

ارتباط پلی مورفیسم (C>A) 3'UTR از ژن گیرنده IGF2 (IGF2R) با شاخص‌های

مقاومت به انسولین در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و افراد غیردیابتی

فاطمه مجیدی^۱، دکتر حسین چیتی^۲، دکتر علی رضوانی^۳، دکتر مجتبی فتحی^۴، رضا سلمانی^۵

دکتر علی اوسط ملتی^۶

نویسنده‌ی مسؤل: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک زنجان و گروه بیوشیمی mellati@zums.ac.ir

دریافت: ۹۲/۳۰ پذیرش: ۹۳/۱۰/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: ارتباط بین منطقه‌ی 6q که ژن گیرنده‌ی فاکتور رشد ۲ شبه انسولین (IGF2R) در آن واقع شده با مقاومت به انسولین ثابت شده است. هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم (C>A) ناحیه 3'UTR ژن IGF2R با دیابت نوع ۲ و شاخص‌های مقاومت به انسولین در جمعیتی از شهر زنجان می‌باشد.

روش بررسی: در مجموع ۳۵۰ نفر از بیماران دیابتی نوع ۲ و غیردیابتی وارد مطالعه شدند. کلیه‌ی اطلاعات دموگرافیک آن‌ها در یک لیست ثبت شد. تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم مورد مطالعه با روش PCR-RFLP انجام گردید و ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و متغیرهای تعیین شده، شامل شاخص توده بدنی (BMI)، قند خون ناشتا (FBS)، پروفایل لیپیدی و فاکتور رشد ۲ شبه انسولین (IGF2)، با استفاده از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Post Hoc (توکی) بررسی شد.

نتایج: درصد فراوانی ژنوتیپ‌ها عبارت بود از CC (۶/۸۵ درصد)، AA (۳۳/۴۵ درصد) و CA (۵۹/۷۵ درصد)، که فراوانی ژنوتیپ CA در میان افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد سالم بود (۸۰/۶ درصد). میانگین FBS سرم در افراد با ژنوتیپ CA به‌طور معنی‌داری بیشتر از میانگین FBS سرم افراد با ژنوتیپ CC و AA ($P=0/001$) و میانگین IGF2 سرم در افراد با ژنوتیپ CC و CA به‌طور معنی‌داری بیشتر از میانگین IGF2 سرم افراد با ژنوتیپ AA بود ($P=0/001$).

نتیجه‌گیری: پلی مورفیسم (C>A) ناحیه 3'UTR ژن IGF2R با برخی از شاخص‌های مقاومت به انسولین به‌ویژه FBS و در نتیجه دیابت نوع ۲ ارتباط دارد. همچنین ممکن است آلل A اثر محافظتی در برابر ابتلا به دیابت نوع ۲ داشته باشد.

واژگان کلیدی: IGF2R، دیابت نوع ۲، پلی مورفیسم

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک زنجان و گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- فوق تخصص غدد درون ریز و متابولیسم، استادیار مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- دکترای بیوتکنولوژی پزشکی، استادیار دانشکده‌ی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۴- دکترای بیوشیمی، استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۵- دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۶- دکترای بیوشیمی، استاد مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک زنجان و گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

مقدمه

شیوع جهانی دیابت در بزرگسالان ۲۰ تا ۷۹ ساله تقریباً ۲۸۵ میلیون نفر (۶/۴ درصد) در سال ۲۰۱۰ بوده است و تخمین زده می‌شود این رقم تا سال ۲۰۳۰ به ۴۳۹ میلیون نفر (۷/۷ درصد) برسد (۲ و ۱). شیوع دیابت نوع دو در منطقه‌ی خاورمیانه بالاست و میزان شیوع آن در ایران ۷/۷ درصد است (۳). دیابت مرحله‌ی نهایی مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیکی مربوط به آن است (۴). این بیماری نتیجه‌ی تعامل پیچیده بین فاکتورهای محیطی و ژنتیکی است. ناهنجاری در هریک از مولکول‌های مربوط به سیگنال دهی انسولین می‌تواند در پاتولوژی مقاومت به انسولین نقش داشته باشند و در این ارتباط پلی مورفیسم‌های متعددی مورد بررسی قرار گرفته و برخی به اثبات رسیده‌اند (۵).

