بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های *TCF7L2* rs11196205 (C/G) و *CAPN10* rs3792267 (G/A) با دیابت نوع دو در جمعیت قوم عرب استان خوزستان

عبداله گراوند[۱]، علی‌محمد فروغمند[۲]*، مهدی پورمهدی بروجنی[۳]

تاریخ دریافت ۱۳۹۷/۰۴/۱۸ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۰۷/۰۶

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: دیابت نوع دو یک بیماری چندعاملی و هتروژنیک است که با نقص در تولید یا عملکرد انسولین مشخص می‌شود. اخیراً از طریق مطالعات گسترده ارتباط ژنومی (GWAS)، همراهی چندین ژن با بیماری دیابت نوع دو نشان داده شده است. هدف از این مطالعه بررسی همراهی پلی‌مورفیسم‌های rs11196205 از ژن *TCF7L2* و rs3792267 از ژن *CAPN10* با دیابت نوع دو در جمعیت قوم عرب استان خوزستان بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد – شاهدی، ۹۸ بیمار دیابتی و ۹۶ فرد سالم به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. تعیین ژنوتیپ این افراد برای rs11196205 با استفاده از فن TETRA ARMS PCR و برای rs3792267 با استفاده از فن PCR-RFLP انجام شد.

یافته‌ها: برای پلی‌مورفیسم *TCF7L2* rs11196205، توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CG، GG در گروه بیماران دیابتی، به ترتیب (۳۴/۶۹ درصد)۳۴، (۵۲/۰۴ درصد)۵۱، (۱۳/۲۶ درصد)۱۳ و در گروه کنترل به ترتیب (۱۹/۷۹ درصد)۱۹، (۶۰/۴۱ درصد)۵۸، (۱۹/۷۹ درصد)۱۹ بود و مقایسه فراوانی دو آلل C و G بین افراد دیابتی و گروه کنترل، اختلاف معنی‌داری را نشان داد (*P*-valu=۰/۰۴). برای پلی‌مورفیسم *CAPN10* rs3792267 نیز، توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GA، AA در بیماران دیابتی به ترتیب (۶۷/۳)۶۶، (۳۲/۷)۳۲، (۰)۰ و در گروه کنترل به ترتیب (۶۴/۶)۶۲، (۳۲/۳)۳۱، (۳/۱)۳ بود. نتایج به‌دست‌آمده از مقایسه فراوانی دو آلل G و A نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین افراد بیمار و کنترل وجود ندارد (*P*=۰/۵۳).

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که آلل C در پلی‌مورفیسم *TCF7L2* rs11196205، خطر ابتلا به دیابت نوع دو را **در** جمعیت قوم عرب استان خوزستان افزایش می‌دهد. پلی‌مورفیسم *CAPN10* rs3792267 همراهی معنی‌داری با بیماری دیابت نوع دو در جمعیت مورد مطالعه نشان نداد.

کلیدواژه‌ها: دیابت نوع دو، ژن *CAPN10*، rs11196205، rs3792267، ژن *TCF7L2*

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره هشتم، ص ۶۱۳-۶۰۳، آبان ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: اهواز، بلوار گلستان، دانشگاه شهید چمران، دانشکده علوم، گروه ژنتیک تلفن: ۰۹۱۶۳۶۳۹۲۲۴

Email: foroughmand.a@scu.ac.ir

مقدمه

دیابت نوع دو (T2DM)، یک بیماری هتروژن است که به‌صورت هیپرگلیسمی، نمود پیدا می‌کند و معمولاً با ناتوانی سلول‌های بتای پانکراس در افزایش ترشح انسولین برای جبران مقاومت به انسولین در بافت‌های محیطی هدف مانند ماهیچه و کبد و سلول‌های چربی مشخص می‌شود (۱ و ۲). دیابت نوع دو بیش از ۹۰ درصد کل موارد دیابت را شامل می‌شود (۳). بیماران دیابتی هرچند ازنظر ویژگی هیپرگلیسمی به هم شبیه هستند اما ازنظر بالینی و آسیب‌شناسی و ژنتیکی ناهمگون هستند (۴). دیابت نوع دو، یک اختلال متابولیکی چندعاملی می‌باشد و چندین عامل ژنتیکی و محیطی مختلف توأمان، استعداد ابتلا به این بیماری را تعیین می‌کنند (۵). در بیشتر موارد ابتلا به دیابت نوع دو تحت تأثیر بسیاری از ژن‌ها است و هر یک از آن‌ها یک فاکتور کوچک در افزایش احتمال ابتلا به دیابت نوع دو می‌باشد (۲). با توجه به تغییر الگوی بیماری‌ها از بیماری‌های عفونی به بیماری‌های مزمن و چندعاملی که تحت تأثیر ژن‌های متعدد با میزان اثر متفاوت هستند می‌توان دیابت را به‌عنوان یک مشکل بزرگ و به‌سرعت گسترش یابنده برای سلامت عمومی جهان معرفی کرد (۶). نه‌تنها هیچ نشانه‌ای از کاهش میزان شیوع دیابت

[۱] کارشناس ارشد ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

[۲] دانشیار ژنتیک، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران (نویسنده مسئول)

[۳] دانشیار اپیدمیولوژی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران، اهواز، ایران

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

نوع دو وجود ندارد؛ بلکه شیوع آن در حال افزایش است و انتظار می‌رود تحت تأثیر عواملی مانند افزایش پیری جمعیت، تغییر سبک زندگی و عادات رژیم غذایی مردم، دیابت نوع دو همچنان یکی از علل اصلی بیماری‌زایی و مرگ‌ومیر باقی بماند (۷ و ۸). پیش‌بینی می‌شود که تعداد افراد مبتلا به دیابت در محدود سنی ۲۰ تا ۷۹ سالگی تا سال ۲۰۴۰ میلادی به ۶۴۲ میلیون نفر در سراسر جهان برسد (۹). محدوده شیوع دیابت نوع دو در آسیا از ۱/۲ درصد تا ۱۴/۶ درصد و در ایران از ۱/۳ درصد (در مناطق روستایی) تا ۱۴/۵ درصد (در شهرهای بزرگ) متغیر بوده است. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (WHO)، میزان شیوع دیابت در سال ۲۰۱۱ در جمعیت بالغین ایران برابر با ۱۰/۳ درصد بود که در مردان ۱۰ درصد و در زنان ۱۰/۴ درصد اعلام شد (۱۰ و ۱۱).

