

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@iaau.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 - شاهدهی بر روی ۸۰ بیمار مبتلا به قند خون ناشتا (بالا تر از ۱۰۰ میلی گرم بردسی لیتر) و ۸۰ فرد با قند خون ناشتا (۱۰۰-۷۰ میلی گرم بردسی 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

فراوانی ژنوتیپ GG در بیماران دیابتی بیشتر از گروه کنترل بود ($OR: 0.47$ ، 95% CI: $0.08-2.5$ ، $p: 0.18$).

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.

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

آمرکز 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]

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

روش بررسی

این مطالعه به روش مورد - شاهدهی بر روی افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان‌های بوعلی و پارس (۸۰ فرد مبتلا به پره‌دیابت/دیابت با قند بالای ۱۰۰ میلی‌گرم بردسی‌لیتر و ۸۰ فرد سالم با قند ۱۰۰-۷۰ میلی‌گرم بردسی‌لیتر) در ماه‌های آذر سال ۱۳۹۵ تا شهریور سال ۱۳۹۶ انجام شد. براساس فرمول برآورد حجم نمونه و نرم‌افزار MedCalc، با در نظر گرفتن خطای $\alpha=0/05$ ، توان ۸۰٪ و خطای $\beta=0/2$ ، تعداد ۸۰ نفر در هر گروه محاسبه گردید. جمعیت موردبررسی را افراد مبتلا به پره‌دیابت با داشتن قندخون ناشتا بین ۱۰۰-۱۲۵ میلی‌گرم بردسی‌لیتر و افراد دیابتی دارای قندخون ناشتا ۱۲۶ میلی‌گرم بردسی‌لیتر و بالاتر تشکیل می‌دادند (۱۸). با توجه به اینکه داروهای ضد دیابت، سطح هورمون آدیپونکتین را افزایش می‌دهد (۱۹)؛ لذا شرط ورود به مطالعه افراد پره‌دیابت/دیابت، داشتن قند بالای ۱۰۰ میلی‌گرم بردسی‌لیتر و عدم سابقه مصرف داروی ضد دیابت بود که این مهم از ویژگی‌های منحصربه‌فرد این مطالعه محسوب می‌شد. با ورود افراد بدون سابقه مصرف داروی متابولیکی، اثر عامل مخدوش‌کننده دارو حذف گردید.

معیارهای خروج از مطالعه شامل: سابقه مصرف داروی متابولیکی، مصرف الکل، مصرف مواد مخدر، بیماری حاد، حاملگی، بیماری کلیوی، بیماری‌های کبد، بیماری قلبی، سرطان، بیماری‌های ایمنی، عفونت و فشارخون بالا و سایر بیماری‌ها بود. در این مطالعه، حداقل سن افراد ۱۲ و حداکثر ۸۱ سال برآورد شد. این مطالعه براساس تفاهم‌نامه 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 شرکت‌کنندگان، ۱۰ سی‌سی نمونه خون محیطی گرفته شد، سپس ۵ سی‌سی از نمونه مذکور در لوله حاوی ضد انعقاد EDTA (به میزان ۳ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و باقیمانده آن در لوله‌ای فاقد ضد انعقاد ریخته شد. بعد از لخته شدن خون در لوله فاقد ضد انعقاد، سرم به کمک سانتریفیوژ (۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰rpm) جدا گردید.

دیابت نوع ۲، شایع‌ترین نوع دیابت است که ۹۵-۹۰٪ از بیماران دیابتی را شامل می‌شود. 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 پیش‌بینی فدراسیون بین‌المللی 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، پره‌دیابت نیز به‌موازات با دیابت در حال افزایش است (۵). آدیپونکتین سیتوکین ترشح‌شده از بافت چربی موجب افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب، فعالیت انسولین و جذب گلوکز در بافت‌های محیطی می‌شود و با مقاومت به انسولین، چاقی، دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی - عروقی و سندرم متابولیک ارتباط دارد (۶،۷). آدیپونکتین حاوی ۲۴۴ اسیدآمین 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 می‌کنند (۹). گیرنده‌های آدیپونکتین در طیف وسیعی از واکنش‌های متابولیکی؛ از جمله مهار گلوکونوزنز، جذب گلوکز و اکسیداسیون اسید چرب شرکت دارند (۱۰). ژن آدیپونکتین، بر روی کروموزوم ۳ قرار دارد و شامل ۱۳گزون و ۲ اینترون است (۱۱،۸). شواهد نشان می‌دهند پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتید 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، ایالات‌متحده آمریکا، قفقازی‌های فرانسه، ایتالیا (۱۳) و افراد غیرآسیایی نشان داده شده است (۱۴)، اما مکانیسم این ارتباط‌ها هنوز مشخص نیست (۱۵). یکی از پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی در ژن آدیپونکتین پلی‌مورفیسم rs1501299 در اینترون ۲، ژن آدیپونکتین است (۱۶). ارتباط پلی‌مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با خطر توسعه T2D (۱۳) و متغیرهای وابسته به چاقی در برخی از جوامع بررسی شده که در این مورد گزارش‌های متناقضی وجود دارد (۱۷). این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs1501299 ژن آدیپونکتین با سطح سرمی آدیپونکتین و خطر ابتلا به دیابت در یک جمعیت مبتلا به