گیرنده‌ی فاکتور رشد شبه انسولین (IGF2R) در انتقال پیام‌های انسولین همراهی می‌نماید. به علت شباهت ساختمانی انسولین با IGF2 برخی از اعمال انسولین و سیگنال دهی آن در متابولیسم کربوهیدرات‌ها از طریق IGF2R انجام می‌شود. IGF2R یک مولکول گلیکوپروتئینی چند عملکردی است و ژن آن روی کروموزوم 6q26 واقع شده است، ساختمان آن ۱۵ دومین خارجی دارد که هومودیم‌شماره‌ی ۳، ۵ و ۹ محل اتصال مانوز ۶ فسفات (M6P) و شماره ۱۳ محل اتصال IGF2 است (۷، ۶)، و در نوشته‌های علمی آن را با علامت اختصاری M6P/IGF2R نیز می‌نویسند. یکی از عوامل موثر در مراحل رشد جنینی است. مطالعات نشان می‌دهد که این گیرنده می‌تواند یکی از جنبه‌های پاتوژنز جنینی دیابت نوع ۲ باشد (۹). در مطالعاتی که انجام شده است ارتباط بین منطقه 6q که ژن IGF2R در آن واقع شده با مقاومت به انسولین و چاقی ثابت شده است (۱۱ و ۱۰). برخی از مطالعات بیان می‌کنند که موتاسیون در ناحیه 3'UTR ژن IGF2R می‌تواند در فرایندهای پس از رونویسی این رسپتور اختلال ایجاد کند (۱۲). ارتباط

بین پلی‌مورفیسم IGF2R 3'UTR (A>C) و دیابت نوع ۲ تا به حال بررسی نشده، اما در مطالعاتی ارتباط این پلی‌مورفیسم با دیابت نوع ۱ مشاهده شده است (۱۳). در مطالعه‌ای بر روی جمعیتی اسپانیایی از نژاد هند و اروپایی، ارتباط معنی‌دار پلی‌مورفیسم ACAAA-Insertion/Deletion در 3'UTR IGF2R با دیابت نوع ۲ و شاخص‌های مقاومت به انسولین در افراد غیر دیابتی گزارش شده است (۱۴). لازم به ذکر است که پلی‌مورفیسم فوق جایگاه ژنی مشابهی با پلی‌مورفیسم مورد مطالعه‌ی ما دارد. همچنین در مطالعه‌ی دیگری توسط الوی و همکارانش (۱۵) به این نتیجه رسیدند که پلی‌مورفیسم ACAAA-Insertion/Deletion در 3'UTR IGF2R از طریق عملکرد تنظیمی miR-657 موثر است، بدین معنی که حذف ACAAA نسبت به درج این توالی تاثیر بیشتری در مهار این ژن (IGF2R) دارد. این محققین پلی‌مورفیسم فوق را در کنار سایر عوامل دخیل در پاتوژنیسته دیابت نوع ۲ توضیح دادند. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم IGF2R 3'UTR(C>A) با بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و شاخص‌های مقاومت به انسولین در افراد غیر دیابتی جمعیتی از شهر زنجان انجام گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی مورد-شاهدی ۳۵۰ نفر شرکت داشتند که از این تعداد ۱۷۵ مورد بیماران دیابتی نوع ۲ و ۱۷۵ مورد از افراد سالم بودند. جامعه‌ی مورد مطالعه، افراد مراجعه کننده به درمانگاه‌های بیمارستان حضرت ولی عصر دانشگاه علوم پزشکی زنجان بودند. مبتلایان به دیابت نوع ۲ از بیماران مراجعه کننده به درمانگاه غدد بیمارستان ولی عصر زنجان به‌طور سریالی انتخاب شدند. معیار تشخیص ابتلا به دیابت نوع ۲ در این بیماران براساس معیار سازمان جهانی بهداشت

ترازوی اتوماتیک اندازه‌گیری و شاخص توده‌ی بدنی (Body Mass Index) طبق فرمول $BMI=W(kg)/H^2(m)$ محاسبه شد. برای اندازه‌گیری فشار خون، فرد مورد مطالعه به مدت ۱۵ دقیقه استراحت کرد و سپس یک پزشک فشار خون فرد را به وسیله یک دستگاه فشارخون استاندارد ۲ بار اندازه‌گیری نموده که میانگین آن به عنوان فشار خون فرد در نظر گرفته شد.

اندازه‌گیری میزان FBS: با روش آنزیمی گلوکز اکسیداز انجام گرفت. آزمون OGTT بر طبق استاندارد سازمان جهانی بهداشت (۱۸) انجام گرفت. در این روش به بیماران پس از ۱۲ ساعت ناشتایی ۷۵ گرم گلوکز محلول در ۲۵۰ میلی‌لیتر آب داده شد و نمونه‌گیری پس از ۱۲۰ دقیقه به‌منظور تعیین سرمی گلوکز با استفاده از روش آنزیمی انجام شد. میزان کلسترول تام (TC) و تری‌گلیسرید (TG) سرم با حساسیت ۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با روش‌های آنزیمی کلسترول استراز و کلسترول اکسیداز و گلیسرول فسفات اکسیداز (هریک به‌طور مستقل) انجام گرفت. لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL-C) بعد از رسوب آپولیپو پروتئین‌ها با اسید فسفوتنگستیک مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. آنالیز نمونه‌ها با استفاده از اتوآنالایزر سلکترای ۲ و کیت‌های پارس آزمون والیتیک انجام گرفت. لیپوپروتئین با چگالی پایین (LDL-C) از فرمول فریدوالد (۱۹) محاسبه شد. اندازه‌گیری IGF2 با روش ELISA با حساسیت ۰/۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و به‌ترتیب با ضریب تغییرات درصد درون گروهی ۶/۶ درصد و بین گروهی ۷/۲ درصد انجام شد.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ: DNA ژنومی از خون کامل (لکوسیت‌های خون) و با استفاده از کیت تخلیص DNA (شرکت BIONEER کره جنوبی) بر طبق پروتوکل گفته شده استخراج گردید و DNA تخلیص شده در ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. تعیین پلی‌مورفیسم 3'UTR(C>A) IGF2R در روی تمامی DNA های