به‌وسیله مطالعات گسترده ژنوم (GWAS) و مطالعات ژن‌های کاندید، تاکنون همراهی بیش از ۴۰ لوکوس ازجمله ژن‌های TCF7L2، CAPN10، FTO، KCNJ11، CDKAL و IRS1 با دیابت نوع دو نشان داده شده است (OMIM, 2013). در میان ژن‌های مستعد کننده به دیابت نوع دو، ژن TCF7L2 بزرگ‌ترین اثر را دارد و واریانت‌های این ژن به‌عنوان قوی‌ترین عوامل خطر ژنتیکی شناخته شده برای دیابت نوع دو مطرح هستند (۲). ژن TCF7L2که TCF4 نیز نامیده می‌شود یک عضو از خانواده TCF و جزء کلیدی از مسیر سیگنال دهی Wnt است. TCF7L2 که دارای ۱۷ اگزون است، نقش مهمی در هوموستاز گلوکز و عملکرد سلول‌های بتا دارد و در محدوده‌ای به طول ۲۱۵، ۸۳۶ جفت باز روی کروموزوم 10q25.3 قرار دارد. تغییر نوکلئوتید C به G در ناحیه ژنی ۱۱۴، ۷۸۵، ۰۳۷ بر روی اینترون چهارم به نام rs11196205 (C/G)است (۱۲). ژن CAPN10 اولین ژن مستعد کننده به بیماری دیابت نوع دو بود که از طریق غربالگری وسیع ژنوم و مطالعات پیوستگی ژنی در جمعیت لاتین و اسپانیایی ایالت تگزاس شناسایی شد (۱۳ و ۱۴). Calpains یک خانواده حفاظت‌شده از سیستئین پروتئازهای داخل سلولی وابسته به کلسیم هستند. ژن CAPN10 در منطقه NIDDM1 واقع شده است و به‌وسیله پیرایش متناوب به‌صورت رونوشت‌های مختلف mRNA در چندین نوع بافت، به‌ویژه آن‌ها که در تنظیم هموستاز گلوکز نقش دارند مانند سلول‌های پانکراس β، کبد، عضله اسکلتی و سلول‌های چربی بیان می‌شود. این ژن هرچند بیان بالایی در قلب و مغز و کبد و کلیه و پانکراس و بافت چربی دارد اما مهم‌ترین نقش آن در بافت‌هایی نظیر عضله اسکلتی است. ژن CAPN10 که بر روی ناحیه کروموزومی q37.32 واقع شده است ۱۵ اگزون دارد. محدوده‌ی آن ۳۱Kb، با احتمالاً دوازده SNP واقع در مناطق مختلف اینترونی است. rs3792267 (G/A) در اینترون سوم واقع شده است (۱۵،۱۶). با توجه به اینکه تاکنون گزارشی از مطالعه همراهی ژن TCF7L2 و ژن CAPN10 با دیابت نوع دو در جمعیت عرب استان خوزستان مشاهده نشده است؛ در این پژوهش بر آن شدیم که همراهی پلی‌مورفیسم‌های TCF7L2 rs11196205 و rs3792267 CAPN10 را با بیماری دیابت نوع دو در جمعیت قوم عرب استان خوزستان موردبررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

اطلاعات بیماران:

در این پژوهش که به‌صورت مورد - شاهدی انجام شد؛ به دلیل محدودیت زمانی و عدم دسترسی به بیماران بیشتر، ۱۰۰ فرد دیابتی و ۱۰۰ فرد سالم برای مطالعه انتخاب شدند که به دلیل از دست رفتن اطلاعات دو نفر از افراد دیابتی و چهار نفر از گروه کنترل، تحلیل آماری بر اساس ۹۸ فرد دیابتی و ۹۶ فرد سالم انجام گرفت. بیماران از میان افراد مراجعه‌کننده به کلینیک فوق تخصصی دیابت و بیمارستان گلستان اهواز انتخاب شدند. این گزینش با نظر متخصصین امر در این بخش صورت گرفت. تشخیص افراد مبتلا به دیابت نوع دو بر اساس معیارهای ADA (انجمن دیابت آمریکا)صورت گرفت. افراد مبتلا به دیابت به‌عنوان نمونه‌هایی انتخاب شدند که از داروها برای درمان دیابت استفاده می‌کردند. در ضمن پرسش‌نامه‌هایی تهیه و طراحی شد که در این پرسش‌نامه‌ها سؤال‌هایی در مورد سن، قد، وزن، قومیت، سابقه‌ی ابتلا در خویشاوندان درجه‌یک، میزان قند خون ناشتا، میزان تری گلیسیرید و کلسترول آورده شده است. افراد کنترل از میان افراد مراجعه‌کننده به بیمارستان گلستان اهواز و بیمارستان ولیعصر خرمشهر انتخاب شدند. سن همه افراد گروه کنترل بالاتر از ۴۹ سال بود و هیچ‌گونه سابقه ابتلا به دیابت نوع دو در خود و خویشاوندان درجه‌یک نداشتند. برای افراد کنترل نیز پرسشنامه‌هایی مشابه گروه بیمار تهیه شد. ضمناً تمامی افراد هر دو گروه بیمار و کنترل، ساکن استان خوزستان بودند و هیچ‌گونه وابستگی قومی به گروه‌های غیر عرب نداشتند. این پروژه توسط کمیته اخلاق دانشگاه شهید چمران اهواز تأیید شده است. قبل از نمونه‌گیری، همه افراد دو گروه بیمار و کنترل، فرم رضایت‌نامه را برای شرکت در این مطالعه امضا کردند.

استخراج DNA:

از افراد بیمار و کنترل حدود ۵ میلی‌لیتر خون محیطی در لوله‌های فالکون حاوی EDTA ۰/۵ مولار (جهت لخته نشدن خون) جمع‌آوری شد. استخراج DNA به‌صورت دستی و با روش salting out انجام گرفت. کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با استفاده

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

از دستگاه نانودراپ و الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد.

