahid
Beheshti University of
Medical Sciences, Tehran,
Iran.

***Corresponding Author:**
Masoumeh Nejadali;
Department of Biology,
Islamshahr Branch, Islamic
Azad University, Islamshahr,
Iran.

Email:
ma_nejadali@iiu.ac.ir

Received: 3 Sep, 2018
Accepted: 5 Feb, 2019

Abstract

Background and Objectives: Adiponectin is an adipokine, which is abundantly expressed in adipose tissue and has a potent roles in insulin sensitivity. This study aimed to test the association of single nucleotide polymorphism of rs1501299 of the adiponectin gene with adiponectin levels and type 2 diabetes.

Methods: This case-control study was conducted on 80 diabetic patients with fasting blood glucose (FBG) more than 100mg/dl and 80 individuals with FBG of 70-100mg/dl as control group. The genotyping determination was performed by PCR-RFLP method. Biochemical and anthropometric variables were measured by standard methods, and the levels of adiponectin and insulin, were measured using a human ELISA kit. Data were analyzed using independent t-, Mann-Whitney, Chi-square, and Kolmogorov Smirnov tests and logistic regression model.

Results: In this study, there was no significant difference between TT and GT carriers in any of the clinical and anthropometric variables in both groups. Also, the adiponectin rs1501299 gene polymorphism had no relation to adiponectin level ($p < 0.05$). The genotypes of rs1501299 had association with T₂DM. The T allele showed protective effects against type 2 diabetes (OR: 0.47, 95% CI: 0.25-0.88, $p = 0.018$). The Frequency of GG genotype was higher in diabetic patients compared to the control group (OR=2.14, 95% CI=1.15-4.03, $p = 0.018$).

Conclusion: The present study results revealed that there is an association between adiponectin rs1501299 gene polymorphism and type 2 diabetes. This polymorphism in the adiponectin gene has no relation to adiponectin levels.

Keywords: Adiponectin; Type 2 diabetes; Single nucleotide polymorphisms.

DOI: 10.29252/qums.13.2.39

ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با سطح آدیپونکتین و دیابت نوع ۲ در یک جمعیت ایرانی

سمانه صالح^۱، معصومه نژادعلی^{۱*}، مهدی هدایتی^۲

چکیده

زمینه و هدف: آدیپونکتین یک آدیپوکین است که به مقدار زیادی در بافت چربی بیان می شود و نقش مهمی در حساسیت به انسولین دارد. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با سطح آدیپونکتین و دیابت نوع ۲ صورت گرفت.

روش بررسی: این مطالعه مورد - شاهده بر روی ۸۰ بیمار مبتلا به قند خون ناشتا (بالا تر از ۱۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر) و ۸۰ فرد با قند خون ناشتا (۱۰۰-۷۰ میلی گرم بر دسی لیتر) به عنوان گروه شاهد انجام شد. تعیین ژنوتیپ با روش PCR-RFLP صورت گرفت. متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی با روش های استاندارد اندازه گیری شدند و سطوح آدیپونکتین و انسولین با استفاده از کیت ELISA تعیین گردید. داده ها به کمک آزمون های تی مستقل، من ویتنی، کای دو، کولموگروف اسمیرونف و مدل رگرسیون لجستیک تجزیه و تحلیل شدند.

یافته ها: در این مطالعه، اختلاف معنی داری بین حاملین TT و GT در هیچ یک از متغیرهای بالینی و تن سنجی در دو گروه مشاهده نشد. همچنین پلی مورفیسم rs1501299 در ژن آدیپونکتین، ارتباطی با سطح آدیپونکتین نداشت ($p < 0.05$). ژنوتیپ های rs15012993 با T2DM مرتبط بودند. آلل T اثرات محافظتی برای دیابت نوع ۲ را نشان داد

(OR: ۰/۴۷، CI: ۰/۰-۸۸/۲۵، $p: ۰/۰۱۸$). فراوانی ژنوتیپ GG در بیماران دیابتی بیشتر از گروه کنترل بود (OR: ۲/۱۴، CI: ۱/۴-۱۵/۰۳، $p: ۰/۰۱۸$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد بین پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین و دیابت نوع ۲ ارتباط وجود دارد که این پلی مورفیسم در ژن آدیپونکتین، ارتباطی با سطح آدیپونکتین ندارد.

کلیدواژه ها: آدیپونکتین؛ دیابت ملیتوس نوع ۲؛ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی.

^۱گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

^۲مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون ریز، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

معصومه نژادعلی؛ گروه زیست شناسی، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اسلامشهر، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:

ma_nejadali@iaau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۶/۱۲

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۱/۱۶

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Saleh S, Nejadali M, Hedayati M. Association of adiponectin rs1501299 Gene polymorphism with adiponectin levels and Type 2 diabetes in an Iranian population.