(Wrold Health Organization) بود (۱۶). معیارهای ورود به مطالعه شامل FBS بیمار بیشتر از ۱۲۶ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر یا آزمون تحمل گلوکز خوراکی (OGTT) ۲ ساعته بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، حداقل سن ۳۵ سال، حداقل گذشت زمان ۲ سال از زمان تشخیص دیابت و حداقل مدت درمان با داروهای خوراکی آنتی دیابتیک به مدت ۱ سال بود. معیارهای عدم ورود به مطالعه شامل سابقه‌ی ابتلا به دیابت نوع ۱، انسولین درمانی و ابتلا به هر نوع بیماری مزمن دیگر به جز دیابت نوع ۲ بود. معیارهای ورود گروه شاهد نیز عبارت بود از نداشتن سابقه هرگونه بیماری مشخص یا مزمن (از جمله دیابت، بیماری مزمن کلیه و سایر بیماری‌های مرتبط با اختلالات کربوهیدراتی) و نرمال بودن تست های قند خون. هیچ نسبت فامیلی بین افراد انتخاب شده وجود نداشت و گروه مورد و شاهد از نظر سن و جنس یکسان سازی شدند سپس بعد از توضیحات کامل در رابطه با این مطالعه فرم رضایت نامه توسط شرکت کنندگان پر شد. پرسشگر نیز اطلاعات دموگرافیک، زمان تشخیص دیابت نوع ۲ فرد، داروهای مصرفی فرد جهت درمان دیابت، عوارض دیابت در گروه مورد شامل رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی و عوارض کاردیوواسکولر، قد و وزن و شماره‌ی پرونده را وارد پرسشنامه کرد. نمونه‌های خون وریدی بیمارانی که به مدت ۱۰ الی ۱۴ ساعت ناشتا بودند، گرفته شد. یکی از نمونه‌ها (۵ میلی‌لیتر) جهت انجام آزمایشات مولکولی و حاوی ضد انعقاد EDTA و ۵ میلی‌لیتر دیگر پس از سانتریفیوژ و جدا کردن سرم به‌منظور اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی در ۸۰ - درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های آنتروپومتریک و بیوشیمیایی: وزن و قد طبق استانداردهای تعریف شده توسط جلیف (۱۷) اندازه‌گیری شد. بعد از پوشیدن یک لباس سبک و درآوردن کفش‌ها توسط شرکت کنندگان، قد با تقریب اعشار ۰/۱ بر حسب سانتی‌متر و وزن بر حسب کیلوگرم به‌وسیله‌ی

سفارش آن توسط شرکت ندای فن انجام گرفت. توالی پرایمرها در جدول ۱ مشاهده می‌شود.

استخراج شده با استفاده از تکنیک PCR-RLFP انجام گردید. توالی ژن مورد نظر (IGF2R) از بانک ژنی دریافت شده و پرایمرها با نرم‌افزار GenRunner طراحی و

جدول ۱: مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

GENE	Polymorphism	Primer forward	Primer reverse	Enz
IGF2R	3'UTR(A >C)	AGGTCTCATCTCTTCAGGTTCTC	CTAAACATGGCAGGAAAGGC	EaeI



شکل ۱: قطعات بعد از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲ درصد (هضم آنزیمی [CfrI(EaeI)] آنزیم ژنوتیپ CC وحشی bp ۳۳۷ را به دو قطعه ۱۵۸ و ۱۷۹ تجزیه می‌کند) اما بر ژنوتیپ جهش یافته AA بی اثر است و بر اثر هضم آنزیمی هتروزیگوت CA، سه قطعه ۳۳۷ و ۱۷۹ و ۱۵۸ مشاهده می‌شود. (M مارکری با ۱۵ قطعه مختلف No) کنترل منفی PCR، ستون‌های ۱، ۳، ۵، ۷ و ۹ هتروزیگوت CA، ستون ۲ مربوط به ژنوتیپ AA که هیچ‌گونه هضمی انجام نگرفته است. ستون ۸ ژنوتیپ وحشی CC، که به دو باند تجزیه شده است.