Archive of SID

محلول مسترمیکس حاوی تک پلیمرز، dNTP و Mgcl2 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 توراسیون ابتدایی، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، سپس ۱۰ سیکل و هر سیکل شامل: دنا توراسیون 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 توراسیون 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، 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 نترات نقره انجام شد. سپس تعیین ژنوتیپ با روش RFLP و با استفاده از آنزیم برش دهنده Mva1269I (شرکت فرمتاز) صورت گرفت، در این مرحله، ۳ میکرولیتر محصول PCR با ۲ یونیت آنزیم Mva1269I، ۷/۲ میکرولیتر آب و ۰/۸ میکرولیتر 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 Mva1269I در شکل شماره ۱ نشان داده شده است.

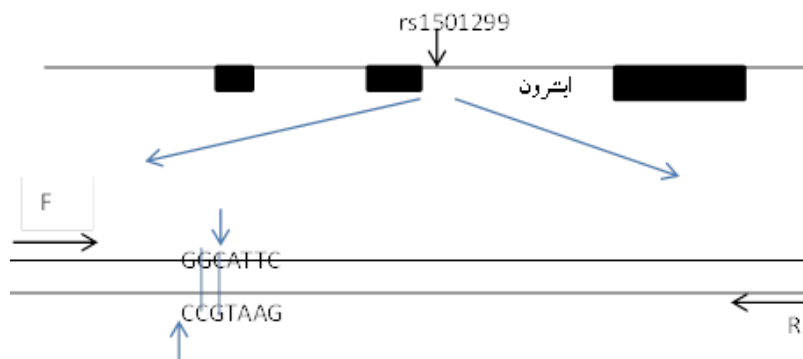
اندازه گیری قند ناشتا در بیمارستان‌های مذکور انجام گرفت و باقیمانده سرم به پژوهشگاه غدد و متابولیسم دانشگاه شهید بهشتی جهت انجام آزمایش‌های بیوشیمی منتقل شد. شاخص توده بدنی از تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجذور قد به متر اندازه گیری شد. سطح هورمون‌های آدیپونکتین و انسولین نیز با استفاده از کیت ELISA (شرکت 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 میکرولیتر مطابق غلظت‌های زیر به هر میکروتیوب (حاوی ۱ میکرولیتر نمونه DNA) اضافه شد:

Master Mix (12/5μl)، Forward primer (0/9μl)، Reverse primer (0/9μl)، غلظت پرایمرها ۱۰ پیکومول در میکرولیتر (بود) و ۹/۷ میکرولیتر آب مقطر.



