شیوع ژنوتیپ های متفاوت CASQ1 rs2275703(A/C) در بیماران مبتلا به T2DM

رسول نصیری کالمرزی[۱]، سمیه بداقی[۲]، آزاد فتاحی راد[۳]، فاطمه کشاورزی[۲*]

۱) مرکز تحقیقات بیماری های ریه و آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

۲) گروه زیست شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۳) بیمارستان توحید، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۱۱ **تاریخ پذیرش:۱۳۹۸/۹/۳**

چکیده

مقدمه: عوامل ژنتیکی نقش مهمی در بروز دیابت تیپ ۲ دارند. هدف از مطالعه جاری بررسی شیوع پلی مورفیسم CASQ1(rs2275703) در ۱۰۰ بیمار مبتلا به دیابت تیپ ۲ (T2DM) است.

مواد و روش ها: این مطالعه یک مطالعه مورد-شاهدی است. نمونه های خون از بیماران بالای ۳۵ سال مبتلا به دیابت تیپ ۲ بعد از اخذ رضایت نامه گرفته شد. ۱۰۰ نمونه خون بیمار همراه با ۱۰۰ نمونه کنترل(با همسان سازی سن و جنس) برای جایگاه CASQ1(rs2275703) به روش tetra-arms PCR ارزیابی شد و نتایج حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

یافته های پژوهش: از صد فرد سالم مورد بررسی شامل ۶۰ مرد و ۴۰ زن، به ترتیب ۳۴ و ۴۷ نفر ژنوتیپ AA، ۴، ۱۳ نفر ژنوتیپ AC و ۰، ۲ نفر ژنوتیپ CC داشتند. هم چنین از صد فرد سالم و صد بیمار دیابتی به ترتیب ۸۱ و ۷۱ نفر ژنوتیپ AA و ۱۷، ۲۵ نفر ژنوتیپ AC داشتند. به علاوه از صد فرد سالم ۲ نفر ژنوتیپ CC و تعداد افراد بیمار با این ژنوتیپ ۴ نفر بود. با توجه به آن چه بیان شد، ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم پلی مورفیسم CASQ1 rs2275703A/C و بیماری دیابت تیپ ۲ در جمعیت مورد بررسی وجود نداشت(P=0.241).

بحث و نتیجه گیری: پلی مورفیسم CASQ1 rs2275703A/C ارتباط معنی داری با دیابت تیپ ۲ در جمعیت مورد مطالعه ندارد.

واژه های کلیدی: پلی مورفیسم ژنتیکی، CASQ1 rs2275703A/C، دیابت تیپ ۲

* نویسنده مسئول: گروه زیست شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

Email:gol.keshavarzi@gmail.com

Copyright © 2019 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]

