Original Article

Association between adiponectin gene single nucleotide polymorphisms with age of diabetes onset and initiating insulin therapy in patients with type 2 diabetes

Mamashli E[1], Seifi-Skishahr F[1], Siahkouhian M[1], IranparvarAlamdari M[2], Asadi A[3], Davarnia B[4*]

1- Department of Exercise Physiology, Faculty of Educational Sciences and Psychology, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, I.R. Iran.
2- Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, I.R. Iran.
3- Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, I.R. Iran.
4- Department of Medical Genetics and Pathology, Faculty of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, I.R. Iran.

Received: 2022/03/28 | Accepted: 2022/07/17

Abstract:

Background: The incidence of type 2 diabetes is growing at an early age. Genetic factors probably play an important role in the early onset of type 2 diabetes. The present study aimed to effect of single nucleotide polymorphisms of adiponectin gene rs2241766 (+45 T/G), rs1501299 (+276 G/T) and rs17300539 (-11391G/A) on the age of diabetes onset and initiating insulin therapy in patients with type 2 diabetes.

Materials and Methods: In this case-control study, 183 patients with type 2 diabetes and 155 healthy individuals participated. Demographic and anthropometric data were collected. Genotyping was performed by using amplification refractory mutation system-PCR (ARMS-PCR). Data were analyzed by using SPSS software (version 26).

Results: According to results, in rs2241766 (SNP+45 T/G), the age of onset of diabetes and age of starting insulin therapy in the TG genotype carriers was significantly less than in TT genotype carriers (Respectively P=0.035, P=0.048). In SNP+45 T/G, 48.6% of patients with diabetes onset age<35 years were carrying the TG genotype (P=0.013). TG genotype (OR=2.381, 95% CI:1.430–7.994, P=0.006) was associated with the significantly increased risk of diabetes onset age <35 years.

Conclusion: According to the results of the present study, SNP+45 T/G of the adiponectin gene has a significant effect on the early onset of T2DM as well as the rapid progression of the disease. Evaluation of effective genetic variants can be useful in pre-diabetes screening for early detection and prevention.

Keywords: Adiponectin, Single nucleotide polymorphism, Age of diabetes onset, Age of initiating insulin therapy

***Corresponding Author**
Email: b.davarnia@gmail.com
Tel: 0098 453 353 4680
Fax: 0098 453 353 4694

Conflict of Interests: ***No***

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, September, 2022; Vol. 26, No 4, Pages 424-434

Please cite this article as: Mamashli E, Seifi-Skishahr F, Siahkouhian M, IranparvarAlamdari M, Asadi A, Davarnia B. Association between adiponectin gene single nucleotide polymorphisms with age of diabetes onset and initiating insulin therapy in patients with type 2 diabetes. ***Feyz*** 2022; 26(4): 424-34.

ارتباط پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین با سنّ ابتلا و شروع انسولین‌درمانی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو

الهه ممشلی [۱]، فرناز سیفی اسگ‌شهر [۱]، معرفت سیاه‌کوهیان [۱]، منوچهر ایران‌پرور [۲]، اسداله اسدی [۳]، بهزاد داورنیا [۴*]

خلاصه:

سابقه و هدف: ابتلا به دیابت نوع دو در سنین پایین در حال افزایش است، احتمالاً عوامل ژنتیکی نقش مهمّی در شروع زودرس دیابت نوع دو دارند. هدف از مطالعه حاضر، بررسی تأثیر پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین (rs۲۲۴۱۷۶۶(+۴۵ T/G)، (+۲۷۶ G/T)rs۱۵۰۱۲۹۹ rs و (−۱۱۳۹۱ G/A)rs۱۷۳۰۰۵۳۹ بر سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع انسولین‌درمانی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه موردی – شاهدی، ۱۸۳ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۵۵ فرد سالم شرکت کردند. داده‌های جمعیت‌شناختی و تن‌سنجی جمع‌آوری شدند. بررسی ژنوتایپی پلی‌مورفیسم‌ها با استفاده از روش تقویت سیستم مقاوم به جهش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (T-ARMS-PCR) انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۶ تجزیه‌وتحلیل شدند.

نتایج: طبق نتایج، در SNP +۴۵ T/G سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع انسولین‌درمانی در حاملین ژنوتایپ TG به‌طور معنی‌داری کمتر از حاملین ژنوتایپ GG بود. (به‌ترتیب $P=$ ۰/۰۳۵، $P=$ ۰/۰۴۸). در SNP + ۴۵T/G، ۴۸٪/۶ از بیماران با سنّ ابتلای <۳۵ سال، حامل ژنوتایپ TG بودند ($P=$ ۰/۰۱۳) و ژنوتایپ TG ($P=$ ۰/۰۰۶، CI= ۱/۴۳۰ – ۷/۹۹۴، OR= ۲/۳۸۱) به‌طور معنی‌داری با افزایش خطر ابتلا به دیابت در سنّ کمتر از ۳۵ سال مرتبط بود.

نتیجه‌گیری: طبق نتایج پژوهش حاضر، SNP + ۴۵T/G از ژن آدیپونکتین اثر قابل‌توجهی در شروع زودهنگام T2DM و پیشرفت سریع بیماری دارد. بررسی واریانت‌های ژنتیکی مؤثر می‌تواند در غربالگری پیش از ابتلا به دیابت، به‌منظور تشخیص زودهنگام و ارائه راهکارهای پیشگیرانه، مفید باشد.

واژگان کلیدی: آدیپونکتین، پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی، سنّ ابتلا به دیابت، سنّ شروع انسولین‌درمانی

دو ماهنامه علمی – پژوهشی فیض، دوره بیست و ششم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۴۰۱، صفحات ۴۳۴-۴۲۴

مقدمه

دیابت نوع دو (T2DM) یکی از نگرانی‌های بهداشت عمومی در جهان است و از عوامل اصلی ابتلا به بیماری‌های قلبی – عروقی، کلیوی و سایر بیماری‌های متابولیک در بزرگسالان و جوانان شناخته شده است. طبق آمار در سال ۲۰۱۹، ۱۰۵ میلیون نفر جان خود بر اثر دیابت از دست دادند. طی سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱۶ میزان مرگ‌ومیر زودهنگام ناشی از دیابت، افزایش قابل‌توجهی داشته است [۱]. T2DM قبلاً دیابت بزرگسالان نامیده می‌شد، اما به‌دلیل افزایش قابل‌توجه آمار ابتلا در جوانان و حتی نوجوانان [۳،۲] دیگر به‌عنوان دیابت بزرگسالان شناخته نمی‌شود [۵-۳].

۱. گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم تربیتی و روانشناسی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۲. گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۳. گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

۴. گروه ژنتیک و آسیب‌شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

*نشانی نویسنده مسؤول:

تلفن: ۰۹۱۴۳۵۱۰۸۹۸ دورنویس: ۳۳۵۲۰۴۵۷ ۰۴۵

پست الکترونیک: b.davarnia@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱/۸ تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۴/۲۶