TCF7L2 rs11196205:

تعیین ژنوتیپ افراد برای rs11196205 (C/G) از طریق فن TETRA ARMS PCR انجام گرفت. طراحی پرایمرهای اختصاصی این پلی‌مورفیسم به‌وسیله نرم‌افزار Oligo 7 صورت گرفت (جدول شماره ۱).

جدول (۱): مشخصات پرایمرهای طراحی‌شده برای پلی‌مورفیسمrs11196205

نوع پرایمر	توالی پرایمر '۳ ←'۵	GC%	Tm
Forward-inner	CTGAAAGTTCTCAACATTTATAACTGCC	35.71	64.3
Reverse-inner	CAACCATAACTCTCTTACATACTGGTC	40.74	65.3
Forward-outer	TAGATTGTCTCCTTTTGTTTCTGCTAC	37.04	63.7
Reverse-outer	TAAACATCTGACCTTGAAGCCTACC	44.0	64.2

Master Mix PCR از شرکت Amplikon تهیه شد. با استفاده از ترموسایکلر Bio-Rad هر PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد (جدول شماره ۲).

جدول (۲): برنامه حرارتی و زمانی PCR پلی‌مورفیسم rs11196205

مرحله	تعداد تکرار	بخش	دما (°C)	مدت‌زمان
اول	۱ سیکل	واسرشت اولیه	۹۵	۵ دقیقه
دوم	۳۰ سیکل	واسرشت ثانویه	۹۵	۳۰ ثانیه
		اتصال	۵۸	۳۰ ثانیه
		طویل شدن اولیه	۷۲	۱۵ ثانیه
سوم	۱ سیکل	طویل شدن ثانویه	۷۲	۵ دقیقه

اندازه قطعات DNA تکثیر شده مربوط به ژن TCF7L2 عبارت بودند از: قطعه کنترل bp ۴۳۴، آلل C bp ۲۵۳ و آلل G bp ۲۳۵. محصولات PCR بر روی ژل آگارز، الکتروفورز شدند. که با توجه به اختلاف اندک بین قطعات bp ۲۵۳ و bp ۲۳۵، ژل آگارز با غلظت ۳ درصد مورد استفاده قرار گرفت. برای تعیین اندازه قطعات DNA تکثیر شده در ژل، از Ladder bp ۵۰ استفاده شد (تصویر شماره ۱).

CAPN10 rs379226:

تعیین ژنوتیپ برای rs3792267، با استفاده از فن PCR–RFLP انجام شد. بدین منظور قسمتی از ژن CAPN10 که شامل پلی‌مورفیسم موردنظر بود به‌وسیله فن PCR تکثیر شد (جدول شماره ۳).

جدول (۳): مشخصات پرایمرهای طراحی‌شده برای پلی‌مورفیسم rs3792267(SNP-43)

نوع پرایمر	توالی پرایمر '۳ ←'۵	GC%	Tm	طول محصول
Forward	CACGCTTGCTGTGAAGTAATGC	50	62.1	141 bp
Reverse	TGATTCCCATGGTCTGTAGCAC	50	62.1	

پرایمر Forward از منبع [۱۱۶] گرفته شد و پرایمر Reverse به‌وسیله نرم‌افزار Oligo 7 طراحی شد. در پرایمر Forward یک باز ناجور در موقعیت نوکلئوتید سوم از سمت '۳ تعبیه شده است. هدف از قرار دادن این باز ناجور، ایجاد جایگاه شناسایی برای آنزیم

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

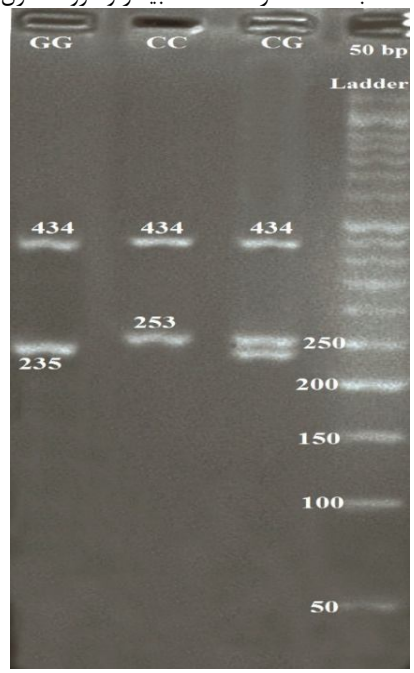
محدودکننده‌ی Mph1103I است. برنامه حرارتی و زمانی PCR پلی‌مورفیسم rs3792267(SNP-43) در جدول شماره ۴ آورده شده است. سپس برای اطمینان از تکثیر قطعه موردنظر، محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برده شد و برای رنگ‌آمیزی از DNA safe stain استفاده شد (تصویر شماره ۲). اندازه قطعه تکثیر شده ۱۴۱bp بود که به مدت ۱۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد تحت تأثیر آنزیم Mph1103I قرار گرفت تا هضم آنزیمی صورت گیرد. محصولات حاصل از RFLP نیز بر روی ژل آگارز الکتروفورز شدند. در این مرحله با توجه به اختلاف اندک بین قطعات bp ۱۴۱ و bp ۱۱۸، ژل آگارز با غلظت ۲/۵ درصد مورداستفاده قرار گرفت. با توجه به الگوی برش این آنزیم، برای افراد هموزیگوت با ژنوتیپ AA، دو قطعه bp ۱۱۸ و bp ۲۳ روی ژل مشاهده شد و هموزیگوت‌های GG، فقط یک قطعه bp ۱۴۱ را نشان دادند و برای افراد هتروزیگوت، سه قطعه bp ۲۳، bp ۱۱۸ و bp ۱۴۱ مشاهده شد (تصویر شماره ۳). البته لازم به ذکر است که قطعه‌ی bp ۲۳ به علت کوچک و سبک بودن به سرعت از ژل خارج می‌شود و در تصویر نهایی ژل دیده نمی‌شود.