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر از مخلوط پرایمرهای Forward و Reverse، ۱۳ میکرولیتر از محلول PCR Master Mix (حاوی 200 dNTP میکرومول، ۲/۵ MgCl₂ میلی مول)، ۲ میکرولیتر از DNA الگو و ۸ میکرولیتر آب مقطر و دیونیزه انجام شد (محلول

PCR Master mix از شرکت فرمتاز آلمان خریداری شده که حاوی تریس بافر، dNTP، Taq DNA Polymerase و MgCl₂ است). برای انجام PCR، ابتدا DNA ژنومی به مدت ۵ دقیقه دناتوره شد و سپس انجام ۴۰ سیکل PCR، که هر سیکل شامل دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمر در ۵۵ درجه سانتی‌گراد

Independent T-Test (در صورت توزیع نرمال) و تست Mann-Whitney (در صورت توزیع غیر نرمال) و برای متغیرهای کیفی از تست Chi-Square استفاده شد. جهت یافتن معنی دار بودن تفاوت متغیرها بین داده‌های تحقیق از آزمون آماری ANOVA و آزمون تعقیبی Post Hoc (توکی) استفاده گردید.

نتایج

نتایج این مطالعه در یک شکل و سه جدول ارائه گردیده است. در این مطالعه در مجموع ۳۵۰ نفر، ۱۷۵ نفر بیمار دیابتی نوع ۲ و ۱۷۵ نفر افراد غیر بیمار (گروه کنترل) مشارکت داده شدند. آنالیز داده‌ها هیچ تفاوت معنی داری بین جنسیت دو گروه بیمار و غیربیمار نشان نداد. میانگین BMI و FBS در افراد دیابتی به ترتیب 27.92 ± 4.03 و 132.70 ± 40.76 و در افراد کنترل به ترتیب 24.18 ± 9.10 و 84.72 ± 16.82 میلی گرم بر دسی لیتر برآورد شد که تفاوت‌ها معنادار هستند ($P=0.001$). (جدول ۲).

به مدت ۴۵ ثانیه، و طولیل سازی در ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه بود و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. سپس جهت بررسی تکثیر موفق قطعه مورد نظر، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲ درصد و به کمک رنگ آمیزی اتیدیم بروماید مورد آزمایش قرار گرفت. به منظور روش RFLP، ۸ میکرولیتر از محصولات PCR توسط ۱ واحد (0.3 میکرولیتر) از آنزیم EaeI (فرمتاز-آلمان) هضم آنزیمی شدند. هضم آنزیمی زمانی اتفاق می افتد که سیتوزین در توالی مورد برش این آنزیم وجود داشته باشد. سپس این محصولات با استفاده از ژل آگارز ۲ درصد مورد آنالیز قرار گرفتند. افرادی که ژنوتیپ CC (نوع وحشی) را داشتند، دارای ۲ باندها با اندازه‌های ۱۵۸ و ۱۷۹ bp بوده، افراد هتروزیگوت با ژنوتیپ CA دارای ۳ باندها با اندازه‌های ۱۵۸، ۱۷۹ و ۳۳۷ bp و افراد هموزیگوت با ژنوتیپ AA دارای یک باندها ۳۳۷ bp بودند (شکل ۱). اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از جداول توزیع فراوانی و شاخص‌های مرکزی و پراکندگی با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت برای مقایسه متغیر کمی از تست

جدول ۲: شاخص‌های دموگرافیک و بیوشیمیایی افراد دیابتی و غیردیابتی مورد مطالعه

متغیرها	گروه دیابتی (تعداد ۱۷۵)	گروه غیردیابتی (تعداد ۱۷۵)	P-value*
	انحراف معیار $\pm$ میانگین	انحراف معیار $\pm$ میانگین	
شاخص توده بدنی (Kg/m^2 , BMI)	27.92 ± 4.03	24.18 ± 9.10	۰/۰۰۱
فاکتور رشد شبه انسولین ۲ (mg/dL , IGF2)	2.83 ± 0.84	2.15 ± 0.56	۰/۰۰۱
قند خون ناشتا (mg/dL , FBS)	132.70 ± 40.76	84.72 ± 16.82	۰/۰۰۱
تری گلیسرید (mg/dL , TG)	165.94 ± 64.66	163.03 ± 65.98	۰/۶۷۷
کلسترول تام (mg/dL)	176.22 ± 35.72	180.37 ± 34.32	۰/۲۶۹
لیپوپروتئین با چگالی بالا (mg/dL , HDL)	44.60 ± 7.85	40.07 ± 3.09	۰/۰۰۱
لیپوپروتئین با چگالی پایین (mg/dL , LDL)	97.81 ± 27.91	106.37 ± 28.50	۰/۰۰۵
فشارخون سیستولیک (mmHg)	127.60 ± 14.39	123.06 ± 7.30	۰/۰۰۱
فشارخون دیاستولیک (mmHg)	80.26 ± 9.10	80.14 ± 5.70	۰/۸۸۸

* میزان P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار است.