برای مثال طبق آمار گزارش‌شده در بریتانیا، در سال ۲۰۰۳ فقط پنج درصد از مبتلایان به T2DM، سنّ کمتر از ۳۰ سال داشتند [۶]؛ اما این آمار تا سال ۲۰۰۶ به‌سرعت به ۱۲ درصد رسید [۷]. همچنین تعداد مبتلایان زیر ۴۰ سال تا ۲۴ درصد افزایش یافت [۸]. T2DM یک بیماری پلی‌ژنیک است که از تعامل پیچیده بین عوامل ژنتیکی متعدد و طیف گسترده‌ای از عوامل خطر محیطی ایجاد می‌شود. هرچند کنترل عوامل محیطی می‌تواند تأثیر بسزایی در سنّ ابتلا و جلوگیری از پیشرفت بیماری داشته باشد، اما همه افراد پاسخ یکسانی به عوامل کنترل کننده بیماری و تاثیرگذار بر پیشگیری و درمان نمی‌دهند. بخش قابل توجهی از دلایل احتمالی در تفاوت پاسخ دهی بیماران را می‌توان در عوامل ژنتیکی جست و جو کرد. این یک واقعیت شناخته‌شده است که عوامل ژنتیکی نقش مهمّی در ایجاد بیماری‌های متابولیک مانند دیابت دارند [۹]. چندین کاندید ژنتیکی، با استفاده از رویکردهای کاندید ژنی و مطالعات ارتباط ژنومی در جمعیت‌های مختلف برای T2DM شناسایی شده است [۱۰]. برای مثال، ژن کدکننده آدیپونکتین به‌عنوان یکی از کاندیداهای امیدوارکننده در تعیین مبنای ژنتیکی T2DM شناخته شده است که در سال‌های اخیر بسیار مورد توجه قرار گرفته است [۱۱]. آدیپونکتین یک آدیپوکاین زیستی فعال و مؤثر در تنظیم

هومئوستاز گلوکز خون و کنترل شرایط مرتبط با T2DM است و در افزایش حساسیت به انسولین تأثیرگذار است. آدیپونکتین توسط ژن APM1 (ADIPOQ) کدگذاری می‌شود که روی کروموزوم ۳q۲۷ قرار گرفته است. این ناحیه لوکوس مرتبط با دیابت نامگذاری می‌شود [۱۲]. از آنجایی که رایج‌ترین نوع تنوع آللی، پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی (SNPs) هستند بررسی ارتباط پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی ژن‌های مرتبط با بیمارای با عوامل خطر بروز بیماری بسیار مورد توجه بوده است. در سال‌های اخیر، در مطالعات زیادی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین و T2DM مورد بررسی قرار گرفته است. به‌طوری‌که در مطالعات متاآنالیز ارتباط برخی از این پلی‌مورفیسم‌ها با خطر ابتلا به T2DM گزارش شده است. طبق نتایج این مطالعات، برخی از جهش‌های تک‌نوکلئوتیدی در ژن آدیپونکتین در افراد مبتلا به T2DM با هیپوآدیپونکتینمی همبستگی مثبت دارد و مولتی مریزاسیون و ترشح آدیپونکتین را مهار می‌کنند [۱۳]. برای مثال rs۲۲۴۱۷۶۶ (SNP+۴۵T/G) در ژن آدیپونکتین به‌عنوان یک عامل خطر ابتلا به T2DM شناسایی شده است. به‌طوری‌که افراد دارای ژنوتیپ GT یا GG در معرض خطر قابل‌توجهی برای ابتلا به T2DM هستند. نتایج مطالعات در جمعیت‌های ژاپنی [۱۴]، اسپانیایی [۱۵] و هندی [۱۶] اثرات بالقوه این پلی‌مورفیسم را (rs۲۲۴۱۷۶۶) بر بروز اختلال تحمل گلوکز و مقاومت به انسولین نشان می‌دهد. همچنین rs۱۵۰۱۲۹۹ (SNP+۲۷۶ G/T) در ژن آدیپونکتین با مقاومت به انسولین و پاتوژنز T2DM مرتبط است [۱۳]. یافته‌های مشابه، ارتباط rs۱۷۳۰۰۵۳۹ (SNP-۱۱۳۹۱ G/A) را با مقاومت به انسولین و استعداد ابتلا به T2DM نشان داده است. تاکنون در هیچ مطالعه‌ای تأثیر پلی‌مورفیسم‌های ژن آدیپونکتین بر سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع درمان با انسولین بررسی نشده است. اخیراً در سال ۲۰۲۰، پیکو و همکاران تأثیر عوامل ژنتیکی را بر سنّ شروع T2DM بررسی کردند. در این مطالعه ۲۳ SNPs مورد بررسی قرار گرفته است که هیچ‌یک از پلی‌مورفیسم‌های بررسی‌شده مربوط به ژن آدیپونکتین نمی‌شود. نتایج مطالعه پیکو و همکاران نشان می‌دهد که یک استعداد ژنتیکی قابل‌توجهی برای شروع زودهنگام T2DM وجود دارد که عوامل ژنتیکی می‌توانند، علاوه بر عوامل خطر محیطی، برای تخمین خطر شروع زودهنگام T2DM مفید باشند [۹]. تشخیص زودهنگام T2DM می‌تواند به کاهش تعداد مرگ‌ومیر ناشی از آن و جلوگیری از پیشرفت عوارض بیماری کمک کند. بنابراین برای ایجاد غربالگری مؤثر، شناخت عوامل کلیدی دخیل در ایجاد بیماری ضروری است. به‌نظر می‌رسد که بررسی واریانت‌های ژن آدیپونکتین گزینه مناسب و تأثیرگذاری باشد.

بر این اساس در پژوهش حاضر به بررسی این سؤال پرداخته شده است که آیا پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین T/G ۴۵+، G/T ۲۷۶+ و G/A ۱۱۳۹۱- می‌توانند با ابتلای زودهنگام به دیابت و سنّ شروع انسولین‌درمانی در بیماران T2DM مرتبط باشند یا نه؟

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه و شرکت‌کنندگان

تأییدیه اخلاق برای پژوهش حاضر از کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی اردبیل به شماره (IR.ARUMS.REC.1397.287) اخذ شده است. در این مطالعه که از نوع موردی – شاهدی بود، جامعه هدف شامل همه بیماران مبتلا به دیابت نوع دو با نژاد قفقازی و جامعه آماری، بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مراجعه‌کننده به بیمارستان امام خمینی اردبیل بودند که از بدو تولد در شهرستان اردبیل زندگی می‌کردند. از طریق نمونه‌گیری تصادفی ساده از بین بیماران مبتلا به دیابت نوع دو ۶۵-۴۵ سال که بین سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۹ به کلینیک غدد بیمارستان امام اردبیل مراجعه کرده بودند و سابقه ابتلای بیشتر از ده سال داشتند، ۱۸۲ نفر به‌عنوان گروه بیماران انتخاب شدند. همچنین به‌طور تصادفی از بین افراد غیردیابتی ۴۵-۶۵ سال مراجعه‌کننده به بیمارستان امام خمینی اردبیل (در بین سال‌های ۱۳۹۴ تا ۱۳۹۹) که برای درمان سرپایی مراجعه کرده بودند و آزمایش قند خون نرمال و اختلال تحمل گلوکز منفی داشتند، ۱۵۵ نفر به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. در این پژوهش افراد دو گروه بیماران (سن: ۵/۶۹ ± ۵۶/۴۰، وزن: ۱۰/۵۳ ± ۷۷/۷۱، قد: ۰/۰۸ ± ۱/۶۵) و کنترل (سن: ۵/۷۶ ± ۵۵/۳۰، وزن: ۱۱/۷۹ ± ۷۹/۲۲، قد: ۰/۰۶ ± ۱/۶۸) از لحاظ سن، وزن و قد همگن شدند. در گروه بیماران، افرادی که معیارهای ورود شامل نژاد قفقازی و سابقه ابتلا به دیابت نوع دو بیش از ۱۰ سال، زندگی از بدو تولد در شهرستان اردبیل و سنّ کمتر از ۶۵ سال را داشتند، مشمول پژوهش حاضر شدند و در صورت داشتن هرگونه ارتباط فامیلی به مطالعه وارد نشدند. معیارهای ورود برای گروه کنترل شامل داشتن نژاد قفقازی، زندگی کردن از بدو تولد در شهر اردبیل و سنّ کمتر از ۶۵ سال و معیارهای عدم ورود شامل هرگونه ارتباط فامیلی، داشتن سابقه خانوادگی ابتلا به دیابت و داشتن اختلال تحمل گلوکز بود. همچنین عدم رضایت برای ادامه شرکت در مطالعه، معیار خروج در دو گروه در نظر گرفته شد. کلیه شرکت‌کنندگان قبل از جمع‌آوری داده‌ها پرسشنامه‌های سلامت و فعالیت بدنی روزانه و فرم رضایت آگاهانه

را تکمیل و تأیید کردند [۱۷]. جمع‌آوری داده‌ها طی دو جلسه صورت گرفت. ابتدا طی یک جلسه توجیهی همراه با توضیح اهداف پژوهش، اندازه‌گیری پارامترهای آنتروپومتریک شامل قد و وزن، (به‌وسیله دستگاه قد و وزن‌سنج مد سکا Seca 284, Medical Measuring Systems and Scales since 1840, Germany) انجام شد [۱۷]. سپس طی جلسه دیگری نمونه‌گیری خون و برخی از اطلاعات جمعیت‌شناختی که از فاکتورهای اصلی مورد بررسی بودند، با استفاده از یک پرسشنامه استاندارد طراحی‌شده توسط محقق انجام شد. جمع‌آوری و اندازه‌گیری کلیه فاکتورهای مورد بررسی در دانشگاه محقق اردبیلی در نیمه دوم سال ۱۳۹۹ انجام شد.

