بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم G/A-308 ژن TNF-α (rs1800629) و استعداد ابتلاء به دیابت نوع دو در استان ایلام

حسن گلشنی[۱]، مجید دوستی[۲]، فاطمه سایه میری[۱]، کریمه حقانی[۳]، سالار بختیاری[۳،۱*]

۱) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۲) گروه ژنتیک شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

۳) گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۵/۱۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۸/۲۵

چکیده

مقدمه: تومور نکروز فاکتور(TNF-α) سایتوکاینی قوی می باشد که به عنوان یک عامل دخیل در فرایندهای التهابی و تنظیمات سیستم ایمنی و در توسعه چاقی، مقاومت به انسولین و احتمال ابتلاء به دیابت نوع دو شناخته شده است. در این مطالعه ارتباط پلی مورفیسم ۳۰۸ G/A- از ژن TNF-α با بیماری دیابت نوع دو(T2DM) مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش ها: در مجموع ۱۷۳ نفر مبتلا به دیابت نوع دو و ۱۷۳ نفر با قندخون نرمال در این مطالعه گنجانده شدند. برای تعیین ژنوتیپ افراد PCR-RFLP به کار گرفته شد. سپس فراوانی های ژنوتیپی و آللی در هر دو گروه مورد بررسی قرار گرفت. اندازه گیری لیپیدهای سرم و قند ناشتا، انسولین سرم، HOMA-IR و سطح هموگلوبین گلیکوزیله(HbA1c) توسط روش های مرسوم انجام شد. آنالیز آماری داده ها با نرم افزار SPSS انجام گرفت.

یافته های پژوهش: فراوانی آلل 'A'، به طور معنی داری بین گروه مورد و شاهد متفاوت بود(P<0.006) هم چنین فراوانی ژنوتیپ ها نشان داد که تفاوت معنی داری در ژنوتیپ GA بین افراد مورد و شاهد وجود دارد.(OR=3.67, 95%, CI=1.61-8.35, P<0.002) به طور مشابه، در مدل غالب، بین پلی مورفیسم ۳۰۸ G/A- ژن TNF-α و دیابت نوع دو ارتباط معنی داری وجود داشت.(OR=3.65, 95% CI=1.66-8.02, P<0.001) اما ارتباط معنی داری برای مدل مغلوب مشاهده نشد.(P>0.05)

بحث و نتیجه گیری: این مطالعه اولین مطالعه انجام شده در قوم کرد از غرب ایران است. یافته های این مطالعه نشان داد که فراوانی آلل و ژنوتیپ GA تفاوت معنی داری بین دو گروه مورد و شاهد دارد. هم چنین، بر اساس مدل غالب پلی مورفیسم ۳۰۸ G/A- ارتباط معنی داری باT2DM نشان می دهد.

واژه های کلیدی: دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین، پلی مورفیسم G/A۳۰۸-، کرد

***نویسنده مسئول**: کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام

Email: *bakhtiyari-s@medilam.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