جدول (۴): برنامه حرارتی و زمانی PCR پلی‌مورفیسم rs3792267(SNP-43)

مرحله	تعداد تکرار	بخش	دما (C°)	مدت‌زمان
اول	۱ سیکل	واسرشت اولیه	۹۵	۵ دقیقه
دوم	۳۰ سیکل	واسرشت ثانویه	۹۵	۳۰ ثانیه
		اتصال	۵۹	۳۰ ثانیه
		طویل شدن اولیه	۷۲	۱۵ ثانیه
سوم	۱ سیکل	طویل شدن ثانویه	۷۲	۵ دقیقه

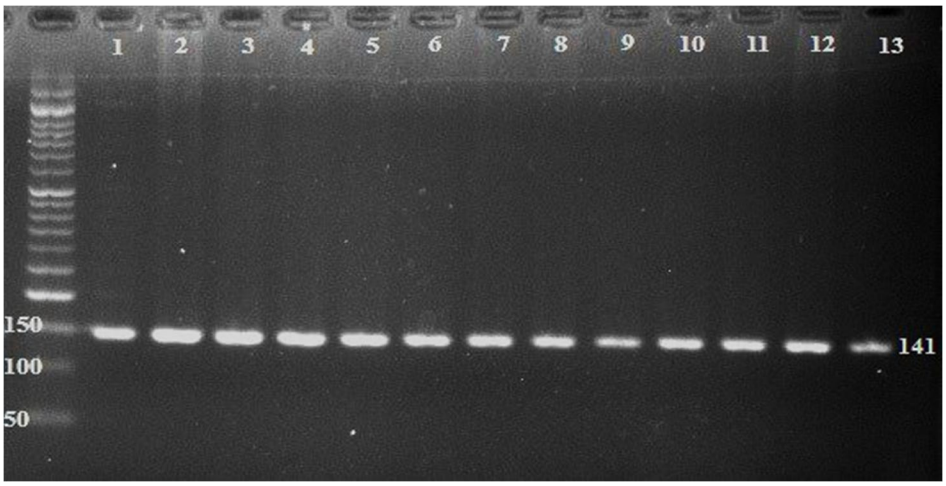
آنالیز داده‌ها:

جهت تأیید نتایج حاصل از تکنیک‌های بکار برده شده (TETRA ARMS PCR و PCR-RFLP) برای هر کدام از پلی‌مورفیسم‌ها، تعدادی از نمونه‌ها تعیین توالی شد. تعیین توالی، نتایج حاصله را تأیید کرد. سپس نتایج به‌دست‌آمده با استفاده از برنامه SPSS version 16 و با بکار گیری روش‌های آماری کای-اسکوئر و رگرسیون لجستیک با در نظر گرفتن مقدار $P < 0.05$ و محاسبه نسبت OR با فاصله اطمینان (CI) ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی و بالینی بین گروه بیمار و گروه کنترل از آزمون Mann-Whitney استفاده شد.

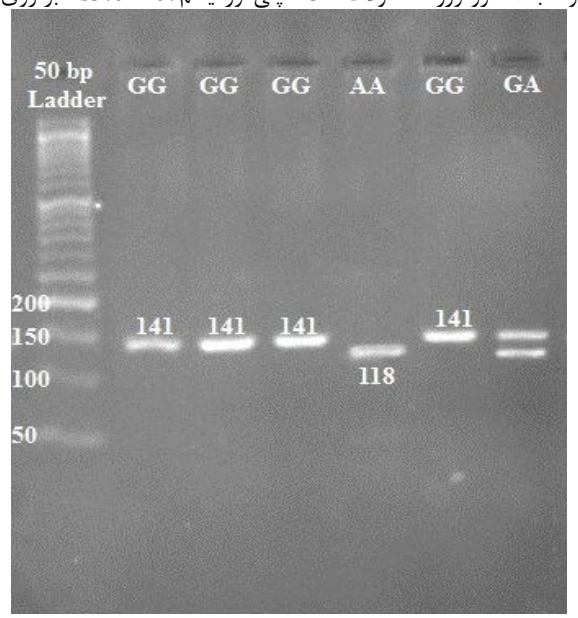


تصویر (۱): نتایج مربوط به الکتروفورز محصولات TETRA ARMS PCR پلی‌مورفیسم rs11196205 بر روی ژل آگارز ۳ درصد

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]



تصویر (۲): نتایج مربوط به الکتروفورز محصولات PCR پلی‌مورفیسمrs3792267 بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد



تصویر (۳): نتایج مربوط به الکتروفورز محصولات RFLP پلی‌مورفیسم rs3792267 بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد

یافته‌ها

در این پژوهش تعداد ۱۹۴ نفر، شامل ۹۸ بیمار دیابتی (۵۲ مرد و ۴۶ زن؛ با میانگین سنی ۸/۸۹±۵۲) و ۹۶ فرد سالم (۴۲ مرد و ۵۴ زن؛ با میانگین سنی ۷/۱۷±۵۶/۳۶) مورد مطالعه قرار گرفتند (جدول شماره ۵). از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بین تعداد افراد گروه بیمار و گروه کنترل وجود نداشت (p=۰/۸۹) از لحاظ معیارهای دیابت، بین افراد گروه دیابتی و گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری وجود داشت (p <۰/۰۰۰۱) و میانگین BMI و تری‌گلیسرید در افراد گروه دیابتی بصورت معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود (p =۰/۰۰۱) اما تفاوت آماری معنی‌داری بین کلسترول تام افراد گروه دیابتی و گروه کنترل وجود نداشت (p=۰/۸۸). ویژگی‌های بالینی و بیوشیمیایی افراد مورد مطالعه بصورت خلاصه در جدول شماره ۵ آمده است.

برای پلی‌مورفیسم TCF7L2 rs11196205، در گروه بیماران دیابتی، توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های CC، CG، GG به ترتیب (۳۴/۶۹ درصد)۳۴، (۵۲/۰۴ درصد)۵۱، (۱۳/۲۶ درصد)۱۳ و در گروه کنترل به ترتیب (۱۹/۷۹ درصد)۱۹، (۶۰/۴۱ درصد)۵۸، (۱۹/۷۹ درصد)۱۹ بود (جدول شماره ۶).