جمع‌آوری داده‌های تن‌سنجی

اطلاعات جمعیت‌شناختی شامل سن، جنسیت و سابقه خانوادگی ابتلا به دیابت طی جلسه دوم جمع‌آوری شد، به‌طور ویژه به‌وسیله پرسشنامه استاندارد طراحی‌شده توسط محقق سن و مدت ابتلا به دیابت، نوع و دوز داروی مصرفی و سنّ شروع و مدت‌زمان (سابقه تزریق به سال) تزریق انسولین به دقت ثبت شد.

نمونه‌گیری خون

نمونه‌های خون از ورید پیش‌کوبیتال پس از یک‌شب ناشتایی و با پرهیز از مصرف دارو (فقط در صبح روز نمونه‌گیری) جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون در لوله حاوی ضدانعقاد (EDTA) برای استخراج DNA جمع‌آوری و بلافاصله روی یخ قرار داده و به یخچال ۴- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

استخراج DNA

استخراج DNA از لنفوسیت‌های خون محیطی با استفاده از روش استاندارد رسوب‌دهی نمک (salting out) که توسط میلر و همکاران [۱۸] معرفی شده است، انجام شد. تعیین خلوص، غلظت و کیفیت DNA ژنومی با استفاده از اسپکتروفتومتری مرئی – فرابنفش (NanoDrop OneC Microvolume UV-Vis Spectrophotometer; ThermoFisher Scientific, USA) با نسبت جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر بررسی شد. آنالیز مولکولی و بررسی ژنوتیپی پلی‌مورفیسم‌ها با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (T-ARMS-PCR) که توسط حسین و همکاران [۱۹] شرح داده شده است، انجام شد. پرایمرها با استفاده از نرم‌افزار طراحی پرایمر آنلاین (Primer3. 4.1.0) طراحی شدند. توالی پرایمرهای مورد استفاده در جدول شماره ۱ ذکر شده است. سپس توالی هدف برای هر پلی‌مورفیسم با استفاده از یک ترموسایکلر (Bio Rad- T100 PCR thermal cycler- USA) از طریق واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR)، با حجم کلی ۲۰ میکرولیتر (شامل ۱۰ میکرولیتر مستر میکس (PCR Master Mix, 2X, SinaClon, Iran)، ۷ میکرولیتر آب مقطر بدون نوکلئاز، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول (pmol) و ۱ میکرولیتر از DNA الگو با میانگین غلظت ۲۵۰ (ng/µL) تکثیر شد. برنامه چرخه ترموسایکلر برای سه SNPs به شرح زیر بود: واسرشته‌سازی اوّلیه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۰ چرخه شامل واسرشته‌سازی در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۶۰ ثانیه، اتصال پرایمر به DNA به‌مدت یک دقیقه و ۳۰ ثانیه (دمای ۵۱ درجه سانتی‌گراد برای rs۱۷۳۰۰۵۳۹، دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد برای rs۲۲۴۱۷۶۶، دمای ۵۲ درجه سانتی‌گراد برای rs۱۵۰۱۲۹۹)، بسط ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد و بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه بود. محصولات تکثیرشده PCR برای ارزیابی اندازه باند با استفاده از ژل آگاروز ۲ درصد که با سیف استین رنگ‌آمیزی شده بود، بررسی و با نور ماوراءبنفش (UV) آشکارسازی و مشاهده شدند. پهنای باند محصول PCR تکثیرشده با یک لدر استاندارد مقایسه شد و ژنوتیپ هر نمونه برای هر یک از پلی‌مورفیسم‌ها ثبت شد.

جدول شماره ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در PCR برای تکثیر SNPها (T/G ۴۵ +، G/T ۲۷۶ + و G/A ۱۱۳۹۱-)

کد شناسایی پلی‌مورفیسم	نام ژن	موقعیت کروموزوم	موقعیت عملکردی	آلل (غالب / مغلوب)	توالی پرایمر	اندازه باند
rs۱۷۳۰۰۵۳۹	ADIPOQ	۳q۲۷/۳ (۱۸۶۸۴۱۶۷۱)	پروموتر	-۱۱۳۹۱ G/A	OF=5’-AATGGTGGACTTGACTTTAC-3’ IF=5’-GTGTGGCTTGCTAGAATCG-3’ IR=5’-GAAGGGCAGGATCTGTGCT-3’ OR=5’-TTTAGGCTTGAAGTGGCAAC-3’	۲۸۳ ۱۲۵ ۲۱۹
rs۲۲۴۱۷۶۶	ADIPOQ	۳q۲۷/۳ (۱۸۶۸۴۱۶۷۱)	اگزون ۲	+۴۵T/G	OF=5’-AATGGTGGACTTGACTTTAC-3’ IF=5’-TGCTATTAGCTCTGCCCAGT-3’ IR=5’-TCGTGGTTTCCTGGTCAAGC-3’ OR=5’-TTTAGGCTTGAAGTGGCAAC-3’	۲۸۳ ۲۹۲ ۱۵۳
rs۱۵۰۱۲۹۹	ADIPOQ	۳q۲۷/۳ (۱۸۶۸۴۱۶۷۱)	اینترون ۲	+۲۷۶ G/T	OF=5’-ATGACCAGGAAACCACGACT-3’ IF=5’-CACTGATATAAACTATATGGAGG-3 IR=5’-GCCTTAGTTAATGACTGA-3’ OR= 5’-AGAGGCACCATCTACACTCA-3’	۳۴۹ ۱۴۲ ۲۵

تحلیل آماری

از آزمون کای‌اسکوار (χ^2) برای بررسی تفاوت در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل هر پلی‌مورفیسم بین گروه‌های کنترل و بیماران استفاده شد. همچنین بررسی تعادل هاردی - واینبرگ از طریق آزمون $\chi 2$ انجام شد. برای مقایسه تفاوت بین گروهی ویژگی‌های پایه، از آزمون‌های تی مستقل یا $\chi 2$ با توجه به نوع متغیر استفاده شد. تفاوت بین ژنوتیپی برای متغیرهای مورد بررسی با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک‌راهه (One Way ANOVA) صورت گرفت و تفاوت بین آللی هر پلی‌مورفیسم برای متغیرها از طریق آزمون تی مستقل بررسی شد. نسبت شانس (با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) هر پلی‌مورفیسم برای پیش‌بینی خطر ابتلای زودرس و دریافت زودتر انسولین با استفاده از تحلیل رگرسیون لجستیک مورد ارزیابی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از بسته آماری SPSS نسخه ۲۶(SPSS Inc., Chicago, USA) مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند.