Qom Univ Med Sci J 2019;13(2):39-48. [Full Text in Persian]

مقدمه

دیابت نوع ۲، شایع ترین نوع دیابت است که ۹۵-۹۰٪ از بیماران دیابتی را شامل می شود. کاهش فعالیت بدنی (۱) و عوامل ژنتیکی از علل مؤثر در ایجاد دیابت هستند (۲). در سال ۲۰۱۵ تعداد افراد مبتلا به دیابت، ۴۱۵ میلیون نفر اعلام شد که براساس پیش بینی فدراسیون بین المللی دیابت در سال ۲۰۴۰ به ۶۴۲ میلیون نفر خواهد رسید (۳). شیوع دیابت در ایران بالا بوده و حدود ۷/۷٪ گزارش شده است (۴). امروزه، پره دیابت نیز به موازات با دیابت در حال افزایش است (۵). آدیپونکتین سیتوکین ترشح شده از بافت چربی موجب افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب، فعالیت انسولین و جذب گلوکز در بافت های محیطی می شود و با مقاومت به انسولین، چاقی، دیابت نوع ۲، بیماری های قلبی - عروقی و سندرم متابولیک ارتباط دارد (۶، ۷). آدیپونکتین حاوی ۲۴۴ اسید آمینه و دو گیرنده است (۸). هردو گیرنده، فعالیت پروتئین کیناز وابسته به آدنوزین منوفسفات و $PPRA\alpha$ را افزایش داده و در پی آن اکسیداسیون اسیدهای چرب و جذب گلوکز را القا می کنند (۹). گیرنده های آدیپونکتین در طیف وسیعی از واکنش های متابولیکی؛ از جمله مهار گلوکونوژنز، جذب گلوکز و اکسیداسیون اسید چرب شرکت دارند (۱۰). ژن آدیپونکتین، بر روی کروموزوم ۳ قرار دارد و شامل ۱۳ گزن و ۲ اینترون است (۶، ۸). شواهد نشان می دهند پلی مورفیسم های تک نوکلئوتید ژن آدیپونکتین با سطوح آدیپونکتین ارتباط دارند (۸). همچنین در مطالعات متعدد، ارتباط این ژن با سرطان (۱۱، ۱۲)، دیابت نوع ۲ و سندرم متابولیک در بسیاری از کشورها مانند ژاپن، ایالات متحده آمریکا، قفقازی های فرانسه، ایتالیا (۱۳) و افراد غیر آسیایی نشان داده شده است (۱۴)، اما مکانیسم این ارتباط ها هنوز مشخص نیست (۱۵). یکی از پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی در ژن آدیپونکتین پلی مورفیسم rs1501299 در اینترون ۲، ژن آدیپونکتین است (۱۶). ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با خطر توسعه T2D (۱۳) و متغیرهای وابسته به چاقی در برخی از جوامع بررسی شده که در این مورد گزارش های متناقضی وجود دارد (۱۷). این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با سطح سرمی آدیپونکتین و خطر ابتلا به دیابت در یک جمعیت مبتلا به

پره دیابت/دیابت ایرانی (بدون سابقه مصرف داروی متابولیکی) انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه به روش مورد - شاهدهی بر روی افراد مراجعه کننده به بیمارستان های بوعلی و پارس (۸۰ فرد مبتلا به پره دیابت/دیابت با قند بالای ۱۰۰ میلی گرم بردسی لیتر و ۸۰ فرد سالم با قند ۷۰-۱۰۰ میلی گرم بردسی لیتر) در ماه های آذر سال ۱۳۹۵ تا شهریور سال ۱۳۹۶ انجام شد. براساس فرمول برآورد حجم نمونه و نرم افزار MedCalc، با در نظر گرفتن خطای $\alpha=0.05$ ، توان ۸۰٪ و خطای $\beta=0.02$ ، تعداد ۸۰ نفر در هر گروه محاسبه گردید. جمعیت مورد بررسی را افراد مبتلا به پره دیابت با داشتن قندخون ناشتا بین ۱۰۰-۱۲۵ میلی گرم بردسی لیتر و افراد دیابتی دارای قندخون ناشتا ۱۲۶ میلی گرم بردسی لیتر و بالاتر تشکیل می دادند (۱۸). با توجه به اینکه داروهای ضد دیابت، سطح هورمون آدیپونکتین را افزایش می دهد (۱۹)؛ لذا شرط ورود به مطالعه افراد پره دیابت/دیابت، داشتن قند بالای ۱۰۰ میلی گرم بردسی لیتر و عدم سابقه مصرف داروی ضد دیابت بود که این مهم از ویژگی های منحصر به فرد این مطالعه محسوب می شد. با ورود افراد بدون سابقه مصرف داروی متابولیکی، اثر عامل مخدوش کننده دارو حذف گردید.

معیارهای خروج از مطالعه شامل: سابقه مصرف داروی متابولیکی، مصرف الکل، مصرف مواد مخدر، بیماری حاد، حاملگی، بیماری کلیوی، بیماری های کبد، بیماری قلبی، سرطان، بیماری های ایمنی، عفونت و فشارخون بالا و سایر بیماری ها بود. در این مطالعه، حداقل سن افراد ۱۲ و حداکثر ۸۱ سال برآورد شد. این مطالعه براساس تفاهم نامه هلسینکی انجام گرفت و با کد اخلاق IR.IAU.TMU.REC.1396.271، در دانشکده پزشکی دانشگاه آزاد تهران به تصویب رسید.