مقدمه

بیماری دیابت شایع ترین بیماری متابولیک انسان است. این بیماری به گروهی از اختلال های متابولیک گفته می - شود که وجه مشترک آن ها بالا بودن گلوکز خون است،(۱). ابتلاء به دیابت به علت ایجاد عوارض باعث تحمیل رنج و هزینه زیادی در بیمار می گردد، که این عوارض شامل افزایش خطر بیماری های قلبی–عروقی، بیماری مرحله انتهایی کلیوی، کوری و قطع اندام تحتانی است،(۷-۲). به طور کلی دیابت ملیتوس به گروه هتروژنی از اختلالات متابولیک اطلاق می گردد که با کاهش ترشح انسولین، کاهش عملکرد انسولین و یا هر دو مشخص می شود و به دو دسته اصلی دیابت نوع یک و دیابت نوع دو تقسیم می - گردد،(۸). دیابت نوع دو یک اختلال غالب است که از طریق مقاومت به انسولین و کاهش نسبی تولید انسولین شناسایی شده و تقریباً ۹۰ درصد انواع دیابت ملیتوس را شامل می شود،(۹). سن بالا، چاقی، سابقه خانوادگی دیابت، سابقه قبلی دیابت حاملگی، تغذیه نادرست و عدم فعالیت بدنی عوامل خطر اصلی برای این بیماری به شمار می روند. این بیماری در بعضی از نژادها از جمله اقوام قفقازی و مکزیکی–آمریکایی های سرخپوستان Pima شیوع بیشتری دارد،(۱۰،۱۱). این اختلال یک وضعیت پاتولوژیک است که طی آن میزان طبیعی انسولین خون قادر به ایجاد پاسخ فیزیولوژیکی در بافت های هدف خود(ماهیچه و چربی) نیست. بنا بر این برای جبران اختلال مذکور میزان ترشح انسولین از سلول های بتای پانکراس افزایش یافته و این افزایش ترشح در نهایت منجر به نقص سلول های بتا شده و دیابت نوع یک حادث می گردد،(۱۲). بیماری دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین اختلالات چند عاملی هستند که عوامل متعددی از قبیل ژنتیک و محیط در بروز آن نقش دارند. با این وجود، هنوز توارث آن به طور قطع به اثبات نرسیده است. اعتقاد بر این است که بستگان درجه یک بیماران دیابتی شانس بالاتری در ابتلاء به این بیماری دارند. با این حال با توجه به گستردگی، پیچیدگی و چند عاملی بودن بیماری دیابت، شناخت دقیق عوامل ژنتیک با دشواری هایی همراه است. تاکنون مطالعات ژنومی مختلفی در چندین کشور و نژاد، جهت شناسایی ژن های مرتبط با دیابت نوع دو انجام شده است،(۱۳،۱۴). با این وجود، تعیین دقیق ژن(یا ژن های) دخیل در ایجاد دیابت نوع دو امکان پذیرنبوده است. به نظر می رسد که کلیه ژن های درگیر در مسیر پیام رسانی انسولین، سایر مسیرهای مرتبط با انسولین، مسیر بیوسنتز انسولین در پانکراس و چاقی می توانند کاندیداهای بالقوه علت ایجاد این بیماری باشند،(۸،۱۲). تاکنون پلی مورفیسم های متعددی از ژن TNF-αشناسایی شده اند. مطالعه در جمعیت هندیان پیما(pima Indians) ارتباط معنی داری را میان نشانگر نزدیک ژن TNF-α بر روی بازوی کوتاه کروموزوم ۶ با چاقی نشان داد،(۶،۱۲). سایتوکاین TNF-α به عنوان یک تنظیم کننده بین ژن، در سلول های چربی عمل می کند و سبب افزایش مقاومت به انسولین و چاقی می شود. با توجه به این که بافت چربی یکی از منابع مهم تولید TNF-α است، لذا بیان سایتوکاین در بافت چربی و عضله انسانی در زمان ابتلاء به چاقی افزایش می یابد. ارتباط قابل ملاحظه - ای میان افزایش بیان TNF-α با سطح بالای انسولین و میزان دفع گلوکز در طی آزمایش Glycemic clamp، گزارش شده است.(۱۵،۱۶)

از آن جایی که مقاومت به انسولین در پاتوژنز دیابت نوع دو سهیم است و چاقی نیز یک عامل خطر مستقل برای دیابت نوع دو است و از سوی دیگر بافت چربی افراد چاق نسبت به افراد طبیعی TNF-α بیشتری تولید می کند لذا می تواند عاملی بین مقاومت به انسولین و چاقی و دیابت نوع دو باشد،(۱۷). تحقیق حاضر ارتباط بین پلی مورفیسم 308G/A ژن TNF-α با استعداد ابتلاء به بیماری نوع دو را در جمعیتی از ایران مورد بررسی قرار می دهد.

مواد و روش ها

این تحقیق یک مطالعه مورد–شاهدی می باشد و تعداد نمونه ها به کمک روش های آماری تعیین گردید. جامعه مورد مطالعه در این تحقیق ۳۴۶ نفر شامل ۱۷۳ بیمار دیابتی نوع دو و ۱۷۳ فرد با گلوکز طبیعی، در محدوده سنی ۴۰ تا ۶۵ سال می باشند. نمونه گیری در آزمایشگاه مرکزی استان ایلام و آزمایشگاه بیمارستان امام خمینی(ره) شهر ایلام انجام گرفت. داوطلبین باید به مدت ۱۲ ساعت قبل از انجام آزمایشات از خوردن، فعالیت شدید فیزیکی و استعمال دخانیات امتناع می کردند. افراد نرمال که به عنوان گروه شاهد یا کنترل انتخاب و در آنالیزهای آماری ژنتیکی شرکت می کنند، افرادی هستند که فاقد هر گونه اختلال گلوکز(IFG و IGT) و بیماری های قلبی–عروقی(با تهیه الکتروکاردیوگرام) می باشند. بنا بر این، اگر در گروه شاهد فردی یکی از این اختلالات ذکر شده را داشته باشد از مطالعه خارج می شود. در مورد بیماران دیابتی نوع دو برای حذف اثر انسولین تزریقی بر روی میزان مقاومت به انسولین، بیمارانی که انسولین دریافت می کردند از مطالعه

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

خارج می شدند. وزن با حداقل پوشش ممکن و بدون کفش با استفاده از یک ترازوی دیجیتال اندازه گیری شد. قد با استفاده از متر نواری و در وضعیت ایستاده و بدون کفش در حالتی که کتف ها در شرایط عادی قرار داشتند، اندازه گیری شد. نمایه توده بدنی(BMI) از نسبت وزن(بر حسب کیلوگرم) به مجذور قد(بر حسب مترمربع) محاسبه شد.