بیشتر است ($P=0/001$)، اما فراوانی افراد دارای ژنوتیپ CA در افراد دیابتی در مقایسه با افراد غیردیابتی بیشتر است ($P=0/001$)، همچنین فراوانی آللی A و C در همین جدول نشان داده شده است (جدول ۳).

فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم 3'UTR IGF2 در ژن گیرنده IGF2 در دو گروه دیابتی نوع ۲ و غیردیابتی در جدول ۳ مشاهده می شود. فراوانی پلی مورفیسم ژنوتیپ AA در افراد غیردیابتی در مقایسه با جمعیت دیابتی نوع ۲ مورد مطالعه

جدول ۳، فراوانی ژنوتیپی و آللی پلی مورفیسم 3'UTR IGF2 در بیماران دیابتی نوع ۲ و افراد غیردیابتی مورد مطالعه

ژنوتیپ ها	افراد غیر دیابتی (n = 175)	افراد دیابتی (n = 175)	P
	(تعداد) درصد	(تعداد) درصد	
AA	۵۴/۹ (۹۶) درصد	۱۲ (۲۱) درصد	۰/۰۰۱
CA	۳۸/۹ (۶۸) درصد	۸۰/۶ (۱۴۱) درصد	۰/۰۰۱
CC	۶/۳ (۱۱) درصد	۷/۴ (۱۳) درصد	۰/۵
آل ها			
آل C	۲۵/۷ (۹۰) درصد	۴۷/۸ (۱۶۸) درصد	۰/۰۰۱
ال A	۷۴/۳ (۲۶۰) درصد	۵۲/۱۵ (۱۸۲) درصد	۰/۰۰۱

میزان P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار است.

CC و CA به طور معنی داری بیشتر از میانگین IGF2 سرم افراد با ژنوتیپ AA بود ($P=0/001$)، همچنین نتیجه آزمون فوق نشان داد که بالا بودن میانگین HDL سرم در افراد با ژنوتیپ CC نسبت به افراد با ژنوتیپ AA معنی دار است ($P=0/001$).

در سایر متغیرها شامل کلسترول تام، TG، فشار خون سیستولیک، فشار خون دیاستولیک در بین افراد با ژنوتیپ های مختلف تفاوت معنی داری مشاهده نشد (جدول ۴).

در جدول ۴ مقایسه میانگین و انحراف معیار متغیرهای اندازه گیری شده براساس سه ژنوتیپ مختلف پلی مورفیسم IGF2R3UTR در ژن گیرنده IGF2 کل جمعیت مورد مطالعه نشان داده شده است. تفاوت شاخص های بیوشیمیایی IGF2، FBS و HDL بین سه گروه ژنوتیپی مختلف معنی دار بود. آزمون تعقیبی توکی موید آن است که میانگین FBS سرم در افراد با ژنوتیپ CA به طور معنی داری بیشتر از میانگین FBS سرم افراد با ژنوتیپ CC و AA می باشد ($P=0/001$) و میانگین IGF2 سرم در افراد با ژنوتیپ

جدول ۴: مقایسه میانگین و انحراف معیار ($Means \pm SD$) شاخص‌های دموگرافیک و بیوشیمیایی اندازه‌گیری در سه ژنوتیپ مختلف پلی‌مورفیسم $IGF2R$ 3'UTR(C>A)