بعد از اخذ رضایت از شرکت کنندگان، ۱۰ سی سی نمونه خون محیطی گرفته شد، سپس ۵ سی سی از نمونه مذکور در لوله حاوی ضد انعقاد EDTA (به میزان ۳ میلی گرم بر میلی لیتر) و باقیمانده آن در لوله ای فاقد ضد انعقاد ریخته شد. بعد از لخته شدن خون در لوله فاقد ضد انعقاد، سرم به کمک سانتریفوژ (۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ rpm) جدا گردید.

محلول مسترمیکس حاوی تک پلیمرز، dNTP و $MgCl_2$ از شرکت پیشگام تهیه گردید، سپس میکروتیوب به دستگاه نرمال سایکلر Bio Rad انتقال داده شد و دستگاه نرمال سایکلر طبق برنامه زیر تنظیم شد:

دنا تورا سیون ابتدایی، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، سپس ۱۰ سیکل و هر سیکل شامل: دنا تورا سیون در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت یک دقیقه، سپس ۳۰ سیکل دنا تورا سیون در ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال پرایمرها در ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، گسترش در ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه بعد از ۳۰ سیکل که در پایان، گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه انجام و در نهایت، قطعه‌ای به طول ۱۹۶ جفت باز به دست آمد. صحت تکثیر قطعه مورد نظر (محصول PCR) روی ژل اکریل آمید ۸٪ بررسی و رنگ آمیزی ژل با استفاده از نیترا ت نقره انجام شد. سپس تعیین ژنوتیپ با روش RFLP و با استفاده از آنزیم برش دهنده $MvaI$ (شرکت فرمنتاز) صورت گرفت، در این مرحله، ۳ میکرو لیتر محصول PCR با ۲ یونیت آنزیم $MvaI$ ، ۷/۲ میکرو لیتر آب و ۰/۸ میکرو لیتر بافر، مخلوط و به مدت ۱۶ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد تا آنزیم عملیات برش را انجام دهد، سپس با تکنیک الکتروفورز، قطعات حاصل از هضم آنزیمی بررسی گردید.

نقشه شماتیکی ژن هدف و جایگاه برش برای آنزیم محدود کننده $MvaI$ در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

اندازه گیری قند ناشتا در بیمارستان‌های مذکور انجام گرفت و باقیمانده سرم به پژوهشگاه غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی جهت انجام آزمایش‌های بیوشیمی منتقل شد. شاخص توده بدنی از تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجذور قد به متر اندازه گیری شد. سطح هورمون‌های آدیپونکتین و انسولین نیز با استفاده از کیت ELISA (شرکت مرکودیا سوئد) تعیین گردید. در این مطالعه، اندازه گیری قند خون ناشتا، کلسترول تام، تری گلیسرید، HDL-C، LDL-C به وسیله کیت پارس آزمون و با روش ELISA با دستگاه Biotechnica (مدل BT3500) انجام گرفت. برای تهیه DNA، محتویات لوله حاوی ضد انعقاد سانتریفوژ شد و Buffy Coat آن جدا و DNA به روش Salting out استخراج گردید (۲۰).

تعیین ژنوتیپ در پژوهشگاه غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی صورت گرفت. برای تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین، ابتدا با استفاده از روش PCR یک توالی ۱۹۶ جفت بازی از اینترون شماره ۲ مربوط به ژن آدیپونکتین در دستگاه Thermal cycler تکثیر شد که برای این کار دو پرایمر به کمک نرم افزار الیگو طراحی گردید، سپس عملکرد اختصاصی آغازگرها با Blast تأیید و از شرکت تولیدی و تحقیقاتی سیناژن تهیه شد.

Forward – Primer 5'-GGCCTCTTTTCATCACAGACC-3'

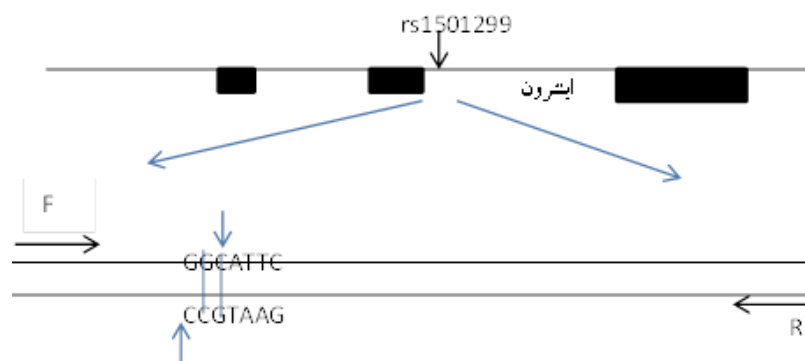
Reverse primer 5'-AGATGCAGCAAAGCCAAAGT-3'

جهت انجام واکنش PCR، مخلوط واکنش با حجم نهایی ۲۵ میکرو لیتر مطابق غلظت‌های زیر به هر میکروتیوب (حاوی ۱ میکرو لیتر نمونه DNA) اضافه شد:

Forward primer (0/9μl)، Master Mix (12/5μl)،

Reverse primer، (غلظت پرایمرها ۱۰ پیکومول در میکرو لیتر

بود) و ۹/۷ میکرو لیتر آب مقطر.