اندازه گیری پارامترها: جهت اندازه گیری غلظت متابولیت ها مانند گلوکز، کلسترول، LDL، HDL، اوره، اسیداوریک، تری گلیسرید، کراتینین، SGOT وSGPT از دستگاهی به نام اتوآنالایزر استفاده شد. اتوآنالایزر ترکیب های شیمیایی خون را اندازه گرفته و روی نمودار نمایش می دهد. مقاومت به انسولین در حالت پایه ارزیابی و با استفاده از فرمول زیر محاسبه گردید:

HOMA-IR=
Insulin(μU/ml)×Glucose(mmol/l)/22/5

از افراد مورد مطالعه پس از ۱۲ ساعت ناشتا بودن، ۱۰ میلی لیتر خون سیاهرگی گرفته شد. نیمی از این نمونه خون برای آزمایشات بیوشیمیایی و نیمه دیگر برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت.

استخراج DNA: استخراج DNA از گلبول های سفیدخون با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت کیاژن انجام گرفت. تکثیر قطعه ۱۰۷ جفت بازی از ژن TNF-α که حاوی محل پلی مورفیسم مورد بررسی بود با استفاده از تکنیک PCR انجام گردید. پرایمرهای مورد استفاده شامل پرایمر مستقیم-'5 AGGCAATAGGTTTTGAGGGCCAT-3' و پرایمر معکوس:-'5 TCCTCCCTGCTCCGATTCCG-3 می باشد.

واکنش در حجم ۱۵ µl حاوی DNA الگو(۵۰ ng) ۱ µl، پرایمرها(۱۰ pmole) هر کدام ۱µl، کلرید منیزیم(۲۵ mM) ۰/۳µl، dNTPs Mix (۱۰ mM) ۰/۲µl، و آنزیم Taq پلی مراز(۵۰U/µl) به میزان ۰/۱ µl واحد انجام شد و برای رسیدن به حجم نهایی آب مقطر اضافه شد. برنامه زمانی واکنش عبارت است از: ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، سپس۳۰ چرخه شامل ۹۴ درجه سانتی گراد(۳۰ ثانیه) جهت واسرشت سازی دو رشته DNA، ۵۶ درجه(۴۵ ثانیه) جهت اتصال پرایمر به DNA و ۷۲ درجه(۱ دقیقه) برای طویل شدن. پس از اتمام ۳۰ چرخه، مخلوط واکنش به مدت ۳ دقیقه در دمای ۷۲ درجه باقی ماند تا عمل طویل شدن نهایی انجام شود. آنزیم محدودگر برای پلی مورفیسم G/A۳۰۸ ژن TNF-α، آنزیم NcoI می باشد.

۵ میکرولیتر از محصول PCR در دمای ۳۷ سانتی گراد و به مدت ۱۶ساعت توسط آنزیم NcoI هضم شد. برای تعیین ژنوتیپ افراد، مقدار ۱۰ میکرولیتر از محصول RFLP را با ۲ میکرولیتر رنگ مخصوص لود کردن(Loading dye) مخلوط کرده و روی ژل پلی - آکریل آمید ۱۲ درصد الکتروفورز گردید. پس از اتمام الکتروفورز و بعد از رنگ آمیزی توسط Safe stain باندهای مورد نظر در دستگاه ژل داکیومنتیشن رویت شدند.

تجزیه و تحلیل آماری: برای آنالیز فراوانی آلل ها از آزمون استفاده می شود. برای بررسی ارتباط پلی مورفیسم ها با فاکتورهای بیوشیمیایی و تن سنجی از آزمون های unpaired، Anova، Glm استفاده می گردد. کلیه آنالیزهای آماری با استفاده از نرم افزار SPSS انجام می - پذیرد. فراوانی آلل با شمارش آلل ها و محاسبه نسبت آن ها تعیین شد. با آزمون کای مربع، قرار داشتن جامعه در تعادل هاردی واینبرگ تایید شد. در نهایت با کمک آزمون کای مربع توزیع ژنوتیپ و آلل های مختلف در دو گروه بیمار و شاهد با هم مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته های پژوهش

در این تحقیق تعداد ۳۴۶ نفر(۱۷۳ بیمار دیابتی نوع دو و ۱۷۳ فرد با گلوکز طبیعی) مورد بررسی قرار گرفتند. جدول شماره ۱ اطلاعات دموگرافیک و نتایج آزمایشات بیوشیمیایی این افراد را نشان می دهد. با توجه به این که برای تمامی پارامترها مقدار P کمتر از ۰/۰۵ است، بنا بر این ارتباط معنی دار در هر دو گروه کنترل و دیابتی با پارامترهای بیوشیمیایی وجود دارد.