متغیرها	ژنوتیپ CC	ژنوتیپ CA	ژنوتیپ AA	P-value
سن (سال)	۵۲/۷۵±۱۰/۴۸	۵۲/۷۰±۹/۶۲	۵۱/۶۲±۱۰/۵۸	۰/۶۳۶
سن ابتلا به دیابت (سال)*	۴۴/۰۸±۷/۷۶	۴۵/۰۴±۷/۷۴	۴۶/۵۷±۶/۶۲	۰/۶۰۲
مدت ابتلا (سال)*	۹/۰۸±۵/۱۸	۸/۱۵±۴/۴۴	۹/۰۵±۴/۶۶	۰/۵۷۵
شاخص توده بدنی (Kg/m^2 , BMI)	۲۴/۸۱±۳/۰۵	۲۶/۵۰±۴/۰۵	۲۵/۵۰±۱۱/۲۷	۰/۳۴۰
فاکتور رشد شبه انسولین ۲ (mg/dL , IGF2)	۲/۶۵±۰/۷۴	۲/۶۰±۰/۸۱	۲/۲۶±۰/۷۰	\$۰/۰۰۱
قند خون ناشتا (mg/dL , FBS)	۱۰۹/۲۵±۴۴/۷۸	۱۱۸/۳۲±۴۱/۲۹	۹۱/۴۴±۲۷/۰۴	\$۰/۰۰۱
تری گلیسرید (mg/dL , TG)	۱۵۶/۷۵±۴۷/۲۳	۱۶۷/۹۰±۶۴/۰۴	۱۵۹/۹۷±۷۰/۴۲	۰/۴۸۰
کلسترول تام (mg/dL)	۱۸۵/۱۷±۳۵/۵۵	۱۷۶/۶۶±۳۵/۶۹	۱۷۹/۸۰±۳۳/۸۰	۰/۴۵۱
لیپوپروتئین با چگالی بالا (mg/dL , HDL)	۴۳/۵۰±۶/۵۰	۴۲/۸۸±۶/۹۴	۴۱/۱۴±۵/۰۱	\$۰/۰۴۰
لیپوپروتئین با چگالی پایین (mg/dL , LDL)	۱۰۸/۷۹±۳۱/۲۷	۹۹/۱۴±۲۷/۸۳	۱۰۵/۹۷±۲۸/۶۲	۰/۰۵۶
فشارخون سیستولیک (mmHg)	۱۲۶/۶۷±۱۰/۸۰	۱۲۵/۳۸±۱۱/۵۷	۱۲۴/۹۶±۱۱/۹۳	۰/۸۰۳
فشارخون دیاستولیک (mmHg)	۸۰/۸۳±۷/۶۱	۸۰/۲۲±۷/۹۵	۸۰/۰۴±۶/۹۳	۰/۸۹۷

ژنوتیپ CC، فرم وحشی؛ ژنوتیپ AA هموزیگوت جهش یافته؛ ژنوتیپ CA، هتروزیگوت جهش یافته.
*، در میان افراد گروه بیماران

\$ آزمون توکی نشانگر آن است که میانگین FBS سرم در افراد با ژنوتیپ CA به‌طور معنی‌داری بیشتر از FBS سرم افراد با ژنوتیپ CC و AA است ($P=۰/۰۰۱$)، میانگین IGF2 سرم در افراد با ژنوتیپ CC و CA به‌طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ AA بود ($P=۰/۰۰۱$) همچنین اختلاف میانگین HDL سرم در افراد با ژنوتیپ CC و افراد با ژنوتیپ AA معنی‌دار است ($P=۰/۰۰۱$).

بحث

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که فراوانی پلی‌مورفیسم CA در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ به‌طور معنی‌داری بیشتر از افراد غیردیابتی بود در حالی که بیش از نیمی از افراد غیردیابتی دارای پلی‌مورفیسم AA بودند (جدول ۳). تفاوت شاخص‌های FBS، IGF2، HDL و LDL در بین سه گروه ژنوتیپی AA، CC، CA معنی‌دار بود، اما تفاوت در سایر شاخص‌های مورد آنالیز معنی‌دار نبود (جدول ۴). بیماری دیابت نوع ۲ شایع‌ترین بیماری متابولیکی بوده که عوامل محیطی و ژنتیکی در بروز آن نقش دارند. عامل اصلی

بروز این بیماری مقاومت به انسولین است که سازوکارهای پاتوفیزیولوژیک آن چند عاملی است (۲۱ و ۲۰). بررسی پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی نقش مهمی در شناخت عوامل ژنتیکی درگیر در مقاومت به انسولین دارد. تقریباً بیش از ۵۰ جهش و پلی‌مورفیسم‌های مختلف در ارتباط با پروتئین‌های مسیرهای سیگنال دهی انسولین ازجمله ژن گیرنده‌ی انسولین و ژن‌های گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین ۱ و ۲ شناسایی شده‌اند (۲۲). ناهنجاری در هریک از مولکول‌های مسیر سیگنال دهی انسولین، شامل گیرنده‌ی انسولین و مولکول‌های درگیر مسیر سیگنالی، می‌توانند در

ژنوتیپ هتروزیگوت CA هستند که شانس ابتلا به این بیماری را افزایش می‌دهد، در حالی که درصد بالایی افراد غیردیابتی حاوی ژنوتیپ AA هستند، که می‌توان چنین تفسیر کرد که احتمالاً ژنوتیپ هموزیگوت این پلی‌مورفیسم اثر محافظتی در برابر ابتلای به دیابت نوع ۲ دارد. این مطالعه که ارتباط پلی‌مورفیسم ژن IGF2R را با دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار داده است برای نخستین بار در ایران انجام گرفته است. مطالعه در سایر جمعیت‌ها با حجم نمونه‌ی بیشتر جهت تایید یافته‌های فوق مورد نیاز است