شکل شماره ۱: نقشه شماتیکی پلی مورفیسم rs1501299

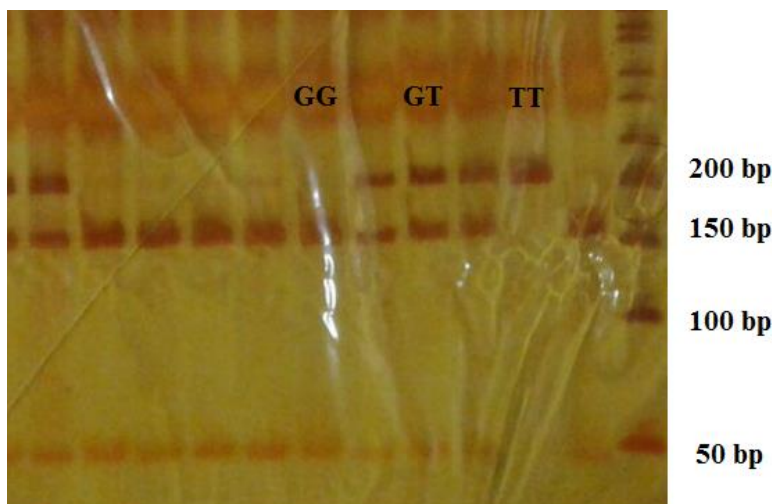
یافته‌ها

در پژوهش حاضر، ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با خطر ابتلا به دیابت و سطح آدیپونکتین سرم در یک جمعیت ایرانی شامل دو گروه مورد (پره‌دیابتی/دیابتی) و کنترل (غیردیابتی) بررسی گردید. نتیجه الکتروفورز محصولات PCR حامل پلی مورفیسم rs1501299 با استفاده از تکنیک RFLP، در شکل شماره ۲ آمده است. ژنوتیپ GT با سه باند با طول‌های ۱۹۶bp، ۱۴۸bp و ۴۸bp و ژنوتیپ GG با دو باند با طول‌های ۱۴۸bp، ۴۸bp و ژنوتیپ TT با یک باند با طول ۱۹۶bp مشخص شده است (شکل شماره ۲).

فراوانی ژنوتیپ‌ها شامل ۸۵ نفر حامل ژن GG (۵۳٪/۱)، ۶۲ نفر حامل GT (۳۸٪/۸) و ۱۳ نفر حامل TT (۸٪/۱) بود. افراد دارای ژنوتیپ TT به علت تعداد کم، در تحلیل آماری کنار گذاشته شدند.

داده‌های آماری به کمک نرم‌افزار SPSS، آزمون‌های توصیفی و استنباطی شامل: آزمون کلموگروف-اسمیروف (برای توزیع متغیرهای مورد مطالعه)، آزمون من‌ویتنی (جهت مقایسه میان دو گروه مورد و شاهد در صورت عدم برقراری شرط نرمال بودن)، آزمون تی مستقل، آزمون کای‌دو یا فیشر (برای عوامل کیفی) و رگرسیون لجستیک (جهت بررسی ارتباط بین خطر ابتلا به بیماری و ژنوتیپ‌ها) در سطح معنی‌داری، ۰/۰۵ تجزیه و تحلیل شدند.

متغیرهای کمی نرمال به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار و سایر متغیرهای کمی که توزیع چوله داشتند به صورت میانه، دامنه چارکی و متغیرهای کیفی به صورت درصد بیان شدند.



شکل شماره ۲: نتیجه هضم آنزیمی پلی مورفیسم rs1501299 توسط MvaI۲۶۹ I

در این شکل طول قطعات بریده شده به وسیله آنزیم نمایش داده شده است. این قطعات در ژنوتیپ GT شامل: سه باند با طول‌های ۱۹۶ bp، ۱۴۸ bp و ۴۸ bp، در ژنوتیپ GG شامل دو باند با طول‌های ۱۴۸ bp و ۴۸ bp و در ژنوتیپ TT یک باند با طول ۱۹۶ bp می‌باشد.

نتایج نشان می‌دهد بین دو گروه در شاخص توده بدنی، تفاوت معنی‌داری وجود دارد (جدول شماره ۱).

مقایسه متغیرهای بیوشیمیایی و تن‌سنجی در دو گروه سالم و بیمار در جدول شماره ۱ آمده است.