نتایج حاصل از الکتروفورز این گونه تفسیر شد که اگر بر روی ژل فقط یک باند ۱۰۷ bp مشاهده گردد نشان دهنده این است که هر دو آلل آن فرد از نوع جهش یافته می - باشند(هموزیگوت) و به صورت AA (زیرا توالی CCATGA در آلل جهش یافته، جایگاه برش NcoI نمی باشد) نشان داده می شود. اگر دو باندbp ۸۷ و ۲۰ bp ظاهر گردد یعنی آنزیم توالی غیر جهش یافته را در هر دو آلل شناسایی کرده و ژنوتیپ به صورت GG (وحشی یا Wild) می باشد.(زیرا توالی CCATGG در آلل غیر جهش یافته، جایگاه برش NcoI است). درصورتی که سه باند ۱۰۷ bp، ۸۷ bp و ۲۰ bp مشاهده گردد یعنی یکی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

از آلل ها جهش یافته و آلل دیگر غیر جهش یافته می - باشد(هتروزیگوت) و ژنوتیپ به صورت GA ارائه می گردد.(شکل شماره ۱)

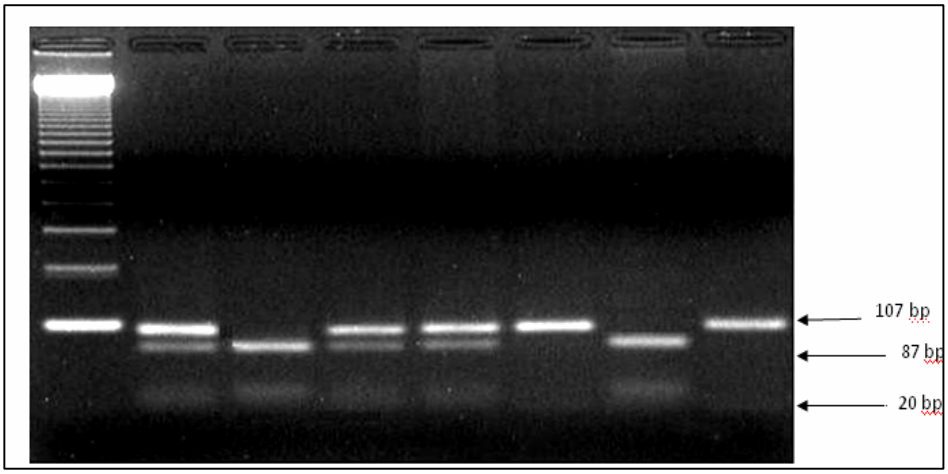
همان طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است تفاوت معناداری بین ژنوتیپ GA و فراوانی آلل AA در بیماران دیابتی با افراد سالم وجود دارد. همه P و odd ratios برای سن و جنس و BMI تعدیل شده اند. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی دار در نظر گرفته می شود. همان طور که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است، در آنالیز مدل غالب(GG vs. GA+AA) با روش رگرسیون مرحله ای(Categorical regression) نیز تفاوت معنی دار بود.

داده ها در جدول شماره ۱ به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده است. مقادیر P کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شده است. (BMI) نمایه توده بدن است، (HDL-C) کلسترول با دانسیته لیپوپروتئین بالا، (LDL-C) کلسترول با دانسیته لیپوپروتئین پائین، (HbA1c) هموگلوبین(A1c) HOMA-IR یکی از روش های سنجش مقاومت به انسولین است.(جدول شماره ۱)

برای بررسی بیشتر و شناخت ارتباط این ژن با پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی، ارتباط این پارامترها با ژنوتیپ GG و مجموع ژنوتیپ های GA و AA در افراد غیردیابتی و دیابتی به طور جداگانه آنالیز شدند که نتایج آن ها در جدول های شماره ۳ و ۴ آورده شده است.

همان طوری که در جدول شماره ۳ نشان داده شده، فقط در BMI، P کمتر از ۰/۰۵ است یعنی بین BMI با ژنوتیپ های GG و مجموع ژنوتیپ های AA و GA در بیماران غیردیابتی تفاوت معنی دار وجود دارد. و هیچ تفاوت معنی داری بین پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی دیگر با ژنوتیپ های GG و مجموع ژنوتیپ های AA+GA وجود ندارد.

نتایج نشان داد فقط در انسولین و HDL، P کمتر از ۰/۰۵ است یعنی بین این دو پارامتر موجود با ژنوتیپ GG و مجموع ژنوتیپ های GA و AA در بیماران دیابتی تفاوت معنی داری وجود دارد و هیچ تفاوت معنی داری بین پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی دیگر با ژنوتیپ های GG و مجموع ژنوتیپ های AA+GA وجود ندارد.



شکل شماره ۱. نتایج RFLP مربوط به 308G/A ژن TNF-α بر روی ژل پلی اکریل آمید. M: شاخص bp ۱۰۰. Wild=وحشی؛ Het=هتروزیگوت؛ Hom=هموزیگوت.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