نتایج

ویژگی‌های پایه مربوط به دو گروه کنترل (n:۱۵۵) و بیماران (n:۱۸۲) در جدول شماره ۲ ارائه شده است. دو گروه از لحاظ سن، قد و وزن، هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری ندارند (به‌ترتیب: P=۰/۴۴۴، P=۰/۱۳۵ و P=۰/۲۱۵). همچنین در این جدول سابقه مصرف انسولین و تعداد بیماران دریافت‌کننده انسولین ذکر شده است.

جدول شماره ۲- ویژگی‌های پایه افراد مورد مطالعه

متغیر	کنترل	بیماران	P *
تعداد نمونه	۱۵۵	۱۸۲	--
جنسیت تعداد (درصد)	مرد: (۶۰/۶٪) ۹۴ زن: (۳۹/۴٪) ۶۱	مرد: (۵۶/۶٪) ۱۰۳ زن: (۴۳/۶٪) ۷۹	۰/۵۰۶
سن (سال)	۵۵/۳۰ ± ۵/۷۶	۵۶/۴۰ ± ۵/۶۹	۰/۴۴۴
سابقه ابتلا به دیابت (سال)	--	۱۴/۸۰ ± ۴/۰	--
قد (سانتی‌متر)	۱/۶۸ ± ۰/۰۶	۱/۶۵ ± ۰/۰۸	۰/۱۳۵
وزن (کیلوگرم)	۷۹/۲۲ ± ۱۱/۷۹	۷۷/۷۱ ± ۱۰/۵۳	۰/۲۱۵
دریافت انسولین (نفر)	--	دریافت: ۷۹ نفر عدم دریافت: ۱۰۳ نفر	--
سابقه دریافت انسولین (سال)	--	۸/۱۰ ± ۸/۷۸	--

*P از طریق آزمون‌های تی مستقل و کای اسکوار در شرایط مناسب آن محاسبه شده است. ویژگی‌های پایه شرکت‌کنندگان دو گروه شاهد و مورد از طریق آزمون‌های نامبرده با یکدیگر مقایسه شده است.

تعادل هاردی – واینبرگ

فراوانی ژنوتیپی مشاهده‌شده همه پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه در گروه کنترل با فراوانی ژنوتیپی مورد انتظار در تعادل هاردی - واینبرگ مطابقت داشت (P≥۰/۰۵).

تجزیه‌وتحلیل تفاوت در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل بین دو گروه مورد و شاهد

جدول شماره ۳ توزیع ژنتیکی را در سه پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در هر گروه به‌طور مجزا و اختلاف بین دو گروه مورد و شاهد را نشان می‌دهد. فقط در SNP+۴۵T/G هم در توزیع ژنوتیپ و هم فراوانی آلل بین دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده شد ($P_{ژنوتیپ}$= ۰/۰۰۷، $P_{آلل}$= ۰/۰۰۱). در سایر پلی‌مورفیسم‌ها هیچ اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نشد.

جدول شماره ۳- تفاوت توزیع ژنوتیپ و آلل پلی‌مورفیسم‌های موردمطالعه در گروه‌های مورد و شاهد

پلی‌مورفیسم	ژنوتیپ / آلل	کنترل	بیمار	*P
rs۱۵۰۱۲۹۹ (+۲۷۶G/T)	GG	۹۳ (٪۶۰/۰)	۱۱۷ (٪۶۴/۳)	۰/۵۷۹
	GT	۵۴ (٪۳۴/۸)	۵۹ (٪۳۲/۴)	
	TT	۸ (٪۵/۲)	۶ (٪۳/۳)	
	G allele	۲۴۰	۲۹۳	۰/۲۴۳
	T allele	۷۰	۷۱	
rs۲۲۴۱۷۶۶ (+۴۵T/G)	TT	۱۱۹ (٪۷۶/۸)	۱۱۳ (٪۶۲/۱)	۰/۰۰۷*
	TG	۳۱ (٪۲۰/۰)	۵۲ (٪۲۸/۶)	
	GG	۵ (٪۳/۲)	۱۷ (٪۹/۳)	
	T allele	۲۶۹	۲۷۸	۰/۰۰۱*
	G allele	۴۱	۸۶	
rs۱۷۳۰۰۵۳۹ (-۱۱۳۹۱ G/A)	GG	۱۳۳ (٪۸۵/۸)	۱۳۷ (۷۵٪/۳)	۰/۰۵۴
	GA	۱۹ (٪۱۲/۳)	۳۹ (٪۲۱/۴)	
	AA	۳ (٪۱/۹)	۶ (٪۳/۳)	
	G allele	۲۸۵	۳۱۳	۰/۰۶۸
	A allele	۲۵	۵۱	

*P: از طریق آزمون‌های کای‌اسکوار یا آزمون دقیق فیشر به‌منظور مقایسه توزیع ژنوتیپ و آلل بین دو گروه حساب شده است.

نتایج بررسی تفاوت میانگین متغیرها بین ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه

در جدول شماره ۴ نتایج مربوط به بررسی تفاوت بین ژنوتیپ‌ها (در هر پلی‌مورفیسم به‌طور مجزا) ارائه شده است. فقط در SNP +۴۵T/G اختلاف بین ژنوتیپ‌ها برای متغیرهای سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع دریافت انسولین معنی‌دار بود (به‌ترتیب: P=۰/۰۳۵، P=۰/۰۴۸). نتایج آزمون تعقیبی نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های TG و TT با کمتر بودن سنّ ابتلا در حاملین ژنوتیپ TG وجود دارد (P=۰/۰۳۲). نتایج آزمون تعقیبی برای متغیر سنّ شروع انسولین‌درمانی در SNP+۴۵T/G به‌طور مشابه اختلاف معنی‌داری را بین حاملین ژنوتیپ TG و TT نشان داد، به‌طوری‌که سنّ شروع دریافت انسولین در حاملین ژنوتیپ TG کمتر بود (P=۰/۰۵۰).

جدول شماره ۴- نتایج آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه در بررسی تفاوت متغیرهای سنّ ابتلا، طول دوره ابتلا، سنّ شروع انسولین‌درمانی و طول دوره دریافت انسولین بین ژنوتیپ‌ها در هر پلی‌مورفیسم

پلی‌مورفیسم	متغیر	ژنوتیپ			ANOVA p-value	P (مقایسه‌های زوجی)		
		هموزیگوت نرمال	هتروزیگوت	هموزیگوت جهش‌یافته		۱ & ۲	۲ & ۳	۳ & ۱
rs۱۵۰۱۲۹۹ (+۲۷۶ G/T)	سنّ ابتلا به دیابت	۳۹/۶۲ ± ۳/۹	۳۸/۸۳ ± ۳/۸	۳۹/۳۳ ± ۱/۶	۰/۴۹۳	--	--	--
	دوره ابتلا به دیابت	۱۷/۳۷ ± ۳/۷	۱۷/۳۰ ± ۳/۷	۱۶/۵۰ ± ۲/۷	۰/۸۵۵	--	--	--
	سنّ شروع انسولین‌درمانی	۵۱/۰۶ ± ۴/۴	۴۹/۵۷ ± ۴/۶	۴۸/۶۰ ± ۲/۵	۰/۲۵۸	--	--	--
	دوره مصرف انسولین	۷/۹۴ ± ۳/۷	۸/۷۴ ± ۳/۹	۶/۸۰ ± ۴/۲	۰/۵۱۸	--	--	--
rs۲۲۴۱۷۶۶ (+۴۵T/G)	سنّ ابتلا به دیابت	۳۹/۹۷ ± ۳/۷	۳۷/۶۰ ± ۴/۰۹	۳۸/۱۲ ± ۳/۵	۰/۰۳۵*	۰/۰۳۲	۰/۰۶۳	۰/۰۶۵
	دوره ابتلا به دیابت	۱۷/۴۶ ± ۳/۷	۱۷/۳۷ ± ۳/۸	۱۶/۲۹ ± ۲/۶	۰/۴۸۲	--	--	--
	سنّ شروع انسولین‌درمانی	۵۰/۹۸ ± ۴/۳۳	۴۹/۶۷ ± ۴/۹۷	۵۱/۱۷ ± ۲/۸۵	۰/۰۴۸ *	۰/۰۵۰	۰/۹۲۳	۰/۲۳۲
	دوره مصرف انسولین	۸/۰۹ ± ۳/۶	۸/۷۲ ± ۴/۲۵	۶/۳۳ ± ۳/۶	۰/۴۱۳	--	--	--
rs۱۷۳۰۰۵۳۹ (-۱۱۳۹۱ G/A)	سنّ ابتلا به دیابت	۳۹/۳۲ ± ۴/۰۲	۳۹/۶۴ ± ۳/۳	۳۹/۸۳ ± ۳/۹	۰/۸۶۹	--	--	--
	دوره ابتلا به دیابت	۱۷/۴۷ ± ۳/۶	۱۶/۵۹ ± ۳/۸	۱۷/۶۷ ± ۳/۲	۰/۲۸۳	--	--	--
	سنّ شروع انسولین‌درمانی	۵۰/۸۴ ± ۴/۷	۴۹/۰۰ ± ۳/۳	۵۱/۰۰ ± ۱/۱	۰/۰۷۴	--	--	--
	دوره مصرف انسولین	۷/۸۵ ± ۳/۵	۹/۲۵ ± ۴/۴	۶/۵۰ ± ۴/۹	۰/۳۵۵	--	--	--