تحلیل آماری با روش کای- اسکوئر نشان داد که در زنان، بین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل تفاوت معنی‌داری وجود دارد (۰/۰۰۳ =X2=۱۱/۶۴ df=۲P). اما در مردان، بین ژنوتیپ افراد بیمار و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (X2=۴/۷۲ df=۲ P=۰/۰۹). در یک مقایسه کلی بین فراوانی ژنوتیپی دو گروه بیمار و کنترل،

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

صرف‌نظر از جنسیت، (X2=۵/۸ df=۲ P=۰/۰۵۵) به دست آمد. با استفاده از رگرسیون لجستیک، و با در نظر گرفتن ژنوتیپ هموزیگوت GG به‌عنوان مبنا برای ژنوتیپ CG، (p -valu=۰/۵۴ و OR =۱/۲۹(۰/۵۸-۲/۸۶=95%CI) و برای ژنوتیپ CC، (p-valu=۰/۰۳۷ و OR=۲/۶۲ و (۱/۰۶-۶/۴۴=95%CI) به دست آمد که نتایج به دست آمده برای ژنوتیپ CG تفاوت معنی‌داری را بین گروه بیمار و گروه کنترل نشان نمی‌دهد، اما نتایج به دست آمده برای ژنوتیپ CC نشان می‌دهد که شانس ابتلای افراد با ژنوتیپ CC، ۲/۶۲ برابر افراد با ژنوتیپ GG است و این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار است. با فرض اینکه وجود یک آلل C می‌تواند احتمال خطر بیماری را بالا ببرد، در بین دو گروه بیمار و کنترل، مقایسه‌ای بین مجموع ژنوتیپ CG +CC نسبت به GG صورت گرفت.

میزان (p-valu=۰/۳ و OR =۱/۶۱ و (۰/۷۵-۳/۴۸ =95%CI) برای CC+CG به دست آمد که نشان می‌دهد اختلاف معنی‌داری بین دو گروه بیمار و کنترل وجود ندارد. در گروه بیماران، توزیع فراوانی آلل های C و G به ترتیب (۶۰/۷۱ درصد)۱۱۹ و (۳۹/۲۸ درصد)۷۷ و در افراد سالم (۵۰ درصد)۹۶ برای هر آلل بود (جدول شماره ۷). نتایج حاصل از مقایسه فراوانی دو آلل C و G با استفاده روش کای- اسکوئر، نشان می‌دهد که همراهی معنی‌داری بین آلل C و بیماری دیابت نوع دو وجود دارد (df=۲ P=۰/۰۴ X2=۴/۰۸).

همچنین مقایسه فراوانی دو آلل C و G بین افراد دیابتی و گروه کنترل با استفاده از آنالیز رگرسیون لجستیک، تفاوت معنی‌داری را نشان داد (p-valu=۰/۰۴ و OR =۱/۵۵ و (۱/۰۳-۲/۳۱) . =95%CI) جهت بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs11196205 با پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی، آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام گرفت و نشان داده شد که ارتباط معنی‌داری میان ژنوتیپ‌های GG و CC و CG با این پارامترها وجود ندارد.

برای پلی‌مورفیسم CAPN10 rs3792267، توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GA، AA به ترتیب (۶۷/۳)۶۶، (۳۲/۷)۳۲، (۰)۰ در بیماران دیابتی و (۶۴/۶)۶۲، (۳۲/۳)۳۱، (۳/۱)۳ در گروه کنترل بود (جدول شماره ۸). تحلیل آماری با روش کای- اسکوئر نشان داد که در زنان، بین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (X2=۲/۶۴ df=۲ p -value=۰/۲۷). همچنین در مردان نیز، بین ژنوتیپ افراد بیمار و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (X2=۰/۰۷ df=۱ P=۰/۷۹). و در یک مقایسه کلی، صرف‌نظر از جنسیت، که بین فراوانی ژنوتیپی دو گروه بیمار و کنترل انجام شد نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (df=۲ P=۰/۲۱ X2=۳/۱۲). نتایج حاصل از مقایسه ژنوتیپ GG با ژنوتیپ GA با استفاده از رگرسیون لجستیک، تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد(p-valu=۰/۹۵ و OR =۱/۰۳ و (۰/۵۶-۱/۸۹) . =95%CI) توزیع فراوانی آلل هایG ، Aدر بیماران مبتلا به دیابت به ترتیب (۸۳/۷ درصد) ۱۶۴، (۱۶/۳ درصد)۳۲ و در افراد سالم (۸۰/۸ درصد)۱۵۵، (۱۹/۲ درصد) ۳۷ بود (جدول شماره ۹). نتایج به دست آمده از مقایسه فراوانی دو آلل G و A با استفاده از روش کای- اسکوئر، نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین افراد بیمار و کنترل وجود ندارد (X2=۰/۳۹ df=۱ P=۰/۵۳). همچنین در مقایسه فراوانی دو آلل G و A بین افراد دیابتی و گروه کنترل با استفاده از آنالیز رگرسیون لجستیک، تفاوت معنی‌داری دیده نشد (P-valu=۰/۵۳ و OR=۱/۲۲ و (۰/۷۳-۲/۰۶=95%CI). آنالیز واریانس یک‌طرفه که به‌منظور بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم rs3792267 با پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی، صورت گرفت ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های AA و GG و GA با دیگر پارامترها نشان نداد.

جدول (۵): مشخصات دموگرافیکی و بیوشیمیایی افراد موردمطالعه

گروه	بیمار			کنترل		
ژنوتیپ	مرد(N%)	زن(N%)	کل (N%)	مرد (N%)	زن (N%)	کل (N%)
CC	۱۵(/.۲۸/۸)	۱۹(/.۴۱/۳)	۳۴(/.۳۴/۶۹)	۱۲(/.۲۸/۶)	۷(/.۱۳)	۱۹(/.۱۹/۷۹)
CG	۳۱(/.۵۹/۶)	۲۰(/.۴۳/۵)	۵۱(/.۵۲/۰۴)	۱۸(/.۴۲/۸)	۴۰(/.۷۴)	۵۸(/.۶۰/۴۱)
GG	۶(/.۱۱/۵)	۷(/.۱۵/۲)	۱۳(/.۱۳/۲۶)	۱۲(/.۲۸/۶)	۷(/.۱۳)	۱۹(/.۱۹/۷۹)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