جدول شماره ۱. مشخصات افراد شرکت کننده

پارامتر ها	گروه		
	دیابتی	کنترل	P
تعداد افراد(زن-مرد)	۱۷۳(۷۳/۱۰۰)	۱۷۳(۸۲/۹۱)	–
سن(سال)	۵۴/۱±۸/۶۵	۵۳/۸۰±۹/۲۲	۰/۱
نسبت دور کمر به دور باسن	۰/۹۲±۰/۰۵	۰/۸۷±۰/۰۹	۰/۰۰۰۱
نمایه توده بدن(kg/m^2)	۲۶/۱±۳/۸۵	۲۳/۸±۳/۰۵	۰/۰۰۰۱
گلوکز(mmol/L)	۹/۳۲±۲/۳۴	۵/۱۶±۰/۶۷	۰/۰۰۰۱
HbA1c(٪)	۸/۸±۰/۹۱	۵/۶±۰/۶۵	۰/۰۰۰۱
تری گلیسرید(mmol/L)	۲/۱±۱/۶	۱/۶±۰/۲۸	۰/۰۰۰۱
کلسترول(mmol/L)	۵/۷۳±۰/۳۳	۴/۵±۰/۲۷	۰/۰۰۰۱
HDL-C(mmol/L)	۱/۱۷±۰/۲۵	۱/۳۶±۰/۳۱	۰/۰۰۰۱
LDL-C(mmol/L)	۳/۳۹±۰/۸۸	۳/۱۱±۰/۸۵	۰/۰۰۰۱
فشار خون سیستولی(mmHg)	۱۲۹/۱۴±۱۶/۲۵	۱۱۶/۳۶±۱۵/۳۶	۰/۰۰۰۱
فشار خون دیاستولی(mmHg)	۸۶/۲۷±۱۰/۰۵	۷۷/۹۴±۸/۶۳	۰/۰۰۰۱
انسولین(µIU/ml)	۹/۳۶±۰/۴	۷/۱۶±۰/۲۸	۰/۰۰۰۱
HOMA-IR	۳/۲۴±۰/۵۴	۱/۷۲±۰/۳۶	۰/۰۰۰۱

جدول شماره ۲ . فراوانی آلل ها و ژنوتیپ های پلی مورفیسم G/A ۳۰۸ ژن TNF-α

ژنوتیپ/ آلل	فراوانی در افراد غیردیابتی(%)	فراوانی در افراد دیابتی(%)	OR(% ۹۵ CI)	p
GG	۱۶۲ (۹۳/۶)	۱۴۶ (۸۴/۴)	Reference	
GA	۱۰ (۵/۸)	۲۵ (۱۴/۴۵)	۲/۷۷ (۱/۲۹–۵/۹۷)	۰/۰۰۹
AA	۱ (۰/۶)	۲ (۱/۱۵)	۲/۲۲ (۰/۲–۲۴/۷)	۰/۵۲
GG vs. GA+AA	-	-	۲/۷۲ (۱/۳۰–۵/۶۸)	۰/۰۰۸
GG+GA vs. AA	- ۰/۹۷	- ۰/۹۲	۲/۲۲ (۰/۲–۲۴/۷)	۰/۵
G A	۰/۰۳	۰/۰۸	۲/۹۸ (۰/۸۱۵–۱۰/۹)	۰/۰۰۶

جدول شماره ۳ . مقایسه پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ های پلی مورفیسم 308G/A در افراد غیردیابتی(گروه کنترل) بر اساس مدل غالب

پارامتر	GG ۱۲۴	GA+AA ۴۹	P
فشارخون سیستولی(mmHg)	۱۱/۸۹۴۹±۱/۰۹۰۵	۱۱/۴۳۷۵±۰/۷۲۷۴	۰/۱
سن(سال)	۵۰/۴۷۷۷±۹/۷۹۸۳	۴۸/۵±۷/۸۹۹۳	۰/۴۳
فشارخون دیاستولی (mmHg)	۸/۰۱۹۱±۰/۹۵۷۲۴	۷/۸۱۲۵±۰/۸۳۴۱۷	۰/۴
نمایه توده بدن(kg/m^2)	۲۴/۸۷۴۰±۴/۱۶۱۳	۲۷/۱۰۷۰±۴/۲۸۶۰	۰/۰۴
Hb A1c (۰/۰)	۵/۰۱۴۵±۰/۳۴۲۳۴	۵/۰۰۱۲±۰/۳۷۷۸۲	۰/۸۸
نسبت دور کمر به دور باسن	۰/۸۶± /۰۸	۰/۸۵± /۰۹	۰/۶۹۹
گلوکز(mmol/L)	۵/۲۸۳۵±۰/۵۵۸۷۷	۵/۲۷۲۵±۰/۶۵۱۳۵	۰/۹۴
کلسترول(mmol/L)	۴/۶۲۳۸±۱/۰۹۹۳۷	۴/۸۶۹۸±۱/۰۱۵۳۳	۰/۳۹
اوره(mmol/L)	۲۹/۲۵±۱۰/۹۰۸۴	۳۱/۸۸۵±۱۰/۳۸۳	۰/۳۵
کراتینین(mmol/L)	۰/۸۳۲۳±۰/۲۴۵۴	۰/۹۲۸۱±۰/۲۲۳۹۴	۰/۱۳
تری گلیسرید(mmol/L)	۱/۶۴۰۹±۰/۴۶۱۶۱	۱/۷۰۴۱±۰/۳۸۰۷۱	۰/۵۹
HDL (mmol/L)	۲/۹۶۶۵±۰/۶۷۰۶۰	۳/۱۹۹۲±۰/۸۰۰۷۳	۰/۱۹
LDL (mmol/L)	۳/۰۴۴۳±۰/۷۹۹۹۷	۲/۹۰۴۶±۰/۷۹۶۰۶	۰/۵
Uric Acid(mmol/L)	۴/۸۵۹۷±۱/۵۲۰۹۲	۴/۷۴۸۷±۱/۹۵۷۲۸	۰/۷۸
انسولین(µIU/ml)	۷/۲۵۳۴±۲/۱۰۶۶۶	۸/۰۵۶۲±۱/۵۹۳۰۰	۰/۱۴
HOMA-IR	۱/۶۹۳۹±۰/۵۰۶۲۷	۱/۸۷۰۲±۰/۳۶۴۰۴	۰/۱۷