جدول شماره ۱: توزیع متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی در دو گروه سالم و بیمار

متغیر کمی	بیمار	سالم	pvalue
سن (سال)	۵۲/۹±۱۳/۱	۳۶/۹±۱۱/۷	<۰/۰۰۱
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۷/۴(۲۴/۲۹-۸/۸)	۲۴/۲ (۲۱/۵-۲۷/۳)	<۰/۰۰۱
دور کمر (سانتی متر)	۹۶/۳±۱۲/۶	۹۶/۹±۱۵/۷	۰/۲۵۹
دور باسن (سانتی متر)	۱۰۵/۲±۱۴/۶	۱۰۳/۱±۱۳/۱	۰/۲۳۲
HDL (میلی گرم بردسی لیتر)	۴۶(۳۴-۵۴)	۴۷ (۴۰/۲-۵۷)	۰/۲۳۲
LDL (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۱۵±۴۲	۱۰۴/۳±۲۳/۲	۰/۱۴۳
کلسترول (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۸۵±۴۹	۱۶۶/۸±۴۰/۱	۰/۰۵۵
تری گلیسرید (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۳۸ (۹۸/۷-۲۰۲)	۹۵/۵ (۸۳/۲-۱۶۱)	۰/۲۴۱
قند ناشتا	۱۴۶(۱۲۳-۱۸۰)	۸۸/۵ (۸۲-۹۴)	<۰/۰۰۱
انسولین	۹/۵ (۶/۱۵-۱/۳)	۸/۴ (۵/۱۳-۵/۹۶)	۰/۲۱۹
آدیپونکتین	۶/۶ (۵/۹-۲/۴)	۷/۴(۵/۱۱-۴/۳)	۰/۱۱۵

جدول شماره ۲: بررسی ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 با متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی

متغیر کمی	GG	GT	pvalue
سن (سال)	۴۶/۴±۱۴/۲	۴۷/۳±۱۶/۵	۰/۷۴۸
نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۵/۹(۲۲/۲۸-۸/۷)	۲۵/۷ (۲۳/۷-۲۹/۷)	۰/۶۱۸
دور کمر (سانتی متر)	۹۷/۵±۱۲/۴	۱۰۰/۵±۱۴/۳	۰/۲۵۹
دور باسن (سانتی متر)	۱۰۲/۲±۱۵/۸	۹۸/۶±۱۲/۴	۰/۲۲۲
HDL (میلی گرم بردسی لیتر)	۴۶(۳۷/۷-۵۴)	۴۶ (۴۱/۷-۵۶)	۰/۹۵۰
LDL (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۱۲/۱±۳۹/۹	۱۰۴/۸±۳۰/۳	۰/۴۲۹
کلسترول (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۸۳±۴۵/۶	۱۶۷/۳±۴۹/۷	۰/۱۴۳
تری گلیسرید (میلی گرم بردسی لیتر)	۱۱۵/۵ (۸۷/۵-۱۹۲)	۱۱۵ (۹۴-۱۶۸)	۰/۲۴۱
قند ناشتا	۱۱۴(۹۰-۱۵۴/۵)	۱۲۱ (۹۵/۵-۱۷۰)	۰/۰۱۸
انسولین	۸/۷ (۵/۱۳-۴/۹)	۸/۷ (۵/۱۲-۵/۶)	۰/۴۰۸
آدیپونکتین	۷/۸ (۵/۱۰-۵/۶)	۶/۳ (۵/۹-۳/۵)	۰/۲۳۳
جنسیت	مرد	زن	
	۳۰ (۳۵/۳)	۲۷ (۴۳/۵)	
	۵۵ (۶۴/۷)	۳۵ (۵۶/۵)	

نشان داد در هیچ کدام از متغیرها در ژنوتیپ‌های GG و GT، تفاوت معنی داری وجود ندارد ($p>۰/۰۵$).
تحلیل رگرسیونی برای ژنوتیپ‌ها انجام شد که نتایج آن در جدول شماره ۳ آمده است. نتایج نشان داد ژنوتیپ‌های GG و GT در بیماری دیابت نقش دارند.

متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی افراد در ژنوتیپ‌ها تعیین شد که نتایج آن در جدول شماره ۲ آمده است. در کل داده‌ها در قند ناشتا، تفاوت معنی داری در ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم rs1501299 وجود داشت ($p<۰/۰۵$)، اما در سایر متغیرها، اختلاف معنی داری در ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد ($p>۰/۰۵$) (جدول شماره ۲).
در این مطالعه متغیرهای بیوشیمیایی و تن سنجی به تفکیک ژنوتیپ‌ها در دو گروه سالم و بیمار نیز بررسی شد و نتایج

جدول شماره ۳: تحلیل رگرسیونی ژنوتیپ پلی مورفیسم rs1501299

ژنوتیپ rs1501299	بیمار	سالم	pvalue	OR/۹۵CI
TT	۶(۷/۵)	۷ (۸/۸)	۰/۷۷۳	۰/۸۵(۰/۲۷-۲/۶۴)
GG	۵۰(۶۲/۵)	۳۵(۴۳/۸)	۰/۰۱۸	۲/۱۴(۱/۱۵-۴/۰۳)
GT	۲۴(۳۰)	۳۸(۴۷/۵)	۰/۰۲۴	۰/۴۷(۰/۲۵-۰/۹۱)
T	۲۰(۳۶)	۲۹(۵۲)	۰/۰۱۸	۰/۴۷(۰/۲۵-۰/۸۸)

تعداد افراد بیمار با ژنوتیپ GG بیشتر از افراد سالم بود و اختلاف معنی داری مشاهده گردید. مقدار نسبت شانس برای وجود این ژنوتیپ ۲/۱۴ بود (یعنی شانس بروز دیابت در افرادی که ژنوتیپ GG دارند، ۲/۱۴ برابر افرادی است که این ژنوتیپ را ندارند)، همچنین تعداد افراد سالم در ژنوتیپ GT، بیشتر از افراد بیمار بود که این اختلاف نیز معنی دار بود. مقدار نسبت شانس برای وجود این ژنوتیپ، ۰/۴۷ برآورد شد (یعنی شانس بروز دیابت در افرادی که ژنوتیپ GT دارند، ۰/۵۳ کمتر از افرادی است که این ژنوتیپ را ندارند). فراوانی آلل T در گروه سالم بیشتر از گروه مبتلا به پره دیابت/ دیابت گزارش شد که اختلاف معنی داری را نشان می داد ($p > 0.05$).