مقدمه

بیماری های شایع چند عاملی، طبیعت مزمنی داشته و مراقبت های مداوم بهداشتی و حمـــایتی را می طلبند. این بیماری ها بار سنگین اقتصادی، روانی و اجتماعی بر خانواده و جامعه تحمیل می نمایند. این بیماری ها از تاثیرات چندین ژن و محـــیط به وجود می آیند(۱). دقت در نقش عوامل ژنتیکی و ارثی در کنار عوامل محیطی در پیشگیری، تشخیص زودرس، درمان بیماری و عوارض آن کمک کننده است. از جمله این بیماری ها دیابت نوع ۲ است. دیابت نوع ۲ شایع ترین نوع دیابت بوده و ۹۰ درصد موارد این بیماری را به خود اختصاص داده است(۲). شیوع دیابت نوع ۲ پیوسته در حال افزایش است(۳). عوارض متعدد این بیماری نظیر عوارض قلبی-عروقی، کلیوی، چشمی و عصبی نه تنها کیفیت زندگی بیماران را شدیداً متاثر ساخته، بلکه به ناتوانی ها، معلولیت های زودرس و افزایش مرگ و میر بسیاری از مبـــتلایان منـــجر می گردد(۴). بنا بر این درمان این بیماری از اهمیت ویژه برخوردار بوده و مقدار زیادی از بودجه بهداشتی جوامع را به خود اختصاص می دهد. عوامل ژنتیکی نقش مهمی در بروز دیابت نوع ۲ دارند. با این که هنوز بسیاری از ژن های زمینه ساز ابتلا به دیابت شناخته نشده است ولی مشخـــص اســـت که این بیماری پلی ژنیک و چند عاملی می باشد(۵). ژن های متعددی با دیابت تیپ ۲ در ارتباط هستند(۶) با این حال ژنتیک دیابت نوع ۲ پیچیده است و هنوز به خوبی تعریف نشده است(۷). تحقـیقات نشـــان می دهد ژن CASQ1 با دیابت تیپ ۲ مرتبط است(۸). ژن CASQ1 عضو خاصی از خانـــواده پروتئـــین Calsequestrin را در عضلات اسکلتی کد می کند. عملکرد این پروتئین به عنوان سنسور کلسیم مجاری شبکه سارکوپلاسمی در سلول های ماهیچه اســـکلتی و ماهیچه قلبی است. فراوان ترین پروتئـــین میان پروتئین های شبکه سارکوپلاسمی است که غلظت آن بیـــشتر از ۱۰۰ میلی گرم بر میلی لیتر است(۹). CASQ1 با ظرفیت بالا و قدرت پیوستگی متوسطی به کلســـیم متصل می شود(۱۰). دو ایزوفرم عمده CASQ1 وجود دارد شامـــــل Calsequestrin ماهیـــــچه اسکلتی و Calsequestrin ماهیچـــه قلـــبی، که توســـط ژن های CASQ1 و CASQ2 کد می شـــوند و به ترتیب در انســـان بر روی کـــــــروموزوم(1q21) و (1p13/3-p11) قراردارند. ایزوفرم CASQ1 هم چنین در حفره شبکه اندوپلاسمی برخی از سلول های عصبی و عضلات صاف هم وجود دارند(۹). گزارش شده که CASQ1 فعالانه در پروسه آزادسازی کلسیم نقش دارد به طوری که کلسیم را در کانال آزادســـازی متمرکز می کند. هم چنین در سنجش غلظت کلسیم و تنظیم مقدار آزادسازی کلسیم نقش دارد(۱۰). این امر بسیار مهمی است زیرا کلسیم(Ca^{2+}) یک پیامبر ثانویه فراگیر است که در بسیاری از مسیرهای انتقال پیام نظیر لقاح، تکثیر، انقباض، ترشح، یادگیری و حافظه مشارکت دارد. توانایی سیگنال های Ca^{2+} به فعال کردن افکتورهای مناسب بستگی دارد. شایان ذکر است که افکتورهای Ca^{2+} نه تنها در سیتوپلاسم(از قبیل مبدل های آنزیمی معروف مانند پروتئین کیناز C (PKC)، پروتئین کیناز وابسته به کالمودولین/Ca^{2+} یا فسفاتاز کلسی نورین)، بلکه در اندامـــک های محـصور در غشا(هسته، شبکه اندوپلاسمی(ER)، گلژی و میتوکندری) قرار دارند(۱۰). افکتور PKC با اتصال کلسیم فعال می شود و سپس سبب فسفریلاســـیون ناقـــلین گلوکز(GLUT1 و GLUT4) می شود(۱۱). این فسفریلاســـیون سبب افزایش میزان گیرنده های گـــلوکز در غشای سلولی می شود، در نتیجه مقدار انتقال گلوکز به سلول را کنترل می کند. پس افزایش کلسیم سیتوپلاسمی گام مهمی است در فعال شدن آبشار درون سلولی که واسط اثر فوری و طولانی مدت حمل و نقل گلوکز است، دارد(۱۱). لذا در تحقیق جـــاری بر آن هســـتیم تا پلی مورفیسمی از این ژن را که در مطالعات گذشته شیوع آن در افراد مبتلا به دیابت تیپ ۲ بیشتر گزارش شده در دو گروه کنترل و مبتلا به دیابت تیپ ۲ در کردستان بررسی کنیم.

مواد و روش ها

بیماران: تحقیق حاضر یک مطالعه مورد-شاهدی است. تشخیص ابتلاء به دیابت نوع دو بر اساس معیارهای آزمایشگاهی ADA (انجمن دیابت آمریکا) باید تایید شود. بر اساس آخرین معیارهای این انجمن ۴ ویژگی برای ابتلا به دیابت ملیتوس در بیمار باید وجود داشته باشد و توسط پزشک متخصص تایید شود. این

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]