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

جدول شماره ٤ . مقایسه پارامترهای کلینیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ های پلی مورفیسم 308G/A

پارامتر	GG ۱۰۹	AA+GA ۴۵	P
فشارخون سیستولی(mmHg)	۱۳/۱۳۷۷±۱/۷۵۸۹	۱۲/۹۱۴۳±۲/۱۷۴۳۳	۰/۵۲
فشارخون دیاستولی(mmHg)	۸/۴۳۸۴±۱/۱۹۳۷۴	۸/۵۴۲۹±۱/۶۸۶۳۳	۰/۶۳
نمایه توده بدن(kg/m^2)	۲۹/۰۱۳۰±۵/۰۹۱	۲۷/۹۳۱۸±۳/۷۲۲۸۲	۰/۲۴
Hb A1c (۰/۰)	۸/۰۶۲۰±۱/۷۳۰۶۳	۸/۳۸۳۱±۱/۶۳۸۷۷	۰/۳۲
نسبت دور کمر به دور باسن	۰/۹۳۷۰± /۰۶۳۹۴	۰/۹۲۲۱± /۰۷۷۵۹	۰/۲۴
گلوکز(mmol/L)	۹/۰۰۱۱±۲/۷۲۷۲۶	۹/۸۶۱۵±۲/۷۴۱۹۳	۰/۰۹
کلسترول(mmol/L)	۵/۰۹۳۱±۱/۰۹۷۲۲	۵/۲۵۹۲± /۸۶۷۷۶	۰/۴
تری گلیسرید(mmol/L)	۲/۰۶۵۷± /۴۷۲۴۶	۲/۰۷۱۲± /۴۶۳۶۵	۰/۹۵
HDL (mmol/L)	۱/۰۱۴۴±۰/۲۱۳۸۷	۰/۹۰۶۸±۰/۲۴۳۳۶	۰/۰۱
LDL (mmol/L)	۳/۳۸۳۷±۰/۹۳۴۹۲	۳/۴۹۸۷±۰/۹۳۴۲۰	۰/۵۱
Uric Acid (mmol/L)	۴/۵۶۷۸±۱/۳۹۰۰۵	۴/۳۷۸۶±۱/۳۴۶۴۵	۰/۴۷
انسولین(µIU/ml)	۸/۷۶۵۷±۲/۶۷۶۹۸	۱۰/۱۸۹۶±۳/۵۱۴۲	۰/۰۲
HOMA-IR	۴/۰۳۷۹±۱/۸۶۴۱۹	۳/۷۴۶۹±۱/۲۷۳۴۷	۰/۳۸
اوره(mmol/L)	۴۰/۶۱۸۶±۱۰/۹۵۲	۳۸/۳۶۴۹±۹/۸۰۲۹	۰/۲۶
کراتینین(mmol/L)	۱/۰۹۲۲±۰/۳۲۱۱۴	۱/۰۵۷۷±۰/۳۵۱۸	۰/۵۷
سن(سال)	۵۵/۰۵±۱۰/۷۹۸	۵۴/۶۵۷۱±۱۱/۹۸۲۶	۰/۸۵

(P<0.05, t test) سطح اختلاف معنی دار، لیپوپروتئین با چگالی بالا :HDL، لیپوپروتئین با چگالی پائین: LDL