بحث

بیش از ۱۰ پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ژن آدیپونکتین گزارش شده که براساس مطالعات، پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با مقاومت به انسولین و T2DM ارتباط دارد (۲۱). در پژوهش حاضر بین حاملین ژنوتیپ GT و GG، فقط در قند خون ناشتا تفاوت معنی داری مشاهده گردید و تفاوتی در سطح آدیپونکتین و سایر متغیرها دیده نشد. در مقایسه آدیپونکتین و سایر متغیرها در حاملین ژنوتیپ های GG، GT در دو گروه سالم و بیمار، تفاوت معنی داری مشاهده نشد؛ به عبارتی دیگر، بین این پلی مورفیسم و آدیپونکتین ارتباطی وجود نداشت. در مطالعات متاآنالیز بر روی ارتباط پلی مورفیسم های ژن آدیپونکتین و سطح این هورمون، بین rs1501299 و سطوح آدیپونکتین ارتباط نسبتاً ضعیفی مشاهده شده است (۲۲). Gui و همکاران ارتباطی بین سطح آدیپونکتین و پلی مورفیسم rs1501299 مشاهده نکردند که با نتایج مطالعه حاضر همسو بود. درحالی که Filippi و همکاران در جمعیت ایتالیایی نشان دادند آلل T با سطوح پایین سرم آدیپونکتین همراه بوده است و در جمعیت هند جنوبی نیز این پلی مورفیسم با سطوح پایین آدیپونکتین ارتباط معنی داری نشان داد، اما بسیاری از گزارش ها بیانگر سطوح بالاتر آدیپونکتین در حاملین آلل T پلی مورفیسم rs1501299 می باشد و آلل T به عنوان عامل محافظتی برای دیابت، بیماری عروق کرونر، فشارخون بالا و یا دیس لیپیدی در جمعیت های آمریکا، فنلاندی،

ژاپنی و کره ای معرفی شده است (۲۱). در پژوهش حاضر، فراوانی ژنوتیپ GG در افراد بیمار و فراوانی ژنوتیپ GT در افراد سالم، بیشتر و اختلاف معنی دار بود و شانس بروز دیابت در افرادی که ژنوتیپ GG داشتند ۲/۱۴ برابر افرادی بود که این ژنوتیپ را نداشتند، همچنین شانس بروز دیابت در افراد حامل ژنوتیپ GT، ۰/۵۳ کمتر از افرادی بود که این ژنوتیپ را نداشتند. در جمعیت ژاپن، پلی مورفیسم rs1501299 با T2DM و بیماری قلبی - عروقی و در افراد کره ای با سندرم متابولیک ارتباط داشت. همچنین در جمعیت کره ای، ارتباطی بین این پلی مورفیسم با T2DM و مقاومت به انسولین مشاهده نشد (۲۱). برخلاف نتایج مطالعه حاضر که آلل T نقش محافظتی نشان داد؛ در مطالعه محمدزاده و همکاران بر روی ۲۰۰ فرد دیابتی (۱۰۰ نفر بدون بیماری عروق کرونر و ۱۰۰ نفر مبتلا به بیماری عروق کرونر)، فراوانی ژنوتیپ TT در افراد دیابتی مبتلا به عروق کرونر به طور معنی داری در مقایسه با شاهد بیشتر بود و ژنوتیپ های GT، TT و آلل T به عنوان عامل افزایش دهنده ابتلا به بیماری عروق کرونر شناخته شدند. Gui و همکاران نیز گزارش کردند این پلی مورفیسم با افزایش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر، ارتباط مثبت دارد (۲۱). در یک مطالعه مورد - شاهدی در جمعیت تابوان، ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم rs1501299 و T2DM مشاهده گردید و آلل T به عنوان عامل خطر برای شیوع T2DM شناخته شد (۲۳، ۲۱). Li و همکاران در مطالعه ای در جمعیت چینی بر روی ۳۴۰ فرد نرمال و ۳۴۰ فرد مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان دادند بین این پلی مورفیسم و افزایش خطر ابتلا به T2DM ارتباط وجود دارد (۲۴).

مشابه نتایج حاضر، نقش محافظتی پلی مورفیسم rs1501299 در گزارش های زیادی منتشر شده است؛ از جمله Katakami در ژاپنی های مبتلا به دیابت نوع ۲ و استقامتی و همکاران در افراد ایرانی مبتلا به T2DM، نقش محافظتی آلل T پلی مورفیسم rs1501299 را برای بیماری عروق کرونر گزارش کردند. براساس گزارش های موجود در آسیا و اروپا، آلل T دارای فنوتیپ ضد تصلب شرائین است (۲۵).