معیارهای ۴ گانه عبارتند از: ۱. هموگلوبین قندی یا HbA1C مساوی یا بیشتر از ۶/۵ درصد بر اساس استاندارد NGSP صورت گرفته باشد. یادآور می شود این معیار قبلاً برای پایش درمان استفاده می شود ولی در حال حاضر معیار تشخیصی نیز تلقی می شود. ۲. گلوکز پلاسما در حالت ناشتا مساوی یا بالاتر از ۱۲۶ میلیگرم در دسی لیتر باشد. حالت ناشتا یعنی این که شخص حداقل برای ۸ ساعت هیچ کالری دریافت نکرده باشد. لازم به ذکر است که در غیاب علائم صریح هیپرگلیسمی یعنی پلی اوری، پلی دیپسی و کاهش وزن این یافته باید با تکرار تست در روز دیگر تایید گردد. ۳. گلوکز ۲ ساعته پلاسما مساوی یا بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر که پس از خوردن ۷۵ گرم گلوکز حل شده در آب در خلال تست تحمل گلوکز استاندارد تعیین شده باشد. ۴. چنان چه علائم هیپرگلیسمی موجود باشد و به علاوه گلوکز پلاسما در نمونه تصادفی مساوی یا بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر باشد. نمونه خون از بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ بر اساس معیارهای بیان شده، هم چنین افراد سالم به همان تعداد گرفته می شود. نمونه های سالم از نظر عدم وجود بیماری های سیستمیک دیگر مورد آزمایش قرار گرفته و باید فاقد بیماری سیستمیک دیگر باشند. هم چنین بیماران نیز از نظر نداشتن بیماری سیستمیک دیگر بررسی شده و فاقد بیماری سیستمیک دیگر باشند. این مطالعه بر روی ۱۰۰ بیمار مبتلا به دیابت تیپ ۲ مراجعه کننده به بخش دیابت بیمارستان توحید سنندج به همراه ۱۰۰ فرد سالم بدون شواهد بالینی یا عدم سابقه خانوادگی دیابت تیپ ۲ از اهداء کنندگان خون به عنوان گروه کنترل جمع آوری شد. افراد سالم و بیمار همگی کرد بودند و هر دو گروه از لحاظ سن و جنس همسان سازی شدند. بعد از انتخاب بیماران و افراد کنترل، در ابتدا اطلاعاتی به صورت کتبی و شفاهی در مورد طرح برای آگاه سازی به آن ها منتقل شد. هم چنین موافقت نامه های اطلاعاتی از تمام موضوعات مورد مطالعه بر اساس پروتکل تایید شده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان(D.P.16.35.2510) از داوطلبین به دست آمد. در ادامه دو میلی لیتر خون از هر فرد(سالم و بیمار) گرفته شده و در ویال حاوی EDTA برای انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری می شود.

ملاحظات اخلاقی: اصول اخلاقی، پژوهشگران و به ویژه افراد با کارکردهای خاص را در سطح جامعه ملزم می کند که اصولی رفتار کنند؛ زیرا هر قدر مسئولیت ها مهم تر و جدی تر باشد، تکلیف های ناشی از رعایت اصول اخلاقی و اخلاقیات بیشتر است. چندین اصل اخلاقی در رابطه با شرکت کنندگان حاکم است، این اصول شامل این موارد می باشد: رضایت آگاهانه داوطلبانه، حق انصراف از پژوهش، افشای اطلاعات، حریم خصوصی/رازداری-محرمانگی، اجتناب از آسیب رساندن، اجتناب از تبعیض، عدم استثمار، ضرر ناشی از مشارکت در پژوهش.

آزمایشات مولکولی

استخراج DNA از خون با استفاده از محلول DNAfast: ابتدا µl ۹۰۰ از محلول DNAfast را در درر تیوب ۱/۵ ml ریخته و سپس µl ۲۰۰-۱۰۰ خون به آن اضافه شد و به مدت یک دقیقه این مخلوط به شدت تکان داده شد(Vortex گردید). تیوب به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده شدند. مقدار µl ۴۰۰ کلروفرم به نمونه اضافه شده و لوله به مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان داده شد(Vortex نگردید)(حدوداً ۶ بار لوله به آرامی سروته شد). سپس به مدت ۳ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار گرفت و با دور ۱۲۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه و در درجه حرارت ۴ درجه سانتی گراد در میکروسانتریفیوژ، سانتریفیوژ شد. در این مرحله ۳ فاز مشخص در تیوب ایجاد شد، محلول رویی(فازبالایی) به آرامی جدا گردید و به یک لوله میکروفیوژ جدید منتقل گردید. به اندازه حجم جدا شده، محلول ایزوپروپروپرانول(حدودا µl ۶۰۰-۵۰۰) اضافه شد و به خوبی Vortex گردید. سپس تیوب حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه بر روی یخ خرد شده قرار داده شد. در ادامه تیوب با دور ۱۲۰۰۰ pm به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. به آرامی محلول رویی را خارج و رسوب حاصل در ته لوله باقی ماند. مقدار ۱ ml از اتانل درصد به رسوب ته تیوب اضافه شد و به آرامی تکان داده شد تا رسوب بدین وسیله شستشو داده شود. نمونه با دور ۷۵۰۰ rpm به مدت ۵

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]

دقیـــــقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ گردید. به آرامی مایع رویی خارج گردید و رسوب DNA در ته تیوب باقی ماند. در ادامه تیوب به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده شد تا رسوب DNA کمی خشک گردد. رسوب DNA در ۲۰ µl آب مقطر استریل حل شد. برای اطمینان از کیفیت DNA مقدار ۳ µl از نمونه بر روی ژل آگاروز ۰/۷ درصد و با استفاده از رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید و اشعه UV ملاحظه گردید.

ارزیابی کمی و کیفی DNA: پس از استخراج DNA از خون تام، مقدار کمی آن با دستگاه اسپکتروفومتر اندازه گیری شد. غلظت DNA و پروتئین هر نمونه بر حسب میکروگرم بر میلی متر در طول موج های ۲۶۰ nm، ۲۸۰ nm تعیین شد. جهت بررسی کیفیت نمونه ها در این پژوهش از ژل آگارز نیز استفاده شد.