نتیجه‌گیری

با توجه به اهمیت تاثیر عوامل ژنتیکی بر بروز بیماری دیابتی بهتر است مطالعات بیشتری در زمینه ارتباط انواع پلی‌مورفیسم‌های ژن IGF2R با بیماری مذکور انجام گیرد. پلی‌مورفیسم (C>A) ناحیه 3'UT ژن IGF2R با برخی از شاخص‌های مقاومت به انسولین به‌ویژه FBS و در نتیجه دیابت نوع ۲ ارتباط دارد. ممکن است آلل A اثر محافظتی در برابر ابتلای دیابت نوع ۲ داشته باشد.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم تحقیقات و فن‌آوری پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زنجان و مرکز تحقیقات غدد و بیماری‌های متابولیک زنجان بابت تصویب و تامین هزینه‌های این طرح تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

References

1- Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*. 2010; 87: 4-14.

پاتولوژی مقاومت به انسولین نقش داشته باشند. با توجه به مشابهت زیاد ساختمانی انسولین به IGF2، احتمالاً بخشی از پیام‌های انسولین از طریق اتصال به گیرنده IGF2 سیگنال دهی می‌شود. بنابراین هرگونه تغییر ژنی و وجود پلی‌مورفیسم در ژن گیرنده IGF2 می‌تواند در پیام رسانی انسولین اختلال نموده که منجر به مقاومت به انسولین شود. فرضیه‌ی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های ژن IGF2R با دیابت نوع ۲ زمانی مطرح شد که در برخی مطالعات ارتباط پلی‌مورفیسم ژن IGF2R با BMI و سندرم تخمدان پلی‌کیستیک گزارش شد (۲۴ و ۲۳). ویلون‌داس و همکارانش (۱۴) در یک مطالعه‌ی مورد-شاهدی ۲۱۷ نفر غیردیابتی و ۱۴۵ نفر دیابتی نوع ۲ در اسپانیا، گزارش نمودند که پلی‌مورفیسم ACA A Insertion/Deletion در 3'UTR ژن IGF2R احتمالاً در پاتوژنز دیابت نوع ۲ دخالت دارد. همچنین در مطالعه دیگری توسط الوی و همکارانش (۱۵) مشاهده نمودند که پلی‌مورفیسم فوق در ژن IGF2R موجب تغییر سطح بیان IGF2R شده که این نیز در پاتوژنز دیابت نوع ۲ موثر است. در مجموع در راستای نتایج برخی از محققین که ارتباط دیگر پلی‌مورفیسم‌های ژن IGF2R را با پارامترهای مقاومت به انسولین بررسی نموده‌اند (۱۴ و ۱۵)، نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که پلی‌مورفیسم 3'UTR(C>A) ژن IGF2R با برخی از شاخص‌های مقاومت به انسولین به‌ویژه FBS و در نتیجه دیابت نوع ۲ ارتباط دارد. همچنین یافته‌های این مطالعه حاکی از آن است که درصد بالایی از افراد دیابتی نوع ۲ مورد بررسی دارای

2- Pettitt DJ, Talton J, Dabelea D, et al. Prevalence of diabetes mellitus in U.S. youth in 2009: The search for diabetes in youth study. *Diabetes Care*. 2014; 37: 402-8.

- 3- Hossain P, Kavar B, El Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world — a growing challenge. *N Engl J Med*. 2007; 18: 213-5.
- 4- Hegele RA, Pollex RL. Genetic and physiological insights into metabolic syndrome. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2005; 289: 663-9.
- 5- Tritos NA, Mantzoros CS. Clinical review 97: syndromes of severe insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab*. 1998; 83: 3025-30.
- 6- Laureys G, Barton DE, Ullrich A, Francke U. Chromosomal mapping of the gene for the type II insulin-like growth factor receptor/cation-independent mannose 6-phosphate receptor in man and mouse. *Genomics*. 1988; 3: 224-29.
- 7- Riesewijk AM, Xu YQ, Schepens MT, et al. Absence of an obvious molecular imprinting mechanism in a human fetus with monoallelic IGF2R expression. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 245: 272-77.
- 8- Brown J, Gilbert R, Delanie C. Structure and functional analysis of the IGF-II/IGF2R interaction. *EMBO J*. 2008; 27: 265-76.
- 9- Ong KK, Dunger DB. Developmental aspects in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2001; 185: 145-49.
- 10- Müller MJ, Lagerpusch M, Enderle J, Schautz B, Heller M, Bosy-Westphal A. Beyond the body mass index: tracking body composition in the pathogenesis of obesity and the metabolic syndrome. *Obes Rev*. 2012; 13: 6-13
- 11- Ludwig T, Eggenschwiler J, Fisher P, D'Ercole AJ, Davenport ML, Efstratiadis A. Mouse mutants lacking the type 2 IGF receptor (IGF2R) are rescued from perinatal lethality in IGF2 and IGF1R null backgrounds. *Developmental Biology*. 1996; 177: 517-35.
- 12- Binici DN, Karaman A, Coşkun M, Oğlu AU, Uçar F. Genomic damage in patients with type-2 diabetes mellitus. *Genet Couns*. 2013; 24:149-56.
- 13- Duggirala R, Blangero J, Almasy L, et al. A major locus for fasting insulin concentrations and insulin resistance on chromosome 6q with strong pleiotropic effects on obesity-related phenotypes in nondiabetic Mexican Americans. *Am J Hum Genet*. 2001; 68: 1149-64.
- 14- Villuendas G, Carretero JIB, Bermejo AL, et al. The ACAA-insertion/deletion polymorphism at the 30 UTR of the IGF-II receptor gene is associated with type 2 diabetes and surrogate markers of insulin resistance. *Eur J Endocrin*. 2006; 155: 331-36.
- 15- Lv K, Guo Y, Zhang Y, Wang K, Jia K, Sun S. Allele-specific targeting of hsa-miR-657 to human IGF2R creates a potential mechanism underlying the association of ACAA-insertion/deletion polymorphism with type 2 diabetes. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 374: 101-5.
- 16- Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. 1. Diagnosis and classification of diabetes mellitus, provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998; 15: 539-53.
- 17- Dalton M, Cameron AJ, Zimmet PZ, et al. Waist circumference, waist-hip ratio and body