یک مطالعه مورد - شاهدی بر روی ۳۸۴ مورد و ۴۸۰ شاهد در ژاپن نشان داد پلی مورفیسم rs1501299 با شیوع دیابت نوع ۲

نتیجه گیری

اگرچه در مطالعه حاضر، ارتباطی بین پلی مورفیسم rs1501299 و آدیپونکتین مشاهده نشد، اما فراوانی آلل T و ژنوتیپ GT در افراد سالم بیشتر و بروز دیابت در حاملین ژنوتیپ GG نیز بیشتر بود؛ به عبارتی، آلل T مطلوب تر است و این پلی مورفیسم با دیابت نوع ۲ ارتباط دارد. با توجه به نتایج متفاوت حاصل از تحقیقات پلی مورفیسم ها در جمعیت های مختلف و تأیید پژوهشگران در دخالت عوامل ژنتیکی در دیابت نوع ۲ لازم است پلی مورفیسم های دیگر ژن آدیپونکتین، سایر ژن ها و عوامل مؤثر در دیابت نوع ۲ بررسی گردد تا شاید بتوان از این پلی مورفیسم ها به عنوان مارکر برای پیشگیری و تشخیص دیابت نوع ۲ استفاده کرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از اساتید گرانقدر و کارشناسان محترم پژوهشگاه علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی و جناب آقای دکتر سعید سمیعی (مدیر ارشد آزمایشگاه بیمارستان پارس) و سرکار خانم دکتر لاله قانعی که در انجام این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می گردد.

کد ارکید نویسندگان:

Orcide Code: Samane Saleh; 0000-0003-0191-2864.
Orcide Code: Masoumeh Nejadali; 0000-0002-3931-9807.
Orcide Code: Mehdi Hedayati; 0000-0001-5816-775X.

ارتباط معنی داری دارد؛ درحالی که در مطالعه Goto در همین جمعیت، این پلی مورفیسم با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ همراه نبود، همچنین ارتباطی با سطح آدیپونکتین پلاسما نداشت (۲۶). براساس نتایج تعدادی از مطالعات، پلی مورفیسم rs1501299 به شدت با دیابت نوع ۲ در جمعیت ژاپنی ارتباط دارد؛ با این حال در مطالعه ای متاآنالیز، ارتباط معنی داری بین rs1501299 و دیابت نوع ۲ در آسیا و سفیدپوستان یافت نشد (۲۷). پلی مورفیسم rs1501299 در اینترون ۲ (۲۲) قرار دارد و مکانیسم مولکولی آن هنوز شناخته نشده است (۲۵)، و انتظار می رود سطح آدیپونکتین سرم را تحت تأثیر قرار ندهد و درجایی که ارتباطی مشاهده شده (۲۱)، SNP های ناشناخته در ژن آدیپونکتین یا ژن های دیگر علت این ارتباط بیان شده است. برخی مطالعات، جنسیت را عامل مهم تناقض نتایج بیان کرده اند (۲۵). علاوه بر این، سبک زندگی متفاوت و حجم نمونه نیز ممکن است دلیل این نتایج متفاوت باشد (۲۷).

از مهم ترین محدودیت های این مطالعه، حجم کم نمونه ناشی از انتخاب بیمارانی بود که سابقه مصرف داروی متابولیکی نداشتند. با توجه به اینکه در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با دیابت تأیید شد؛ بنابراین پیشنهاد می شود ارتباط سایر پلی مورفیسم های ژن آدیپونکتین با دیابت بررسی گردد.

References:

1. Esmailinasab M, Ebrahimi M, Heidari Mokarrar M, Rahmati L, Yoosef Mahjouri M, Arzaghi SM. Type II diabetes and personality; a study to explore other psychosomatic aspects of diabetes. J Diabetes Metab Disord 2016;15:54. PubMed
2. Zhang L, Qin Y, Liang D, Li L, Liang Y, Chen L, et al. Association of polymorphisms in LEPR with type 2 diabetes and related metabolic traits in a Chinese population. Lipids Health Dis 2018;17:2. PubMed
3. Nasli-Esfahani E, Farzadfar F, Kouhnavard M, Ghodssi-Ghassemabadi R, Khajavi A, Peimani M, et al. Iran diabetes research roadmap (IDRR) study: A preliminary study on diabetes research in the world and Iran. J Diabetes Metab Disord 2017;16:9. PubMed
4. 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. [Full Text in Persian] Link