Tetra-ARMs PCR: اساس این تکنیک طراحی چهار پرایمر برای هر جایگاه می باشد که هر ۴ پرایمر را به طور هم زمان برای هر نمونه در یک میکروتیوب ریخته و با افزودن مواد مورد نیاز عمل PCR انجـــام می گردد. سکـــانس ژن CASQ1 با مراجعه به سایت بین المللی NCBI به دســـت آمد و سپس با استفاده از نرم افـــزار آن لاین Primer 3 برای SNP مورد نظر ۴ پرایمـــر، دو پرایمر داخلی و دو تا خارجی طراحی شد. بعد از طـــراحی جهت سنتز به شرکت سیناژن سفارش داده شـــد(جدول شماره ۱).

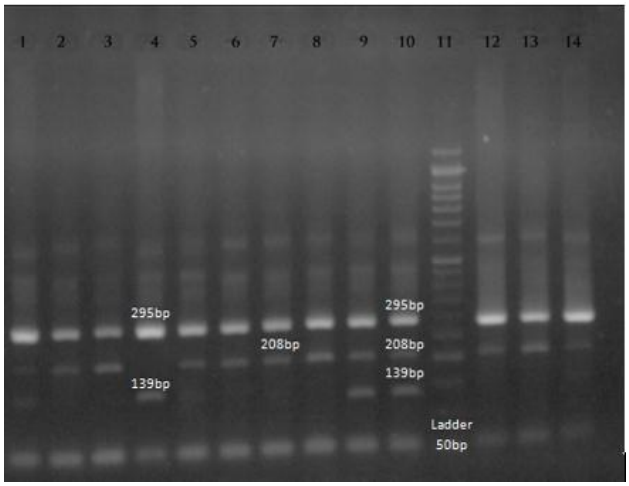
جدول شماره ۱. پرایمرهای پلی مورفیسم CASQ1 جهت انجام Tetra-ARMS PCR

SNP	system	Primer sequence (5′ – 3′)	Allele
rs2275703	Forward inner primer	(A); 5’GTACTCTGGGGGTTCCCAGACAAACA3’	A
	Reverse outer primer	5’ACATCACCCAGTGTCTCAGCCTCTACCT3’	
	Reverse inner primer	(C);5’TGAGGGGAAGGTGGAATACTGGAAGG3’	C
	Forward outer primer	5’AGCTGCATCCTCGAAGGCTTTGTAATCT3’	

زوج پرایمرهای مورد استفاده شامل یک جفت پرایمر خارجی عمومی و یک جفت پرایمر داخلی اختصاصی آلل برای هر ژن بود. اندازه قطعاتی که به وســـیله این ۴ پرایـــمر بـــرای ژن CASQ1 (rs2275703) تکثیر می شد، به شرح ذیل است: قطعه تکثیری حاصل از پرایمرهای Forward و Reverse خارجی برابر است با ۲۹۵ bp و طول قطعه حاصل از پرایمرهای Forward داخلی و Reverse خارجی برابر اســـت ۲۰۸ bp (برای آلل A) و هم چنین طول قطعه حاصـــل از پرایمرهای Forward خارجی و Reverse داخلـــی برابر با ۱۳۹ bp(برای آلل C) اســـت. در ادامه نـــوع و تعـــداد ژنوتیپ های در افـــراد ســـالم و دیابتی با روش Tetra-ARMS PCR و با استفـــاده از کیـــت سیناژن و طبق دستورالعمل مربوط انجام شد(شکل شماره ۱).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]



شکل شماره ۱. تصویر الگوی الکتروفورزی محصولات PCR ژن casq1 (rs2275703)، زوج پرایمرهای مورد استفاده شامل دو پرایمر Forward برای هر نمونه و یک پرایمر Reverse مشترک بود اندازه قطعاتی که به وسیله این پرایمرها تکثیر می شوند بدین صورت است: پرایمر اول طول باند برابر با ۴۳۷ bp و پرایمر دوم طول باند آن ۲۰۰ bp و سومی به طول ۲۹۴ bp می باشد
4: Homo C/C (Control: 295 bp, C: 139 bp)
7: Homo A/A (Control: 295 bp, A: 208 bp)
10: hetro A/C (control: 295 bp, A:208 bp, C:139 bp)
11: ladder 50 bp