*P: از طریق آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) حساب شده است و علامت ستاره معنی‌دار بودن اختلاف را نشان می‌دهد.

نتایج بررسی تفاوت میانگین متغیرها بین آلل‌ها

برای بررسی دقیق‌تر اختلاف بین آلل‌های نرمال و جهش‌یافته، هر یک از پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه برای متغیرهای سن و دوره ابتلا و همچنین سن و دوره دریافت انسولین با استفاده از آزمون آماری تی مستقل بررسی شد. سنّ ابتلا به دیابت در SNP+۴۵T/G بین دو آلل اختلاف معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری‌که در آلل جهش‌یافته سنّ ابتلا به دیابت کمتر بود (P=۰/۰۱۲). نتایج بررسی اختلاف بین آلل نرمال و جهش‌یافته در سایر پلی‌مورفیسم‌های مورد بررسی برای هیچ‌یک از متغیرها معنی‌دار نبود.

جدول شماره ۵- نتایج آزمون آماری تی مستقل در بررسی تفاوت متغیرهای سنّ ابتلا، طول دوره ابتلا، سنّ شروع مصرف انسولین و طول دوره مصرف بین آلل‌ها در هر پلی‌مورفیسم

پلی‌مورفیسم	متغیر	آلل نرمال	آلل جهش‌یافته	P
rs۱۵۰۱۲۹۹ (+۲۷۶ G/T)	سنّ ابتلا به دیابت	۳۹/۶۲± ۳/۹	۳۸/۸۸± ۳/۶	۰/۲۳۹
	دوره ابتلا به دیابت	۱۷/۳۷ ± ۳/۷	۱۷/۲۱± ۳/۵۹	۰/۷۹۳
	سنّ شروع انسولین‌درمانی	۵۰/۷۸ ± ۴/۳۲	۵۰/۰۹ ±۴/۶۶	۰/۱۱۱
	دوره مصرف انسولین	۷/۹۴ ± ۳/۷	۸/۳۹ ± ۳/۹	۰/۶۲۳
rs۲۲۴۱۷۶۶ (+۴۵T/G)	سنّ ابتلا به دیابت	۳۹/۹۷ ± ۳/۷	۳۷/۴۸ ± ۳/۹	۰/۰۱۲*
	دوره ابتلا به دیابت	۱۷/۴۶ ± ۳/۷	۱۷/۱۰ ± ۳/۵	۰/۵۲۳
	سنّ شروع انسولین‌درمانی	۵۰/۹۸ ± ۴/۳۳	۴۹/۲۹ ± ۴/۶	۰/۱۲۱
	دوره مصرف انسولین	۸/۰۹ ± ۳/۶	۸/۱۳ ± ۴/۱۷	۰/۹۶۹
rs۱۷۳۰۵۳۹ (-۱۳۹۱ G/A)	سنّ ابتلا به دیابت	۳۹/۳۲ ± ۴/۰۲	۳۹/۶۷ ± ۳/۳	۰/۵۷۰
	دوره ابتلا به دیابت	۱۷/۴۷ ± ۳/۶	۱۶/۸۷ ± ۳/۸	۰/۳۵۳
	سنّ شروع انسولین‌درمانی	۵۰/۴۴ ± ۴/۷	۴۹/۲۲ ± ۳/۲	۰/۱۰۳
	دوره مصرف انسولین	۷/۸۵ ± ۳/۵	۸/۹۴±۴/۴	۰/۲۸۵

* *P*: از طریق آزمون تی مستقل برای بررسی اختلاف متغیرهای وابسته بین آلل‌های نرمال و جهش‌یافته حساب شده است و علامت ستاره، معنی‌داری را نشان می‌دهد.

نتایج آزمون‌های تکمیلی برای بررسی نسبت شانس خطر ابتلای زودرس به دیابت نوع دو در هر یک از پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه

برای بررسی دقیق‌تر، بیماران به دو گروه بیماران با سنّ ابتلای کمتر از ۳۵ سال (گروه الف) و بیماران با سنّ بیشتر از ۳۵ سال (گروه ب) تقسیم‌بندی شدند، جدول شماره ۷ توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل را در دو گروه مذکور نشان می‌دهد. فقط توزیع ژنوتیپ (P=۰/۰۱۳) و فراوانی آلل (P=۰/۰۰۸) در SNP+۴۵T/G بین دو گروه اختلاف معنی‌داری را نشان داد (P=۰/۰۱۳). در گروه الف، ژنوتیپ TG ۴۸/۶ درصد از توزیع را به خود اختصاص داده بود، درحالی‌که در گروه ب، فقط ۲۳/۴ درصد از توزیع ژنوتیپ، به TG اختصاص داشت. نتایج رگرسیون لجستیک نشان داد که حاملین ژنوتیپ SNP + ۴۵T/G TG ۲/۳۸۱ برابر شانس خطر بیشتری برای ابتلای زودرس به دیابت داشتند (P=۰/۰۰۶، CI=۱/۴۳۰– ۷/۹۹۴، OR=۲/۳۸۱). در این مورد حاملین آلل G نسبت به آلل T ۱/۵۸۷ برابر شانس خطر بیشتری برای ابتلا به دیابت نوع دو در سنّ کمتر از ۳۵ سال داشتند (P=۰/۰۱۸، CI=۱/۱۸۰–۵/۶۷۱، OR=۱/۵۸۷).