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، نشان داده شد که ارتباط معنی داری بین ژنوتیپ های پلی مورفیسم 308G/A ژن TNF-α با دیابت نوع دو وجود دارد، به عبارت دیگر ارتباط معنی داری بین وجود آلل A با بروز بیماری دیابت نوع دو در پلی - مورفیسم 308G/A ژن TNF-α وجود دارد. تفسیر نتایج حاصل از تحلیل رگرسیون مرحله ای نشان داد که ژنوتیپ GA، مدل غالب و فراوانی آلل A در افراد دیابتی به طور معنی داری بیشتر از افراد غیر دیابتی است(P<0.05) به طوری که OR برای زنوتیپ GA برابر با ۲/۷۷، برای مدل غالب برابر با ۲/۷۲ و برای فراوانی آلل A برابر با ۲/۹۸ بود. این نتایج نشان می دهد که جهش مذکور شانس فرد را برای ابتلاء به دیابت نوع دو به طور قابل توجهی افزایش می دهد. تاکنون چندین پلی مورفیسم در ژن TNF-α گزارش شده و مطالعاتی در زمینه ارتباط آن ها با بیماری های مختلفی انجام شده است. سیتوکین TNF-α در ایجاد ضایعات التهابی و شدت بیماری پریودنتیت مزمن نقش دارد،(۱۸). در مطالعه ای که توسط قوامی و همکاران انجام شد ارتباط مثبتی بین وجود پلی مورفیسم 308G/A در ژن TNF-α با عفونت هپاتیت مزمن C مشاهده شد. نتایج این مطالعه نشان می دهد افرادی که در مرحله مزمن بیماری می باشند آلل G را بیشتر از آلل A دارا می باشند و به نظر می رسد آلل A نقش حفاظت کننده ای در مقابل ابتلاء به عفونت مزمن هپاتیت C دارد و در مقابل افراد دارای آلل G استعداد ابتلاء به عفونت مزمن را دارند،(۱۹). TNF-α دارای فعالیت های زیستی بسیاری از جمله تنظیم سلول های سیستم ایمنی، القاء آپوپتوز، القاء التهاب و ممانعت از ایجاد تومور و تکثیر ویروس است،(۲۰،۲۱). مشخص شده که چندشکلی هایی در ناحیه پروموتری ژن TNF-α با میزان بیان این ژن در ارتباطند. این چندشکلی ها هم چنین در ایجاد مقاومت و یا استعداد ابتلاء به انواع بیماری های عفونی و التهابی و حتی سرطان دخیل اند. یکی از بیماری هایی که ممکن است با چندشکلی در ناحیه پروموتری این ژن در ارتباط باشد مالاریا است،(۲۲،۲۳). در مطالعه ای ارتباط پلی مورفیسم مذکور با بیماری پره اکلامپسی مورد بررسی قرار گرفت و با توجه به این که ارتباط معنی داری بین پلی مورفیسم این ژن با بیماری پره اکلامپسی به دست آمد.(P<0.014) استفاده از این ژن به عنوان یک مارکر در استعداد ابتلاء به این بیماری پیشنهاد شد،(۲۴). ارتباط بین این پلی مورفیسم با بیماری دیابت نوع دو هنوز هم بحث برانگیز است، زیرا اختلاف در میان مطالعات مختلف وجود دارد. تفاوت های قومی نقش خاصی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

در این نتایج متناقض، به دلیل توزیع پلی مورفیسم TNF-α در میان افراد مورد مطالعه با ریشه های نژادی مختلف متفاوت دارد. در مطالعه ای که در جمعیت مکزیکی-آمریکایی صورت گرفت بین این پلی مورفیسم با دیابت نوع دو ارتباط معنی داری مشاهده شد که با نتیجه مطالعه ما مطابقت دارد،(۳۷). در مطالعه ای که توسط شیاو و همکاران در جمعیت تایوانی صورت گرفت، بیان شد که گر چه بین پلی مورفیسم TNF-α با بیماری زایی دیابت نوع دو ارتباط معنی داری مشاهده نشد اما واریانت مذکور می تواند باعث عوارض دیابت نوع دو از جمله آترواسکلروز باشد، اگر چه بین واریانت مذکور با سطح بالای گلوکز ناشتا و همین طور LDL با تعدیل برای سن، جنس، شاخص توده بدن و وضعیت دیابتی ارتباط معنی داری دیده شد،(۳۸). TNF-α اثرات انسولین را از طریق فسفوریلاسیون تیروزین گیرنده های انسولین(IR) که سوبسترای اصلی IRS هستند، کاهش می دهد. در یک مدل آزمایشگاهی مثل موش های چاق اثرات TNF-α مانع افزایش حساسیت به انسولین شد،(۲۵،۲۶)، که با اثر کردن TNF-α بر روی فسفوریلاسیون تیروزین IRS-1 تطابق دارد،(۱۱). TNF-α اثرات خود را از طریق گیرنده های غشایی ویژه - ای که مکانیسم انتقال پیام آن هنوز به صورت کامل و دقیقی مشخص نشده است، اعمال می کند،(۲۹-۲۷).

چندین راه برای فعالیت TNF-α بر روی انسولین، بر روی فسفوریلاسیون تیروزین ممکن است وجود داشته باشد، به طور مثال اثر TNF-α بر روی پروتئین کیناز که آن را وادار می کند که بر روی سرین/تیروزین اثر کند و یا فسفاتازهای سرین/تیروزین را غیر فعال کند،(۳۳-۳۰). هم چنین TNF-α مقاومت به انسولین را از طریق پایین آوردن میزان حساسیت PPAR gamma تقویت می کند، که یک گیرنده هسته ای مهم است که میزان حساسیت به انسولین را به صورت طبیعی نگه می دارد و میزان بیان GLUT4 را کاهش می دهد،(۳۶-۳۴). تحلیل کلی از بررسی پلی مورفیسم 308G/A ژن TNF-α در مطالعه انجام شده نشان می دهد که فراوانی ژنوتیپ AA در جمعیت مورد مطالعه پایین می باشد ولی ارتباط معنا-داری بین وجود آلل A و ژنوتیپ AA با بیماری نوع دیابت نوع دو، مقاومت به انسولین و فاکتورهای خطر وابسته وجود دارد. بنا بر این می توان گفت که این پلی مورفیسم 308G/A ژن TNF-α با بروز دیابت نوع دو و فاکتور خطر وابسته در جامعه ایران مؤثر می باشد. احتمالاً می توان با شناسایی افراد نرمال حامل ژنوتیپ AA از طریق برنامه های پیشگیری کننده از بروز دیابت نوع دو در این افراد جلوگیری کرد.(شکل شماره ۱)