یافته های پژوهش

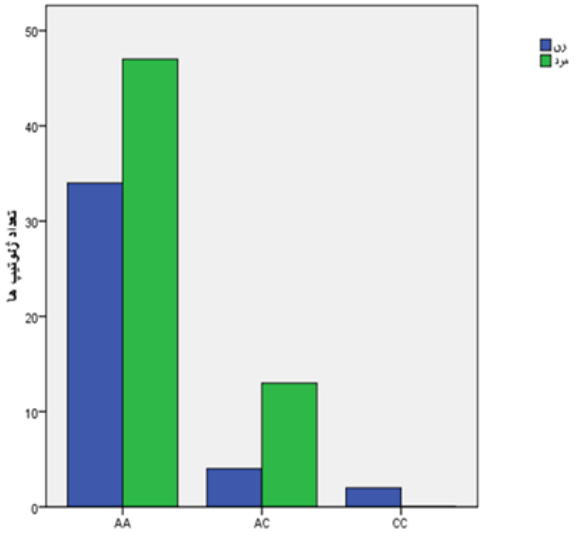
در این مطالعه ۱۰۰ فرد سالم به عنوان نمونه کنترل و ۱۰۰ فرد بیمار بالای ۳۵ سال مبتلا به دیابت نوع ۲ شرکت داشته اند. افراد سالم فاقد هر گونه بیماری سیستمیک مانند دیابت و بیماری های قلبی-عروقی بودند. از صد فرد سالم مورد بررسی ۶۰ نفر مرد و ۴۰ نفر زن بودند، توزیع ژنوتیپ ها در جدول شماره ۲ آمده است.

جدول شماره ۲. نحوه توزیع فراونی ژنوتیپ های بین مردان و زنان در افراد سالم

ژنوتیپ	جنسیت		تعداد کل
	زن	مرد	
AA	۳۴	۴۷	۸۱
AC	۴	۱۳	۱۷
CC	۲	۰	۲
جمع کل	۴۰	۶۰	۱۰۰

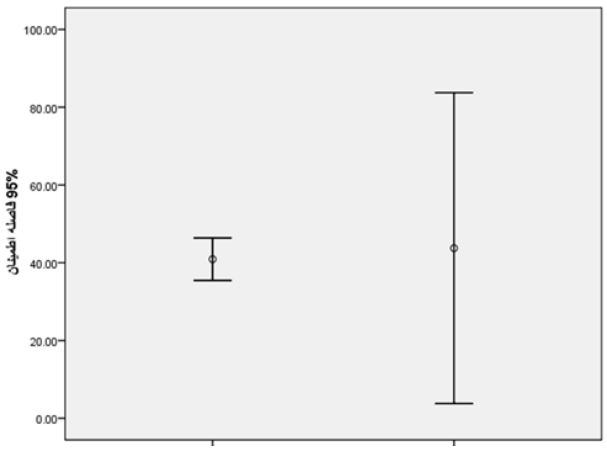
همان طور که جدول نشان می دهد از ۴۰ نفر خانم سالم و ۶۰ نفر مرد سالم، به ترتیب ۳۴ و ۴۷ نفر ژنوتیپ نوع AA داشته اند. هم چنین از این تعداد زن و مرد سالم ۴ و ۱۳ نفر به ترتیب ژنوتیپ نوع AC داشته اند. ۲ نفر از خانم ها ژنوتیپ نوع CC داشته و هیچ مردی این نوع ژنوتیپ را در نمونه های مورد بررسی نداشتند. هم چنین در پاسخ به این پرسش که آیا نحوه توزیع این ژنوتیپ ها در بین زن ها و مردها در جامعه مورد بررسی یکسان است یا خیر؟ برای بررسی این فرض، از آزمون کای دو استفاده شد. مقدار معنی داری(P) این آزمون در این حالت ۰/۰۸ است، بنا بر این چون این عدد از سطح خطای ۰/۰۵ بیشتر است، با اطمینان ۹۵ درصد می توان گفت توزیع نوع ژنوتیپ بین زنان و مردان سالم تقریباً یکی است. نمودار شماره ۲ نحوه توزیع ژنوتیپ ها را با توجه به جنسیت واضح تر نشان می دهد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]
[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]



شکل شماره ۲. شیوع ژنوتیپ های CC, AC, AA در افراد سالم

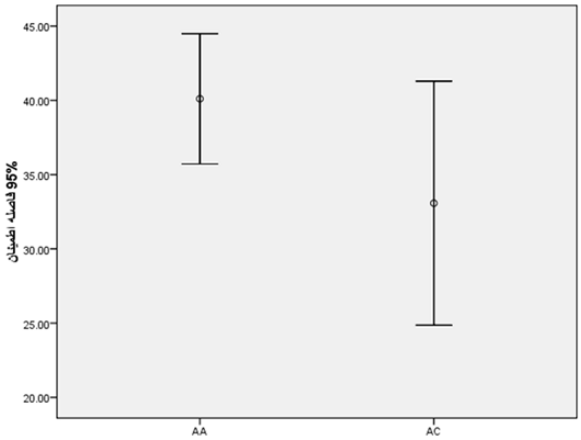
نمودار شماره ۲ نشان می دهد با وجود بیشتر بودن تعداد ژنوتیپ ها نوع AA در مردان، تفاوت معنی داری بین توزیع ژنوتیپ های زنان و مردان سالم بر اساس آزمون آماری مشاهده نشد. به علاوه، نحوه توزیع سن افراد سالم با نوع ژنوتیپ نیز بررسی شد و از نمودار میله ای خطا استفاده شد. در این نمودار میانگین هر طبقه با یک نقطه و با محاسبه واریانس، یک فاصله اطمینان برای داده های آن طبقه رسم شد. چون در افراد سالم تعداد افراد با ژنوتیپ CC دو نفر ساختن فاصله اطمینان برای آن دقت لازم را ندارد، بنا بر این این نوع ژنوتیپ را در رسم این نمودار کنار قرار داده شد. چون ژنوتیپ نوع CC فقط در خانم ها وجود دارد، حذف این ژنوتیپ امکان مقایسه بهتر بین جنسیت، توزیع سن و نوع ژنوتیپ را ایجاد نمود. نتایج این تحلیل در نمودارهای شماره ۳ و ۴ آمده است.