- mass index and their correlation with cardiovascular disease risk factors in Australian adults. *J Intern Med*. 2005; 254: 555-63.
- 18- Matsuda M, DeFronzo R. Insulin sensitivity indices obtained from oral glucose tolerance testing. *Diabetes Care*. 1999; 22:1462-70.
- 19- Fridwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18: 499-502.
- 20- Bloomgarden MD. Concepts of insulin resistance. *Metab Syndr Related Disord*. 2005; 3: 284-93.
- 21- Bouche C, Serdy S, Kahn CR, Goldfine AB. The cellular fate of glucose and its relevance in type 2 diabetes. *Endocr Rev*. 2004; 25: 807-30.
- 22- San Millan JL, Corton M, Villuendas G, Sancho J, Peral B, Escobar-Morreale HF. Association of the polycystic ovary syndrome with genomic variants related to insulin resistance, type 2 diabetes mellitus, and obesity. *J Clin Endocrinol Metab*. 2004; 89: 2640-46.
- 24- Di Bacco A, Gill G. The secreted glycoprotein CREG inhibits cell growth dependent on the 5 mannose-6-phosphate/insulin-like growth factor II receptor. *Oncogene*. 2003; 22: 5436-45.

Association of IGF2R3'UTR(C>A) Polymorphism in M6P/IGF2 Receptor Gene with Insulin Resistance Indices in Diabetic Type 2 Patients and Non Diabetic Population

Majidi F^{1,2}, Chiti H¹, Ramzani A², Fathi M³, Salmani R⁴, Mellati AA^{1,3}

¹Zanjan Metabolic Diseases Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

²Faculty of Pharmacy, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

³Dept of Biochemistry, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

⁴Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

Corresponding Author: Mellati AA, Biochemistry Department, Zanjan Metabolic Disease Research Center, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran

E-mail: mellati@zums.ac.ir

Received: 21 Sep 2013 **Accepted:** 5 Jan 2015

Background and objective: Association of 6q loci, where IGF2R gene is located, with insulin resistance has been well established. In this study, relationship between 3'UTR and type 2 diabetes and insulin resistance indices in non diabetic subjects was investigated.

Materials and Methods: 350 participants (175 diabetic type 2 patient and 175 non-diabetic individuals) were entered in this study. Demographic data were collected. BMI and serum levels of glucose, lipid profiles and IGF2 of all participants were measured. Genotype polymorphism of studied participants was determined by PCR-RFLP method. Then, the relationship between genotypes and insulin resistance indices was measured and analyzed using statistical procedures of ANOVA and post hoc analysis.

Results: The genotypes frequency comprised CC (6.85%), AA (33.45%), and CA (59.55%), indicating that the frequency of carrier with CA genotype polymorphism was significantly ($P<0.05$) higher in type 2 diabetic patients (80.6%) than in non-diabetic participants. Serum FBS levels of CA carriers were significantly ($P=0.001$) higher than carriers of other two genotypes (CC and AA). The mean levels of serum IGF2 in participants carrying CC and CA genotypes were significantly ($P=0.001$) more than other participants carrying genotype AA.

Conclusion: (C>A) IGF2R3'UTR polymorphism was associated with type 2 diabetes and some insulin resistance indices especially FBS. However, the A allele may have a protective effect on developing type 2 diabetes.

Keywords: IGF2R, Type 2 diabetes, Polymorphism