جدول (۶): فراوانی ژنوتیپی افراد موردمطالعه برای پلی‌مورفیسم rs11196205

خصوصیات	گروه بیمار	گروه کنترل	P -value
مرد	۵۲	۴۲	۰/۳
زن	۴۶	۵۴	۰/۴۲
سن	۵۲±۸/۸۹	۵۶/۳۶±۷/۱۷	<۰/۰۰۰۱
مدت ابتلا	۶/۲۶±۴/۰۲	-	-
BMI	۲۸/۵۱±۴/۸۸	۲۶/۴±۴/۳۳	۰/۰۰۱
FBS	۱۷۴/۸۴±۷۶/۷۷	۹۱/۳۵±۶/۵۵	<۰/۰۰۰۱
HBA1c	۸/۶۳±۲/۵۷	-	-
TG	۱۵۳/۰۹±۵۹/۴۸	۱۲۷/۸۵±۶۱/۹۶	۰/۰۰۱
TC	۱۸۶/۴۶±۴۸/۶۷	۱۸۶/۰۵±۵۴/۴۳	۰/۸۸

BMI: body mass index, FBG: fasting blood glucose, HbA1c: hemoglobin A1c, TG: triglyceride, TC: total cholesterol

جدول (۷): فراوانی آللی افراد موردمطالعه برای پلی‌مورفیسم rs11196205

آلل	بیمار	کنترل
C	۱۱۹(٪۶۰/۷۱)	۹۶(٪۵۰)
G	۷۷(٪۳۹/۲۸)	۹۶(٪۵۰)

جدول (۸): فراوانی ژنوتیپی افراد موردمطالعه برای پلی‌مورفیسم rs3792267

گروه	بیمار			کنترل		
ژنوتیپ	مرد(N%)	زن(N%)	کل (N%)	مرد (N%)	زن (N%)	کل (N%)
GG	۳۱(٪۵۹/۶)	۳۵(٪۷۶/۱)	۶۶(٪۶۷/۳)	۲۳(٪۵۴/۸)	۳۹(٪۷۲/۲)	۶۲(٪۶۴/۶)
GA	۲۱(٪۴۰/۴)	۱۱(٪۲۳/۹)	۳۲(٪۳۲/۷)	۱۹(٪۴۵/۲)	۱۲(٪۲۲/۲)	۳۱(٪۳۲/۳)
AA	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۰(۰)	۳(٪۵/۶)	۳(٪۳/۱)

جدول (۹): فراوانی آللی افراد موردمطالعه برای پلی‌مورفیسم rs3792267

آلل	بیمار	کنترل
G	۱۶۴	۱۵۵
A	۳۲	۳۷

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری دیابت نوع دو یکی از پرهزینه‌ترین بیماری‌های مزمن زمان ما و یک چالش بزرگ در جامعه مدرن است (۱۷). تأثیر منفی این بیماری بر روی زندگی و شرایط اقتصادی در سراسر جهان، ضرورت بسیج همگانی برای مبارزه با این بیماری را می‌طلبد و درک بهتر پاتوژنز و سیر طبیعی بیماری برای هدفمندسازی مناسب تلاش‌ها ضروری به نظر می‌رسد (۱۸). اگرچه تصور می‌شود که تغییرات در شیوه زندگی ممکن است به دیابت نوع دو منجر شود اما فقط در حضور عوامل خطر ژنتیکی برای این شرایط، فرد به دیابت نوع دو مبتلا می‌شود به همین دلیل، تلاش زیادی برای شناسایی ژن‌ها و بسیاری از جایگاه‌های مرتبط با این بیماری به عمل آمده است و همراهی تعداد زیادی از پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی (SNP ها) با دیابت نوع دو نشان داده شده است. می‌توان گفت دیابت نوع دو در خط مقدم بیماری‌های انسان و فنوتیپ های موردمطالعه توسط تجزیه‌وتحلیل‌های ژنتیکی جدید بوده است (۱۲ و ۱۹). از میان تمام ژن‌های مرتبط با دیابت نوع دو، واریانت های