شکل شماره ۳. نمودار میله ای خطا برای بررسی نحوه توزیع ژن در ژنوتیپ های زنان سالم
همان طور که نمودار نشان می دهد پراکندگی سنی برای ژنوتیپ نوع AC بیشتر است.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]



شکل شماره ۴. نمودار میله ای خطا برای بررسی نحوه توزیع سن در ژنوتایپ های مردان سالم

شکل شماره ۴ نشان می دهد، پراکندگی سنی برای ژنوتیپ نوع AC بیشتر است. شکل های شماره ۳ و ۴ نشان می دهند در هر دو جنس پراکندگی سنی برای ژنوتیپ نوع AC بیشتر است. با وجـود این در خانم های سالم میانگین سنی برای هر دو نوع ژنوتیپ تقریباً برابر است. اما میانگین سنی ژنوتیپ نوع AA برای مردان سالم از میانگین سنی ژنوتیپ نوع AC بیشتر است.

برای بررسی رابطه ژن CASQ1 با بیماری دیابت، نوع ژنوتیپ افراد سالم و بیماران دیابتی را با تشکیل جدول توافقی، به طریق مشابه مورد مقایسه قرار گرفت.

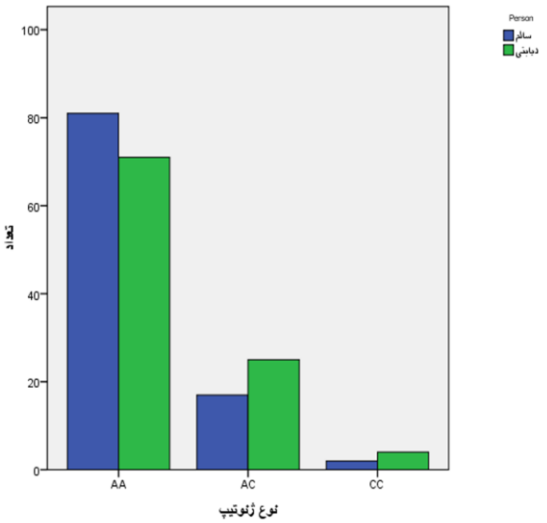
جدول شماره ۳. نحوه توزیع فراونی ژنوتیپ ها در افراد سالم و بیماران دیابتی

نوع ژنوتیپ	وضعیت سلامتی افراد		تعداد
	سالم	بیماران دیابتی	
AA	۸۱	۷۱	۱۵۲
AC	۱۷	۲۵	۴۲
CC	۲	۴	۶
جمع کل	۱۰۰	۱۰۰	۲۰۰

جدول شماره ۳ نشان می دهد که از صد فرد سالم و صد نفر بیمار دیابتی به ترتیب ۸۱ و ۷۱ نفر دارای ژنویپ AA هستند. هم چنین از صد فرد سالم و صد نفر بیمار دیابتی به ترتیب ۱۷ و ۲۵ نفر دارای ژنویپ AC هستند. علاوه براین از صد فرد سالم ۲ نفر ژنوتیپ نوع CC و تعداد این نوع ژنوتیپ برای افراد بیمار ۴ است. برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ های ژن CASQ1 در افراد سالم و افراد دیابتی نیز از آماره خی دو استفاده می کنیم. مقدار آماره خی دو برای بررسی فرض ارتباط نوع ژنوتیپ ها با وضعیت سلامتی افراد (بیماران دیابتی یا افراد سالم) برابر ۰/۲۴۱ است. این عدد از مقدار خطای مورد نظر یعنی ۰/۰۵ بیشتر است، یعنی با اطمینان ۹۵ درصد می توان گفت که رابطه معنی داری بین نوع ژنوتیـــــپ های ژن CASQ1 در افراد بیمار و دیابتی وجود ندارد. شکل شماره ۵ نمودار میله ای توزیع نوع ژنوتیپ را برای افراد بیمار دیابتی و ســـــالم به طور هم زمان نشان می دهد. نـــمودار نشـــــان می دهـــد بیـــــن تعـــــداد ژنوتیـــــپ های افراد سالم و بیمار تفاوت معنی داری نیست.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]