جدول شماره ۶- نتایج بررسی تفاوت توزیع ژنوتیپ و آلل برحسب سنّ ابتلای ۳۵ ≤ و سنّ ۳۵< در بیماران و پیش‌بینی خطر هر پلی‌مورفیسم برای ابتلای زودرس به دیابت

پلی‌مورفیسم	ژنوتیپ / آلل	ابتلا در سنّ ۳۵ سالگی و کمتر (نفر۳۷) (گروه الف)	ابتلا در سنّ بالای ۳۵ سالگی (۱۴۵ نفر) (گروه ب)	P *	OR تنظیم‌شده (CI ٪۹۵)	P **
rs۱۵۰۱۲۹۹ (+۲۷۶ G/T)	GG	۲۱(۵۶٪/۸)	۹۶(۶۶٪/۲)	۰/۱۶۴	مرجع	--
	GT	۱۶(۴۳٪/۲)	۴۳(۲۹٪/۷)		۱/۷۰۱ (۰/۸۰۹ –۳/۵۷۷)	۰/۱۶۱
	TT	۰(۰٪/۰)	۶(۴٪/۱)		۰	۰
	G allele	۵۸	۲۳۵	۰/۸۴۱	مرجع	--
	T allele	۱۶	۵۵		۱/۳۰۲ (۰/۵۴۳ – ۳/۱۲۲)	۰/۵۵۴
rs۲۲۴۱۷۶۶ (+۴۵T/G)	TT	۱۶(۴۳٪/۲)	۹۷(۶۶٪/۹)	۰/۰۱۳*	مرجع	--
	TG	۱۸(۴۸٪/۶)	۳۴(۲۳٪/۴)		۲/۳۸۱ (۱/۴۳۰ – ۷/۹۹۴)	۰/۰۰۶**
	GG	۳(۸٪/۱)	۱۴(۹٪/۷)		۱/۲۷۵ (۰/۳۱۲ – ۵/۲۱۷)	۰/۷۷۵
	T allele	۵۰	۲۲۸	۰/۰۰۸*	مرجع	--
	G allele	۲۷	۶۲		۱/۵۸۷ (۱/۱۸۰ – ۵/۶۷۱)	۰/۰۱۸**
rs۱۷۳۰۰۵۳۹ (-۱۱۳۹۱ G/A)	GG	۳۱(۸۳٪/۸)	۱۰۶(۷۳٪/۱)	۰/۳۹۶	مرجع	--
	GA	۵(۱۳٪/۵)	۳۴(۲۳٪/۴)		۰/۳۳۲ (۰/۱۰۸– ۱/۰۲۴)	۰/۰۵۵
	AA	۱(۲٪/۷)	۵(۳٪/۴)		۱/۱۱۴ (۰/۱۱۲ – ۱۱/۱۰۰)	۰/۹۲۷
	G allele	۶۷	۲۴۶	۰/۱۲۸	مرجع	--
	A allele	۶	۴۴		۰/۴۳۶ (۰/۱۵۵ – ۱/۲۲۵)	۰/۱۱۵

OR: odds ratio، یا نسبت شانس با فاصله اطمینان ۹۵٪

* P: از طریق آزمون‌های کای‌اسکوار یا آزمون دقیق فیشر برای مقایسه توزیع ژنوتیپ بین دو گروه بیماران با سنّ ابتلای کمتر از ۳۵ سال و بیماران با سنّ ابتلای بالای ۳۵ سال حساب شده است.

** P: از طریق آزمون رگرسیون لجستیک برای بررسی نسبت شانس هر ژنوتیپ برای ابتلا به دیابت در سنّ کمتر از ۳۵ سال حساب شده است.

نتایج آزمون تکمیلی برای بررسی نسبت شانس دریافت زودرس انسولین در هر یک از پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه

بررسی تکمیلی نشان داد که بین دو گروه بیمارانی که انسولین دریافت می‌کردند (۷۹ نفر) و بیمارانی که انسولین دریافت نمی‌کردند (۱۰۳ نفر)، تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل هیچ‌یک از پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه وجود ندارد. نتایج آزمون رگرسیون لجستیک هم برای هیچ‌یک از پلی‌مورفیسم‌ها معنی‌دار نبود.

جدول شماره ۷- نتایج بررسی تفاوت توزیع ژنوتیپ و آلل برحسب دریافت و یا عدم دریافت انسولین در بیماران و پیش‌بینی شانس هر پلی‌مورفیسم برای دریافت انسولین

پلی‌مورفیسم	ژنوتیپ / آلل	بیماران بدون دریافت انسولین (۱)	بیماران با دریافت انسولین (۲)	P *	OR تنظیم‌شده (CI ٪۹۵)	P **
rs۱۵۰۱۲۹۹ (+۲۷۶ G/T)	GG	۷۲ (۶۹٪/۹)	۴۵(٪۵۷)	۰/۰۵۴	مرجع	--
	GT	۳۰ (٪۲۹/۱)	۲۹ (٪۳۶/۷)		۱/۵۴۷ (۰/۸۲۲ –۲/۹۰۹)	۰/۱۷۶
	TT	۱ (٪۱)	۵ (٪۶/۳)		۲/۵۴۲ (۱/۲۰۲ –۸/۳۷۴)	۰/۰۶۱
	G allele	۱۷۴	۱۱۹	۰/۰۸۶	مرجع	--
	T allele	۳۲	۳۹		۱/۷۵۵ (۰/۹۵۱ –۳/۲۳۹)	۰/۷۲
rs۲۲۴۱۷۶۶ (+۴۵T/G)	GG	۵۸ (٪۵۶/۳)	۵۵ (٪۶۹/۶)	۰/۱۸۶	مرجع	--
	GA	۳۴ (٪۳۳/۰)	۱۸ (٪۲۲/۸)		۰/۵۶۵ (۰/۲۷۴ – ۱/۱۲)	۰/۱۲۱
	AA	۱۱ (٪۱۰/۷)	۶ (٪۷/۶)		۰/۷۱۵ (۰/۲۳۴ – ۲/۱۸۲)	۰/۵۵
	G allele	۱۵۰	۱۲۸	۰/۰۹۰	مرجع	--
	A allele	۵۶	۳۰		۱/۸۳۶ (۰/۹۲۱ – ۳/۶۶۰)	۰/۰۸۴
rs۱۷۳۰۰۵۳۹ (-۱۱۳۹۱ G/A)	TT	۷۵ (٪۷۲/۸)	۶۲ (٪۴۵/۳)	۰/۶۶۱	مرجع	--
	TG	۲۴ (٪۲۳/۳)	۱۵ (٪۱۹/۰)		۰/۸۳۷ (۰/۳۸۹ – ۱/۸۰۲)	۰/۶۵
	GG	۴ (٪۳/۹)	۲ (٪۲/۵)		۰/۴۵۵ (۰/۰۷۴ – ۲/۷۹۱)	۰/۳۹
	T allele	۱۷۴	۱۳۹	۰/۲۴۱	مرجع	--
	G allele	۳۲	۱۹		۰/۷۷۲ (۰/۳۷۴ – ۱/۵۹۵)	۰/۴۸

OR: odds ratio، یا نسبت شانس با فاصله اطمینان ۹۵٪

*P: از طریق آزمون‌های کای‌اسکوار یا آزمون دقیق فیشر برای بررسی نحوه توزیع ژنوتیپ هر یک از پلی‌مورفیسم‌ها در دو گروه بیمارانی که انسولین دریافت می‌کنند و بیمارانی که انسولین دریاقت نمی‌کنند، حساب شده است.