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

ژنتیکی در ژن TCF7L2 بیشترین همراهی را با این بیماری در بین قومیت‌های مختلف سراسر جهان نشان داده‌اند (۲۰). اما برخی مطالعات نیز، عمدتاً در جمعیت‌های آسیایی، وجود همراهی ضعیف و یا عدم وجود همراهی واریانت های TCF7L2 با دیابت نوع دو را گزارش کرده‌اند (۲۱ و ۲۲). در این پژوهش، همراهی پلی‌مورفیسم rs11196205 با بیماری دیابت نوع دو در جمعیت قوم عرب استان خوزستان مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر، نشان داد که ژنوتیپ CC پلی‌مورفیسم rs11196205 همراهی معنی‌داری با دیابت نوع دو دارد. علاوه بر این، نتایج ما نشان می‌دهد که همراهی معنی‌داری نیز بین آلل C و بیماری دیابت نوع دو در جمعیت مورد مطالعه وجود دارد. در میان ژن‌های مربوط به دیابت نوع دو، ژن CAPN10 اولین ژنی بود که همراهی آن با این بیماری در آمریکایی‌های مکزیکی تبار تشخیص داده شد. هوریکاوا و همکارانش در سال ۲۰۰۰ برای اولین بار گزارش دادند که هموزیگوسیتی آلل G در rs3792267 از ژن CAPN10، با دیابت نوع دو همراهی دارد (۲۳). بعد از آن مطالعات متعددی در کشورهای مختلف جهت بررسی همراهی پلی‌مورفیسم‌های ژن CAPN10 با بیماری دیابت نوع دو انجام گرفت که در قومیت‌های مختلف، نتایج متفاوتی گزارش شده است. نتایج مطالعه Ng و همکاران که در سال ۲۰۰۱ در جمعیت چین انجام شد همراهی rs3792267 و دیابت نوع دو را با OR = ۲،۵نشان داد (۲۴). در مطالعه‌ای که توسط Evans و همکارانش در سال ۲۰۰۱ در کشور انگلستان انجام شد همراهی معنی‌داری بین SNP-43، SNP-19، SNP-63با دیابت نوع دو، به‌صورت انفرادی و یا به‌عنوان هاپلوتایپ خطر مشاهده نشد (۲۵). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ توسط Garant و همکاران بر روی rs3792267 در آمریکاییان آفریقایی‌تبار انجام گرفت افرادی که دارای ژنوتیپ GG بودند با احتمال بیشتری نسبت به افراد با ژنوتیپ GA و یا AA در معرض ابتلا به دیابت نوع دو قرار داشتند (۲۶). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ توسط Iwasaki و همکاران بر روی پلی‌مورفیسم‌های شایع ژن CAPN10 در جمعیت ژاپن انجام شد، همراهی معنی‌داری بین rs3792267 با خطر ابتلا به T2DM مشاهده نشد (۲۷). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۰ توسط Ezzidi و همکاران بر روی جمعیت عرب تونس انجام گرفت توزیع آلل و ژنوتیپ rs3792267 بین گروه بیماران و افراد کنترل تفاوت معنی‌داری نداشت (۲۸). در ایران نیز در سال ۲۰۱۲ بحرینی و همکارانش مطالعه‌ای را بر روی جمعیت آذربایجان شرقی انجام دادند و آلل G به‌عنوان یک عامل خطر ابتلا به دیابت نوع دو در این جمعیت شناسایی شد. مطالعه دیگر که در سال ۲۰۱۴ انجام گرفت مربوط به قومیت کرد شهر ایلام است که در این مطالعه همراهی معنی‌داری بین rs3792267 و دیابت نوع دو مشاهده نشد (۲۹ و ۳۰). در مطالعه حاضر، همراهی rs3792267 را با دیابت نوع دو در جمعیت قوم عرب استان خوزستان مورد بررسی قرار دادیم و به‌عنوان نتیجه‌گیری کلی می‌توان گفت: که همراهی معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs3792267 با بیماری دیابت نوع دو در جمعیت مورد مطالعه وجود ندارد. تفاوت و تنوع موجود در نتایج مطالعات ذکرشده و مطالعه حاضر می‌تواند تحت تأثیر عواملی مانند تفاوت‌های نژادی (نقش و اثر متفاوت واریانت‌های ژنتیکی موجود در جمعیت‌های نژادی مختلف)، مناطق جغرافیایی و اقلیمی مختلف، تفاوت در سبک زندگی افراد در جوامع مختلف، تفاوت در نمونه‌گیری از لحاظ ویژگی‌های دموگرافیکی مانند سن و جنس، تفاوت در تعداد نمونه‌ها در مطالعات مختلف، تفاوت در معیارهای تشخیص بیماری، روش انتخاب نمونه‌ها و تفاوت در روش‌های تعیین ژنوتیپ و تحلیل‌های آماری باشد. در این مطالعه به علت محدودیت زمانی ما نتوانستیم تعداد نمونه‌های بیشتری را جمع‌آوری کنیم؛ بنابر این پیشنهاد می‌شود بررسی این پلی‌مورفیسم‌ها با تعداد نمونه‌های بیشتری در قومیت عرب استان خوزستان و دیگر استان‌های عرب نشین انجام شود تا بتوان با قاطعیت بیشتری در مورد همراهی یا عدم همراهی این پلی‌مورفیسم‌ها با دیابت نوع دو در جمعیت قوم عرب در ایران نظر داد. همچنین می‌توان با انجام مطالعات مشابه روی این واریانت-ها در سایر استان‌ها و قومیت‌های کشور، امکان یک برآورد کلی در جمعیت ایران و نیز در هر قومیت به‌طور مجزا را فراهم آورد. علاوه بر این می‌توان مطالعات مشابهی را با در نظر گرفتن عوامل محیطی انجام داد.

References:

1. Singh S. The genetics of type 2 diabetes mellitus: a review. J Sci Res 2011;55: 35-48.
2. Gardner DG, Shoback DM, editors. Greenspan's basic & clinical endocrinology. New York: McGraw-Hill Medical; 2007 Jan 19.
3. Hindy G, Sonestedt E, Ericson U, Jing XJ, Zhou Y, Hansson O, Renström E, Wirfält E, Orho-Melander M. Role of TCF7L2 risk variant and dietary fibre intake on incident type 2 diabetes. Diabetologia 2012;55(10): 2646-54.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

4. Conget I. Diagnóstico, clasificación y patogenia de la diabetes mellitus. Revista Española de cardiología. 2002 Jan 1;55(5): 528-35.
5. Assmann TS, Duarte GC, Rheinheimer J, Cruz LA, Canani LH, Crispim D. The TCF7L2 rs7903146 (C/T) polymorphism is associated with risk to type 2 diabetes mellitus in Southern-Brazil. Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia. 2014 Dec;58(9): 918-25.
6. Leutholtz BC, Ripoll I. Exercise and disease management. CRC Press; 2011 Apr 25.
7. Dabiri Sasan. Pathophysiology, prevention and treatment of type 2 diabetes over generations. New J Med 2012. 527. (Persian)
8. Huang ZQ, Liao YQ, Huang RZ, Chen JP, Sun HL. Possible role of TCF7L2 in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. Biotechnol Biotechnol Equip 2018 Feb 1: 1-5.
9. Ogurtsova K, da Rocha Fernandes JD, Huang Y, Linnenkamp U, Guariguata L, Cho NH, et al. IDF Diabetes Atlas: Global estimates for the prevalence of diabetes for 2015 and 2040. Diabetes Res Clin Pract 2017;128: 40-50.
10. Azimi-Nezhad M, Ghayour-Mobarhan MP, Parizadeh MR, Safarian M, Esmaeili H, Parizadeh SM, et al. Prevalence of type 2 diabetes mellitus in Iran and its relationship with gender, urbanisation, education, marital status and occupation. Singapore Med J 2008;49(7): 571. (Persian)
11. WHO Media centre. Diabetes [Online]. 2012; Available from: URL: http: //www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en.
12. Kommoju UJ, Reddy BM. Genetic etiology of type 2 diabetes mellitus: a review. Int J Diabetes Dev Ctries 2011;31(2): 51-64.
13. Ling C, Groop L, Del Guerra S, Lupi R. Calpain-10 expression is elevated in pancreatic islets from patients with type 2 diabetes. PLoS One 2009;4(8): e6558.
14. Jyothi KU, Jayaraj M, Subburaj KS, Prasad KJ, Kumuda I, Lakshmi V, et al. Association of TCF7L2 gene polymorphisms with T2DM in the population of Hyderabad, India. PLoS One 2013;8(4): e60212.
15. Kifagi C, Makni K, Mnif F, Boudawara M, Hamza N, Rekik N, et al. Association of calpain-10 polymorphisms with type 2 diabetes in the Tunisian population. Diabetes Metab 2008;34(3): 273-8.
16. Raj R, Ramteke PW. Polymorphisms of calpain 10 (Capn10) in type2 diabetes mellitus–a review. Int J Sci Res 2012;2(11).
17. King H, Aubert RE, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. Diabetes Care 1998;21(9): 1414-31.
18. Bhattacharya S, Dey D, Roy SS. Molecular mechanism of insulin resistance. J Biosciences 2007;32(2): 405-13.
19. Billings LK, Florez JC. The genetics of type 2 diabetes: what have we learned from GWAS?. Ann New York Academy Sci 2010;1212(1): 59-77.
20. Basile KJ, Johnson ME, Xia Q, Grant SF. Genetic susceptibility to type 2 diabetes and obesity: follow-up of findings from genome-wide association studies. Int J Endocrinol 2014;2014.
21. Chang YC, Chang TJ, Jiang YD, Kuo SS, Lee KC, Chiu KC. Association study of the genetic polymorphisms of the transcription factor 7-like 2 (TCF7L2) gene and type 2 diabetes in the Chinese population. Diabetes. 2007;56(10): 2631-7.
22. Zheng X, Ren W, Zhang S, Liu J, Li S, Li J. Association of type 2 diabetes susceptibility genes (TCF7L2, SLC30A8, PCSK1 and PCSK2) and proinsulin conversion in a Chinese population. Molecular Biol Rep 2012;39(1): 17-23.
23. Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, Li X, Orho-Melander M, Hara M. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. Nature Genetics 2000t;26(2): 163.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