شکل شماره ۵. نمودار میله ای برای بررسی هم زمان نحوه توزیع ژنوتیپ های افراد سالم و بیمارن دیابتی در جامعه مورد بررسی

بحث و نتیجه گیری

با توجه به نقش عوامل ژنتیک در بیماری دیابت و شیوع بالای بیماری، شناسایی هر چه زودتر افرادی که به لحاظ ژنتیکی مستعد مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ هستند، می تواند در آگاهی دادن به افراد از لحاظ تغییر نوع زندگی، رژیم غذایی، و بررسی دقیق سلامت جامعه موثر باشد، لذا مطالعه حاضر در راستای تحقق این امر انجام پذیرفت. به طور کلی اهم نتایج به این قرار بود، از صد فرد سالم مورد بررسی که ۶۰ نفر مرد و ۴۰ نفر زن بودند، به ترتیب ۳۴ و ۴۷ نفر ژنوتیپ نوع AA داشته اند. هم چنین از این تعداد زن و مرد سالم ۴ و ۱۳ نفر به ترتیب ژنوتیپ نوع AC، ۲ نفر از خانم ها ژنوتیپ نوع CC و هیچ مردی این نوع ژنوتیپ را در نمونه های مورد بررسی نداشتند. هم چنین از صد فرد سالم و صد نفر بیمار دیابتی به ترتیب ۸۱، ۷۱ نفر دارای ژنوتیپ AA و ۱۷، ۲۵ نفر دارای ژنوتیپ AC داشتند. به علاوه از صد فرد سالم ۲ نفر ژنوتیپ CC و تعداد این نوع ژنوتیپ برای افراد بیمار ۴ نفر بود. با توجه به آن چه بیان شد ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم(rs2275703) CASQ1 و بیماری دیابت تیپ ۲ در جمعیت مورد بررسی وجود نداشت(P=0.241).

در ارتباط با تاریخچه کار باید گفت در طی پژوهشی در قفقاز واقع در شمال اروپا اسواپان و همکاران بر روی ۱۲۸ نفر دارای دیابت و ۱۰۸ نفر کنترل مطالعاتی انجام دادند و نشان دادند که SNP های مرتبط با دیابت تیپ ۲ در نزدیکی بالا دست اینترون ۲ ژن CASQ1 متمرکز هستند(۷). به عبارتی یافته های این مطالعه نشان داد که SNP های غیر کدگزاری در CASQ1 باعث افزایش حساسیت به دیابت تیپ دو می شود که این یا با اثر مستقیم بر روی بیان ژن CASQ1 و یا شاید با تنظیم یک ژن در نزدیکی آن منطقه مثل ژن PEA15 رخ می دهد(۵) که این نتیجه با نتایج ما در تناقض است. در مطالعه دیگری مشخص شد دو پلی مورفیسم rs2275703 و rs617698 که به ترتیب بر روی اینترون ۴ و ۲ قرار دارند به طور معنی داری با دیابت تیپ ۲ مرتبط هستند. این نتایج نشان داد که آلل C در(P=0.008) rs2275703 و آلل A در(P=0.04)rs617698 با افزایش خطر ابتلا به دیابت تیپ ۲ در ارتباط است(۹). باز در دو بررسی دیگر بر روی ارتباط جهش ژن Calsequestrin1 با بیماری عضلات اسکلتی در طی تغییر انتشار کلسیم سارکوپلاسمی محققین با تجزیه و تحلیل ایمونوسیتوشیمیایی به این نتیجه رسیدن که میانگین سطح CASQ1 در بیماران به طور معنی داری بیشتر از گروه کنترل است(۶). هم چنین با اندازه گیری کلسیم سارکوپلاسمی متوجه شدند که انتشار کلسیم در گروه جهش یافته یا بیمار کمتر از گروه کنترل است. به طور کلی جهش در CASQ1 سبب نقص در انتشار و هموستاز کلسیم در فیبرهای عضلانی می شود که سبب گرفتگی و ضعف و خستگی عضلات

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]

می شود(۶). به طور کلی با توجه به نتیجه ای که از این بررسی به دست آمده نشان داد پلـــــی مورفیـــــسم CASQ1 rs2275703A/C ارتباط معنی داری با دیابت تیپ ۲ در جمعیت مورد مطالعه نداشت. لذا، به نظر می آید برای تایید آن در جمعیت ایران و کردستان نیاز به بررسی افراد بیشتر در کردستان و همین طور در نواحی مختلف کشور است.

سپاسگزاری

مقاله حاضر بـــخشی برگـــرفته از یک طرح تحقیقی(۱۴/۷۷۲۷۶) با مرکز تحقیقـــات بیماری های ریه و آلرژی دانشگاه علوم پزشکی کردستان و بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم سمیه بداقی دانشجوی کارشناسی ارشد علوم سلولی و مولکولی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج می باشد. نویسندگان از کلیه افرادی که در این بررسی شرکت داشتند، قدردانی می نمایند.