** P: از طریق آزمون رگرسیون لجستیک برای بررسی نسبت شانس هر ژنوتیپ در دریافت انسولین حساب شده است.

بحث

در این پژوهش ارتباط برخی از پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین با سنّ ابتلا و سنّ شروع انسولین‌درمانی در بیماران مبتلا به T2DM بررسی شد. ابتدا توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل هر یک از پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه در دو گروه شاهد و مورد، همچنین اختلاف بین گروهی مورد بررسی قرار گرفت. فقط SNP+۴۵T/G اختلاف معنی‌داری را در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل بین دو گروه نشان داد، به‌طوری‌که آلل جهش‌یافته در گروه بیماران دو برابر فراوانی بیشتری نسبت به گروه کنترل سالم داشت. نتایج حاضر در این مورد مطابق با نتایج ژانگ و همکاران بود [۲۰]، درواقع SNP+۴۵T/G در جمعیت‌های بسیاری بررسی و در اکثر جمعیت‌ها تفاوت در توزیع ژنتیکی بین بیماران مبتلا به T2DM و افراد سالم گزارش شده است [۱۳]. همچنین طبق نتایج پژوهش‌هایی که در جمعیت ایرانی صورت گرفته است، تخشیدی و همکاران [۲۱] در بررسی تفاوت توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل SNP+۴۵T/G در زنان باردار مبتلا به دیابت بارداری و سالم نشان دادند که توزیع ژنوتیپ بین دو گروه، تفاوت معنی‌داری دارد به‌طوری‌که فراوانی ژنوتیپ‌های TG و GG در بیماران به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل سالم بیشتر بود. این نتایج مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر است. طبق یافته‌های پژوهش حاضر اختلاف معنی‌داری بین دو گروه شاهد و مورد در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل SNP+۲۷۶ مشاهده نشد که این نتایج مطابق با یافته‌های علیمی و همکاران در جمعیت ایرانی بود [۲۲]. همچنین نتایج این پژوهش در مورد توزیع ژنوتایپ و فراوانی آلل SNP-۱۱۳۹۱G/A بین دو گروه شاهد و مورد هیچ گونه تفاوت معنی داری نشان نداد، قابل ذکر است که این پلی مورفیسم در این پژوهش برای اولین بار در جمعیت ایرانی بررسی شده است. در ادامه بررسی شد که آیا نوع ژنوتیپ با سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع دریافت انسولین ارتباط دارد. طبق نتایج، فقط در SNP+ ۴۵T/G متغیرهای سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع دریافت انسولین بین ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. نتایج آزمون تعقیبی نشان داد، حاملین ژنوتیپ هتروزیگوت SNP+۴۵T/G به‌طور معنی‌داری، سنّ ابتلا به دیابت و سنّ شروع انسولین‌درمانی کمتری را نسبت به حاملین ژنوتیپ نرمال داشتند. در ادامه برای بررسی دقیق‌تر، بیماران به دو گروه افراد با سنّ ابتلای کمتر از ۳۵ سال (گروه الف) و بیشتر از ۳۵ سال (گروه ب) تقسیم شدند و اختلاف بین دو گروه با در نظر گرفتن نوع ژنوتیپ مورد بررسی قرار گرفت که ۳۷ نفر از ۱۸۲ نفر بیمار دیابتی، سنّ ابتلای کمتر از ۳۵ سال داشتند. از بین سه پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در SNP+۴۵T/G در گروه الف ۴۸/۶ درصد افراد حامل ژنوتیپ هتروزیگوت بودند. درحالی‌که در گروه ب ۲۳/۴ درصد از بیماران ژنوتیپ هتروزیگوت یا هموزیگوت جهش‌یافته داشتند. به‌عبارتی تعداد کمی از بیمارانی که سنّ ابتلای بالای ۳۵ سال داشتند، حامل آلل جهش‌یافته بودند. در این راستا، نتایج رگرسیون لجستیک نشان داد که به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای نسبت شانس افرادی که حامل ژنوتیپ هتروزیگوت بودند برای ابتلا به دیابت زودرس (ابتلا در سنّ کمتر از ۳۵ سال) بیشتر بود. هرچند تاکنون هیچ پژوهشی رابطه بین پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی ژن آدیپونکتین را با سنّ شروع دیابت و سنّ شروع انسولین‌درمانی مورد بررسی قرار نداده است و پژوهش حاضر اوّلین مطالعه در این زمینه است؛ اما در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۲۱ به بررسی ارتباط ۲۳ پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی ژن‌های مرتبط با دیابت بر سنّ ابتلا به بیماری پرداخته شده است، یافته‌ها حاکی از ارتباط بالقوه واریانت‌های ژنتیکی با سنّ شروع دیابت بوده است. کاهش سنّ ابتلا به دیابت در سال‌های اخیر کاملاً مشهود بوده است که پژوهشگران عوامل بسیاری را در آن دخیل دانسته‌اند؛ از جمله تغذیه نادرست و سبک زندگی کم‌تحرک، از طرفی پژوهش‌های پیشین شیوع دیابت زودرس را در برخی از گروه‌های قومیتی بیشتر گزارش کرده‌اند. طبق گزارش این مقالات به‌زودی در برخی از قومیت‌ها T2DM به یک بیماری غالب تبدیل خواهد شد. همچنین اغلب کسانی که به دیابت زودرس مبتلا می‌شوند، سابقه خانوادگی چند نسلی قوی ابتلا به T2DM دارند [۲۳،۶]. به‌طور مثال حدود ۸۴ درصد از نوجوانان بریتانیایی مبتلا به T2DM دارای سابقه خانوادگی هستند [۲۴،۲۳،۳]. بر این اساس استعداد ژنتیکی نقش مهمّی در خطر ابتلا به T2DM زودرس دارد. این یافته‌ها نشانه خوبی است تا در واریانت‌های ژنتیکی دلایل شیوع دیابت زودرس بررسی شود. ارتباط واریانت‌های ژن آدیپونکتین با T2DM به‌خصوص ۴۵T/G +SNP در پژوهش‌های بسیاری و در قومیت‌ها و نژادهای مختلف تأیید شده است. البته دیابت الگوی وراثت چندعاملی دارد و به نظر می‌رسد سهم ژن‌های مرتبط در کنار هم می‌تواند اثر قابل‌ملاحظه‌ای را بر ابتلای زودرس و پیشرفت سریع بیماری ایجاد کند. نتایج مطالعه‌ای مروری نشان می‌دهد که واریانت‌های ژن آدیپونکتین به‌شدت با T2DM همچنین دیابت نوع یک و دیابت بارداری مرتبط است [۱۳] البته نه یک جهش خاص به‌تنهایی، بلکه تعدادی از SNPهای ژن آدیپونکتین به‌طور همزمان و هم‌افزا می‌توانند عامل خطر بالقوه‌ای برای ابتلا به دیابت باشند. طبق نتایج یک مطالعه مروری، دیابت زودرس بسیار پیچیده است و عوارض میکروواسکولار و ماکروواسکولار، اغلب در مراحل اوّلیه و با فراوانی بیشتر از دیابت نوع یک در بیماران نمایان می‌شود [۳]. در

این راستا در پژوهش حاضر یک ارتباط بین ژنوتیپ‌های ۴۵T/G +SNP و پیشرفت سریع‌تر بیماری یافت شد. طبق نتایج مشاهده شده در پژوهش حاضر، حاملین آلل جهش‌یافته نسبت به حاملین آلل نرمال از ۴۵T/G+SNP سنّ شروع انسولین‌درمانی کمتری داشتند که این نشان می‌دهد سرعت پیشرفت بیماری در این افراد بیشتر بوده است.

در بررسی پاتوفیزیولوژی T2DM تغییر و برهم خوردن تعادل بین حساسیت به انسولین و ترشح انسولین مهم‌ترین عامل در پیشرفت بیماری است. نوجوانان مبتلا به اختلال در تنظیم گلوکز در ترشح انسولین نسبت به کاهش حساسیت به انسولین اختلال بیشتری نشان می‌دهند [۲۵]. در مطالعه بچا و همکاران که در سال ۲۰۱۰ [۲۵] بر روی نوجوانان ۱۵ساله انجام شده است، نتایج حاکی از آن بود که نوجوانان چاق که علائم اختلال در تنظیم گلوکز، از جمله گلوکز ناشتای غیرطبیعی و عدم تحمل گلوکز یا هر دو را نشان می‌دهند، به جای کاهش حساسیت به انسولین، بیشتر در معرض اختلال در ترشح انسولین هستند. بر این اساس، آن‌ها در معرض خطر بالایی برای پیشرفت سریع T2DM می‌باشند. همچنین، کاهش عملکرد سلول‌های بتای (β) پانکراس در جوانان مبتلا به T2DM نسبت به بزرگسالان سریع‌تر است (حدود ۱۵ درصد در سال) [۲۶]. هرچند که در این زمینه نیاز به تحقیقات بیشتر است، اما به‌نظر می‌رسد نتایج پژوهش حاضر نیز همسو با این یافته‌هاست؛ به‌طوری‌که شرکت‌کنندگان با سنّ ابتلای کمتر که حاملین آلل جهش‌یافته بودند، به‌طور معنی‌داری سنّ دریافت انسولین نیز در آنان کمتر بود. پیشنهاد می‌شود این پژوهش در گروه‌های سنی زیر ۲۰ سال مبتلا به دیابت نوع دو، با تعداد نمونه آماری بیشتر و اندازه‌گیری همزمان انسولین انجام شود. نتایج حاصل از این‌چنین پژوهش‌ها می‌تواند به کنترل شیوع T2DM زودرس کمک کند.