5. Yip WCY, Sequeira IR, Plank LD, Poppitt SD. Prevalence of pre-diabetes across ethnicities: A review of impaired fasting glucose (IFG) and impaired glucose tolerance (IGT) for classification of dysglycaemia. *Nutrients* 2017;9(11):1273. PubMed
6. Gui MH, Li X, Jiang SF, Gao J, Lu DR, Gao X. Association of the adiponectin gene rs1501299 G>T variant, serum adiponectin levels, and the risk of coronary artery disease in a Chinese population. *Diabetes Res Clin Pract* 2012;97(3):499-504. PubMed
7. Foucan L, Maimaitiming S, Larifla L, Hedreville S, Deloumeaux J, Joannes M, et al. Adiponectin gene variants, adiponectin isoforms and cardiometabolic risk in type 2 diabetic patients. *J Diabetes Investig* 2014;5(2):192-8. PubMed
8. Hashemi M, Hanafi Bojd H, Eskandari Nasab E, Bahari A, Hashemzahi N, Shafieipour S. Association of adiponectin rs1501299 and rs266729 gene polymorphisms with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepat Mon* 2013;13(5):e9527. PubMed
9. 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):231-244. PubMed
10. Fraga VG, Gomes KB. Adiponectin gene polymorphisms: Association with childhood obesity. *J Pediatr Genet* 2014;3(1):17-28. PubMed
11. Tan X, Wang G, Tang Y, Bai J, Ye L. Association of ADIPOQ and ADIPOR variants with risk of colorectal cancer: A meta-analysis. *Huazhong Univ Sci Technol* 2017;37(2):161-71. PubMed
12. Ye L, Wang G, Tang Y, Bai J. A population-specific correlation between ADIPOQ rs2241766 and rs 1501299 and colorectal cancer risk: A meta-analysis for debate. *Int J Clin Oncol* 2017;22:307-15. Link
13. Karachentsev Y, Gorshunska M, Tyzhnenko T, Krasova N, Dunaeva I, Gladkih A, et al. Adiponectin gene single-nucleotide polymorphisms in patients with type 2 diabetes mellitus and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Endocrinol* 2017;13(4):229-37. Link
14. Toy WC, Liu JJ, Cheng AKS, Tan CSH, Lau DP, Wong MDS, et al. Adiponectin gene polymorphisms and Type 2 diabetes among singaporean chinese adults. *J Diabetes Metab* 2011;2(8):152-5. Link
15. Peralta Romero JJ, Karam Araujo R, Burguete García AI, Estrada Velasco BI, Lopes Islas C, Figueroa Arredondo PMDC, et al. ADIPOQ and ADIPOR2 gene polymorphisms: association with overweight/obesity in Mexican children. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2015;72(1):26-33. PubMed
16. Mohan Reddy N, Kalyana Kumar CH, Jamil K. Association of adiponectin gene functional polymorphisms (+45T/G and 276G/T) with obese breast cancer. *J Mol Biomark Diagn* 2012;3:6. Link
17. Ogundele OE, Adekoya KO, Osinubi AA, Awofala AA, Oboh BO. Association of adiponectin gene (ADIPOQ) polymorphisms with measures of obesity in Nigerian young adults. *Egypt J Med Hum Gene* 2018;19:123-7. Link
18. 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. PubMed
19. Li Y, Liu L, Wang B, Wang J, Chen D. Metformin in non-alcoholic fatty liver disease: A systematic review and meta-analysis. *Biomed Rep* 2013;1(1):57-64. PubMed
20. Rumi Y, Mohammad Amoli M, Hosni Ranjbar Sh, Ballaei P, Sajjadi MA, 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. *Iranian J Diabetes Lipid Disord* 2011;10(6):608-13. [Full Text in Persian] Link
21. Mohammadzadeh Gh, Ghaffari MA, Heibar H, Bazayr M. Association of two common single nucleotide polymorphisms (+45T/G and +276G/T) of ADIPOQ Gene with coronary artery disease in type 2 diabetic patients. *Iranian Biomed J* 2016;20(3):152-60. [Full Text in Persian] Link

22. Menzaghi C, Trischitta V, Doria A. Genetic influences of adiponectin on insulin resistance, type 2 diabetes, and cardiovascular disease. *Diabetes* 2007;56(5):1198-209. PubMed
23. Tsai M-K, DavidWang H-M, Shiang J-C, Chen I-H, WanC-C, Shiao Y-F, et al. Sequence Variants of ADIPOQ and Association with Type 2 diabetes mellitus in Taiwan Chinese Han Population. *Sci World J* 2014;2014(ID 650393)7. PubMed
24. Li ZP, Zhang M, Gao J, Zhou GY, Li SQ, An ZM. Relation between ADIPOQ gene polymorphisms and Type 2 diabetes. *Genes* 2015;6(3):512-9. PubMed
25. Zhao N, Li N, Zhang Sh, Ma Q, Ma C, Yang X, et al. Associations between two common single nucleotide polymorphisms (rs2241766 and rs1501299) of ADIPOQ gene and coronary artery disease in type 2 diabetic patients: A systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017;8(31):51994-2005. PubMed
26. Goto A, Noda M, Goto M, Yasuda K, Mizoue T, Yamaji T, et al. Plasma adiponectin levels, ADIPOQ variants, and incidence of type 2 diabetes: A nested case-control study. *Diabetes Res Clin Pract* 2017;127:254-64. PubMed
27. Han LY, Wu QH, Jiao ML, Hao YH, Liang LB, Gao LJ, et al. Associations between single-nucleotide polymorphisms (+45T>G, +276G>T, -11377C>G, -11391G>A) of adiponectin gene and type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *Diabetologia* 2011;54(9):2303-14. PubMed