شکل شماره ۱: نقشه شماتیکی پلی مورفیسم rs1501299

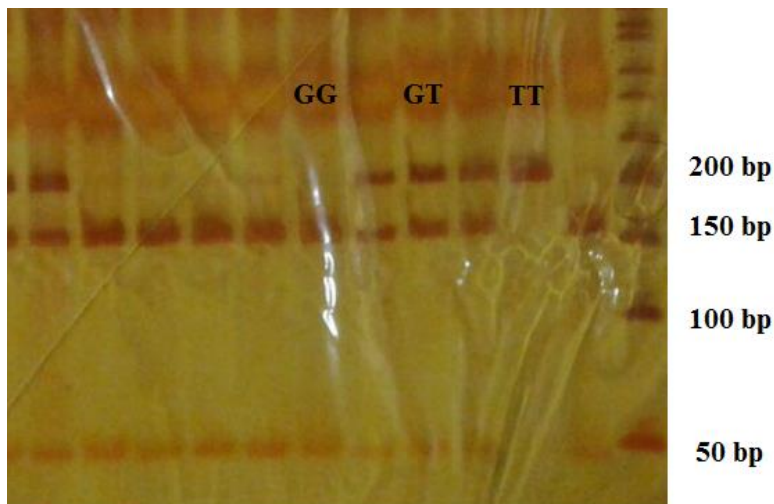
یافته‌ها

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، 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-اسمیرونف (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 ۱۴۸bp 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 کمتی	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 کمتی	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 ($p > 0.05$). 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 ($p < 0.05$)، اما در سایر متغیرها، اختلاف معنی داری در ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد ($p > 0.05$) (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)

ژاپنی و کره‌ای معرفی شده است (۲۱). در پژوهش حاضر، فراوانی ژنوتیپ GG در افراد بیمار و فراوانی ژنوتیپ GT در افراد سالم، بیشتر و اختلاف معنی‌دار 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 کره‌ای با سندرم متابولیک ارتباط داشت. همچنین در جمعیت کره‌ای، 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 معنی‌داری در مقایسه با شاهد بیشتر بود و ژنوتیپ‌های GT، TT و آلل T به‌عنوان عامل افزایش‌دهنده 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 معنی‌داری بین پلی مورفیسم rs1501299 و T2DM مشاهده گردید و آلل T به‌عنوان عامل خطر برای شیوع T2DM شناخته شد (۲۱، ۲۳). Li و همکاران در مطالعه‌ای 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 گزارش‌های زیادی منتشر شده است؛ از جمله Katakami در ژاپنی‌های 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 گزارش‌های 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

تعداد افراد بیمار با ژنوتیپ GG بیشتر از افراد سالم بود و اختلاف معنی‌داری 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 معنی‌دار 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 پرده‌دیابت/ دیابت گزارش شد که اختلاف معنی‌داری را نشان می‌داد (p>۰/۰۵).

بحث

بیش از ۱۰ پلی مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی 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 معنی‌داری مشاهده گردید و تفاوتی در سطح آدیپونکتین و سایر متغیرها دیده نشد. در مقایسه آدیپونکتین و سایر متغیرها در حاملین ژنوتیپ‌های GT، GG در دو گروه سالم و بیمار، تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد؛ به‌عبارتی دیگر، بین این پلی مورفیسم و آدیپونکتین ارتباطی وجود نداشت. در مطالعات متاآنالیز بر روی ارتباط پلی مورفیسم‌های 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. درحالی‌که 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 معنی‌داری نشان داد، اما بسیاری از گزارش‌ها بیانگر سطوح بالاتر آدیپونکتین در حاملین آلل T پلی مورفیسم rs1501299 می‌باشد و آلل T به‌عنوان عامل محافظتی برای دیابت، بیماری عروق کرونر، فشارخون بالا و یا دیس لیپیدی در جمعیت‌های آمریکا، فنلاندی،

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 مورفیسم‌ها در جمعیت‌های مختلف و تأیید پژوهشگران در دخالت عوامل ژنتیکی در دیابت نوع ۲ لازم است پلی مورفیسم‌های دیگر ژن آدیپونکتین، سایر ژن‌ها و عوامل مؤثر در دیابت نوع ۲ بررسی گردد تا شاید بتوان از این پلی مورفیسم‌ها 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 درون‌ریز 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 می‌گردد.

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.

References:

1. Esmaeilinasab 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

ارتباط معنی‌داری دارد؛ درحالی‌که 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 مطالعه‌ای متاآنالیز، ارتباط معنی‌داری 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 می‌رود سطح آدیپونکتین سرم را تحت تأثیر قرار ندهد و درجایی که ارتباطی مشاهده شده (۲۱)، SNP‌های ناشناخته در ژن آدیپونکتین یا ژن‌های دیگر علت این ارتباط بیان شده است. برخی مطالعات، جنسیت را عامل مهم تناقض نتایج بیان کرده‌اند (۲۵). علاوه بر این، سبک زندگی متفاوت و حجم نمونه نیز ممکن است دلیل این نتایج متفاوت باشد (۲۷).

از مهم‌ترین محدودیت‌های 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 می‌شود ارتباط سایر پلی مورفیسم‌های ژن آدیپونکتین با دیابت بررسی گردد.

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