نتیجه‌گیری

طبق نتایج پژوهش حاضر می‌توان گفت بین واریانت‌های ژن آدیپونکتین با سنّ ابتلا به دیابت و دریافت زودهنگام انسولین ارتباط معنی‌داری وجود دارد. بنابراین واریانت‌های ژنتیکی می‌توانند یکی از دلایل اصلی در T2DM زودرس و پیشرفت سریع بیماری باشند. بر این اساس شاید بتوان با بررسی ژنوتیپ افراد مستعد، به‌ویژه کسانی که سابقه ابتلای خانوادگی دارند، راهکارهای پیشگیری و درمان به‌موقع را به‌طور هدفمند مورد بررسی قرار داد. شواهد مربوط به ارتباط واریانت‌های ژن آدیپونکتین با کاهش سنّ ابتلا به دیابت و پیشرفت سریع‌تر بیماری می‌تواند درک بهتری در علت و پیشرفت بیماری به وجود بیاورد و شاید نقطه آغازی برای دستیابی به درمان‌های جدید باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از رساله دکتری خانم الهه ممشلی است که بخشی از این رساله با شماره طرح ۹۷۰۱۲۵۳۴ از طرف صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور معاونت علمی و فناوری ریاست جمهوری حمایت مالی شده است.

نویسندگان این مقاله از حمایت دانشگاه محقق اردبیلی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور، بیماران شرکت‌کننده در این پژوهش و تمام افرادی که در اجرا و افزایش کیفیت این پژوهش یاری‌رسان و سهیم بودند، کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References:

[1] Organization WH. Global report on diabetes: executive summary. World Health Organization; 2016.

[2] González EM, Johansson S, Wallander M-A, Rodríguez LG. Trends in the prevalence and incidence of diabetes in the UK: 1996–2005. ***J Epidemiol Community Health*** 2009; 63(4): 332-6.

[3] Wilmot E, Idris I. Early onset type 2 diabetes: risk factors, clinical impact and management. ***Ther Adv Chronic Dis*** 2014; 5(6): 234-44.

[4] Dabelea D, DeGroat J, Sorrelman C, Glass M, Percy CA, Avery C, et al. Diabetes in Navajo youth: prevalence, incidence, and clinical characteristics: the SEARCH for Diabetes in Youth Study. ***Diabetes Care*** 2009; 32(Supplement_2): S141-S7.

[5] Sharp PS, Brown B, Qureshi A. Age at diagnosis of diabetes in a secondary care population: 1992—2005. ***Br J Diabetes Vasc Dis*** 2008; 8(2): 92-5.

[6] Feltbower R, McKinney P, Campbell F, Stephenson C, Bodansky H. Type 2 and other forms of diabetes in 0–30 year olds: a hospital based study in Leeds, UK. ***Arch Dis Child*** 2003; 88(8): 676-9.

[7] Harron KL, Feltbower RG, McKinney PA, Bodansky HJ, Campbell FM, Parslow RC. Rising rates of all types of diabetes in south Asian and non-south Asian children and young people aged 0–29 years in West Yorkshire, UK, 1991–2006. ***Diabetes Care*** 2011; 34(3): 652-4.

[8] Song S, Hardisty C. Early onset type 2 diabetes mellitus: a harbinger for complications in later years—clinical observation from a secondary care cohort. ***Int J Med*** 2009; 102(11): 799-806.

[9] Piko P, Werissa NA, Fiatal S, Sandor J, Adany R. Impact of genetic factors on the age of onset for type 2 diabetes mellitus in addition to the conventional risk factors. ***J Pers Med*** 2020; 11(1): 6.

[10] Mao X, Hong JY, Dong LQ. The adiponectin signaling pathway as a novel pharmacological target. ***Mini Rev Med Chem*** 2006; 6(12): 1331-40.
[11] Hossain MM, Murali MR, Kamarul T. Genetically modified mesenchymal stem/stromal cells transfected with adiponectin gene can stably secrete adiponectin. ***Life Sci*** 2017; 182: 50-6.
[12] Scherer PE, Williams S, Fogliano M, Baldini G, Lodish HF. A novel serum protein similar to C1q, produced exclusively in adipocytes. ***J Biol Chem*** 1995; 270(45): 26746-9.
[13] Howlader M, Sultana MI, Akter F, Hossain MM. Adiponectin gene polymorphisms associated with diabetes mellitus: A descriptive review. ***Heliyon*** 2021; 7(8): e07851.
[14] Hara K, Boutin P, Mori Y, Tobe K, Dina C, Yasuda K, et al. Genetic variation in the gene encoding adiponectin is associated with an increased risk of type 2 diabetes in the Japanese population. ***Diabetes*** 2002; 51(2): 536-40.
[15] González-Sánchez JL, Martínez-Calatrava MaJ, Martinez-Larrad MT, Zabena C, Fernandez-Perez C, Laakso M, et al. Interaction of the− 308G/A promoter polymorphism of the tumor necrosis factor-α gene with single-nucleotide polymorphism 45 of the adiponectin gene: effect on serum adiponectin concentrations in a Spanish population. ***Clin Chem*** 2006; 52(1): 97-103.
[16] Biswas D, Vettriselvi V, Choudhury J, Jothimalar R. Adiponectin gene polymorphism and its association with type 2 diabetes mellitus. ***Indian J Clin Biochem*** 2011; 26(2): 172-7.
[17] Medicine ACoS. ACSM's health-related physical fitness assessment manual. 4nd ed. China: Lippincott Williams & Wilkins; 2013 Jan: 10-73.
[18] Miller SA DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. ***Nucleic Acids Res*** 1988; 16(3): 1215.
[19] Hussain M, Khan HN, Awan FR. Development and application of low-cost T-ARMS-PCR assay for AGT and CYP11B1 gene polymorphisms. ***Mol Biol Rep*** 2019; 46(1): 443-9.
[20] Zhang Z, Li Y, Yang X, Wang L, Xu L, Zhang Q. Susceptibility of multiple polymorphisms in ADIPOQ, ADIPOR1 and ADIPOR2 genes to myocardial infarction in Han Chinese. ***Gene*** 2018; 658: 10-7.
[21] Takhshid MA, Haem Z, Aboualizadeh F. The association of circulating adiponectin and+ 45 T/G polymorphism of adiponectin gene with gestational diabetes mellitus in Iranian population. ***J Diabetes Metab Disord*** 2015; 14(1): 1-7.
[22] Alimi M, Goodarzi MT, Nekoei M. Association of ADIPOQ rs266729 and rs1501299 gene polymorphisms and circulating adiponectin level with the risk of type 2 diabetes in a population of Iran: a case-control study. ***J Diabetes Metab Disord*** 2021; 20(1): 87-93.
[23] Haines L, Wan KC, Lynn R, Barrett TG, Shield JP. Rising incidence of type 2 diabetes in children in the UK. ***Diabetes Care*** 2007; 30(5): 1097-101.
[24] Shield J, Lynn R, Wan K, Haines L, Barrett T. Management and 1 year outcome for UK children with type 2 diabetes. ***Arch Dis Child*** 2009; 94(3): 206-9.
[25] Bacha F, Lee S, Gungor N, Arslanian SA. From pre-diabetes to type 2 diabetes in obese youth: pathophysiological characteristics along the spectrum of glucose dysregulation. ***Diabetes Care*** 2010; 33(10): 2225-31.
[26] Gungor N, Arslanian S. Progressive beta cell failure in type 2 diabetes mellitus of youth. ***J Pediatr*** 2004; 144(5): 656-9.