24. Ng MC, So WY, Critchley JA, Cockram CS, Chan JC. Association of calpain 10 genetic polymorphisms with type 2 diabetes and insulin response in non-diabetic Chinese. Diabetes 2001;50: A234.
25. Evans JC, Frayling TM, Cassell PG, Saker PJ, Hitman GA, Walker M. Studies of association between the gene for calpain-10 and type 2 diabetes mellitus in the United Kingdom. Am Hum Genetics 2001;69(3): 544-52.
26. Garant MJ, Kao WL, Brancati F, Coresh J, Rami TM, Hanis CL, Boerwinkle E, Shuldiner AR. SNP43 of CAPN10 and the risk of type 2 diabetes in African-Americans: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. Diabetes 2002;51(1): 231-7.
27. Iwasaki N, Horikawa Y, Tsuchiya T, Kitamura Y, Nakamura T, Tanizawa Y, Oka Y, Hara K, Kadowaki T, Awata T, Honda M. Genetic variants in the calpain-10 gene and the development of type 2 diabetes in the Japanese population. J Hum Genetics 2005;50(2): 92-8.
28. Ezzidi I, Turki A, Messaoudi S, Chaieb M, Kacem M, Al-Khateeb GM, et al. Common polymorphisms of calpain-10 and the risk of Type 2 Diabetes in a Tunisian Arab population: a case-control study. BMC Med Genetics 2010;11(1): 75.
29. Bahreini F, Ardebili M, Mojtab S, Farajnia S, Ghareh Sooran J, Nabipour I, et al. A study on association of SNP-43 polymorphism in Calpain-10 gene with type 2 diabetes mellitus in the population of Eastern Azerbaijan province. ISMJ 2012;15(1): 35-42. (Persian)
30. Haghani K, Aidi A, Mahmoudi K, Havasian MR, Panahi J, Karimfar MH, Bakhtiyari S. Analysis of the relationship between snp-43 polymorphism in calpain-10 gene and susceptibility to type 2 diabetes in ilam city. J Zabol Univ Med Sci Health Serv 6(2):9-17. (Persian)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]

Original Article

ASSOCIATION OF TCF7L2 RS11196205(C/G) AND CAPN10 RS3792267 (G/A) POLYMORPHISMS WITH TYPE II DIABETES IN ARAB POPULATION OF KHUZESTAN PROVINCE

Abdollah Gravand[1], Ali Mohammad Foroughmand [2], Mehdi Pourmehdi Boroujeni [3]*

Received: 09 Jul, 2018; Accepted: 28 Sep, 2018

Abstract

Background & Aims: Type II diabetes is a multifactorial and heterogenic disease that is characterized by a defect in the production or function of insulin. In recent years, through Genome-wide association studies (GWAS) has been shown the association of several genes with Type II diabetes. The aim of this study was to investigate the relationship of polymorphisms *TCF7L2* rs11196205 and *CAPN10* rs3792267 with type II diabetes in the Arab population of Khuzestan province.

Materials & Methods: A case-control study was performed using 98 T2DM patients and 96 Controls. Genotyping for rs11196205 was done by TETRA-Primer ARMS-PCR and for rs3792267 was done by PCR-RFLP Technique.

Results: In examining rs11196205 based on the genotype GG, results for CG genotype were, OR = 1.29, 95%CI = (0.58–2.86), *P* -value = 0.54 and for genotype CC were, OR = 2.62, 95%CI = (1.06–6.44), *P* -value = 0.037. Also, the frequencies of C and G alleles in p atients with diabetes were 60.71% and 39.28%, resp ectively, and in the healthy subjects was 50% for each of the alleles (OR = 1.55, 95%CI = (1.03–2.31), *P* -value = 0.04). There was no significant association with type II diabetes for rs3792267 in the studied population. ***Conclusion:*** Our results for *TCF7L2* rs11196205 polymorphism showed that CC genotype and C allele increase the risk of developing type II diabetes in the Arab population of Khuzestan province.

Keywords: *CAPN10* gene, rs11196205, rs3792267, *TCF7L2* gene, Type II diabetes

Address: Department of Genetics, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran
Tel: +986632631406
E-mail: foroughmand.a@scu.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2018: 29(8): 613 ISSN: 1027-3727

[1] *Department of Genetics, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran*

[2] *Associate Professor, Department of Genetics, School of Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran (Corresponding Author)*

[3] *Associate Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran*

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-10-12]