کد اخلاق: IR.MUK.REC.1396/319

References

1.Mack LR, Tomich PG. Gestational diabetes diagnosis classification and clinical care. Obste Gynecol Clin North Am2017; 44:207-17. doi: 10.1016/j.ogc.2017.02.002.

2.Galleri L, Sebastiani G, Vendrame F, Grieco FA. Viral infections and diabetes. Adv Exp Med Biol 2012; 771: 252-71. doi: 10.1155/2014/804519.

3.Davidson MB. Correction to the 2010 report on the diagnosis and classification of diabetes. Diabetes Care 2010; 33: 57. doi: 10.2337/dc09-2368.

4.Nolan CJ, Damm P, Prentki M. Type 2 diabetes across generations from pathophysiology to prevention and management. Lancet 2011; 378: 169-81. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60614-4

5.Rossi D, Vezzani B, Galli L, Paolini C, Toniolo L, Pierantozzi E, et al. A mutation in the CASQ1 gene causes a vacuolar myopathy with accumulation of sarcoplasmic reticulum protein aggregates. Hum Mu 2014; 35:1163-70. doi: 10.1002/humu.22631.

6.Adamo MC, Sforna L, Visentin S, Grottesi A, Servettini l, Guglielmi L, et al. A calsequestrin1 mutation associated with a skeletal muscle disease alters sarcoplasmic Ca_2+ release. Plos One 2016; 11:155516. doi.org/10.1371/journal.pone.0155516.

7.Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, Xu A, Ong KL, Law LS, et al. Genetic variants associated with persistent cen tral obesity and the metabolic syndrome in a 12 year lon -gitudinal study. Eur J Endocrinol 2011; 164: 381-8. doi: 10.1530/EJE-10-0902

8.Swapan D, Winston C, Zhengxian Z, Sandra J. CASQ1 gene polymorphisms under chromosome 1q21 linkage peak are associated with type 2 diabetes in Northern European Caucasians. Diabetes 2004; 53:3300-6. doi.org/10.2337/diabetes.53.12.3300.

9.Fu M, Damcott CM, Sabra M, Pollin TI, et al. Polymorphism in the Calcequestrin 1 gene on chromosome 1q21 is associated with type 2 diabetes in the old order Amish. Diabetes 2004; 53: 3292-3299. doi: 10.2337/diabetes.53.12.3292.

10.Fu M, Gong DW, Damcott C, Sabra M, Yang R, Pollin TI, et al. Systemic analysis of omentin 1 and omentin 2 on 1q23 as candidate genes for type 2 diabetes in the old order Amish. Diabetes 2004;53:59-63.

11.Wright JR, Yang H, Hyrtsenko O, Xu BY, Yu W, Pohajdak B. A review of piscine islet xenotransplantation using wild type tilapia donors and the production of transgenic tilapia expressing a humanized tilapia insulin. Xenotransplantation 2014;21: 485-95. doi: 10.1111/xen.12115

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]

The Prevalence of Different Genotypes CASQ1 rs2275703 (A / C) in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus

Nasirikalmarzi R[1], Bodaghi S[2], Fatahirad A[3], Keshavarzi F[2]*

(Received: June 1, 2019 Accepted: November 24, 2019)

Abstract

Introduction: Genetic factors play an important role in the development of type 2 diabetes. The aim of this study was to investigate the prevalence of polymorphism CASQ1 (rs2275703) in 100 patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM) in Kurdistan, Iran.

Materials & Methods: This study was conducted based on a case-control design. After obtaining the informed consent, the blood samples were obtained from patients with T2DM who were over 35 years of age. In total, 100 blood samples from the patient group and 100 blood samples from the control group (with matched age and gender) were assessed for the status of CASQ1 (rs2275703) using Tetra-Arms polymerase chain reaction method. The data were then analyzed statistically. *Ethics code: IR.MUK.REC.1396/319*

Findings: Out of 100 healthy individuals (60 males and 40 females), 34 and 47 ones had genotype AA4, respectively. Moreover, 4 and 13 cases had genotype AC, and 0 and 2 individuals had genotype CC. Additionally, out of all healthy individuals and diabetic patients, 81 and 71 cases had genotype AA, respectively; moreover, 17 and 25 cases had genotype AC. In addition, out of 100 healthy individuals and 100 patients, 2 and 4 cases had genotype CC, respectively. There was no significant relationship between CASQ1 rs2275703 polymorphism and T2DM (P=0.241).

Discussion & Conclusions: According to the results, no significant relationship was observed between CASQ1 (rs2275703) polymorphism and T2DM in the population under study.

Keywords: Polymorphism, CASQ1 rs2275703, Type 2 diabetes mellitus

1. Lung Diseases and Allergy Research Center, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
2. Dept of Biology, Islamic Azad University, Sanandaj Branch, Sanandaj, Iran
3. Tohid Hospital, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
**Corresponding author Email: fkeshavarzi@iausdj.ac.ir*

Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2023-03-27]

[DOI: 10.29252/sjimu.27.6.96]