Reference

1.Matthaei S, Stumvoll M, Kellerer M, Haring HU. Pathophysiology and pharmacyological treatment of insulin resistance. Endocr Rev 2000; 21:585-618.

2.Bhattacharya S, Dey D, Roy SS. Molecular mechanism of insulin resistance. J Bioscience 2005; 22:405-13.

3.Economic consequences of diabetes mellitus in the U.S. in 1997. Diabetes Care 1998; 21:296-309.

4.National Diabetes Data Group, ed. Diabetes in America, 2nd ed. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1995.P. 429-56.

5.National Diabetes Data Group, ed. Diabetes in America. 2nd ed. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1995.P. 349-400.

6.Perneger TV, Brancati FL, Whelton PK, Klag MJ. End-stage renal disease attributeable to diabetes mellitus. Ann Intern Med 1994: 121:912-8.

7.National Diabetes Data Group, ed. Diabetes in America. 2nd ed. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1995.P.339-48.

8.National Diabetes Data Group, ed. Diabetes in America. 2nd ed. Bethesda, MD: National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 1995.P. 401-28.

9.Turner RC, Holma RR, Cull CA, Stratton IM, Matthews DR, Frighi V, et al. Inten-

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

sive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). Lancet 1998; 352: 837-53.

10.Meshkani R, Taghikhani M, Mosapour A, Larijani B, Khatami S, Khoshbin E, et al. 1484insG Polymorphism of the PTPN-1-gene is associated with insulin resistance in an Iranian population. Arch Med Res 2007; 38:556-62.

11.Lillioja S, Mott DM, Spraul M, Ferraro R, Foley JE, Ravussin E, et al. Insulin resistance and insulin secretory dysfunction as precursors of non-insulin-dependent diabetes mellitus. Prospective studies of Pima Indians. N Engl J Med 1993; 329:1988-92.

12.Kopelman PG, Obesity A. Hitman G. Type 2 diabetes Prediction and Prevention. Diabetic Med 2000; 17:615-25.

13.Pinhas-Hamiel o, Doland LM, Daniel S-R, Standiford D, Khoury PR, Zeitler P. increase incidence of NIDDM among adolesents. J Pediater 1996; 128:608-15.

14.Meshkani R, Taghikhani M, Al-kateb H, Larijani B, Khatami S, Sidiropoulos GK, et al. Polymorphisms within the protein tyrosine phosphatase IB (PTPN1) gene promoter: Functional characterization and association with type 2 diabetes and related metabolic traits. Clinl Chem 2007; 53:1585-92.

15.Soumitra G, Watanabe RM, Hauser ER, Timo V, Magnuson VL, Erdos CD, et al. Type 2 diabetes: Evidence for linkage on chromosome 20 in 716 Finnish affected sib pairs. Proc Nation Acad Sci 1999; 96:2198-203.

16.Wiltshire S, Hattersley AT, Hitman GA, Walker M, Levy JC, Sampson M et al. A genome-wide scan for loci predisposing to type 2 diabetes in a UK population (The Diabetes UK Warren 2 Repository): Analysis of 573 pedigrees provides independent replication of a susceptibility locus on chromosome 1q. Am J Hum Genet 2001; 69: 553-69.

17.Booya F, Bandarian F, Larijani B, Pajouhi M, Nooraei M, Lotfi J. Potential risk factores for diabetic neuropathy: A c-ase control study. BMC Neurol 2005; 5:24-90.

18.Moreira PR, Costa JE, Gomez RS. TNF-A and IL -10 gene polymorphisms are not associated with Periodontitis in Brazilians. Open Dent J 2009; 3:184-90.

19.GHavami SH, Mohebi R, Akhavan-Sepahi A, Naghosi H, Tahaei MA, Azimz-adeh P, et al. [Investigating the relationship between of 308 g/a TNF-A genes poly-morphisms and susceptibility to HCV in a patient Iran]. J Med Sci Azad Uni 2013; 23: 93-9. (Persian)

20.Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. Cell 2001; 104:487–501.

21.Pennica D, Nedwin GE, Hayflick JS, Seeburg PH, Derynck R, Palladino MA, et al. Human tumour necrosis factor: precursor structure, expression and homology to lymphotoxin. Nature 1983; 312:724–29.

22.Guire Mc, Hill AV, Allsopp CE, Greenwood BM, Kwiatkowski D. Variation in the TNF-alpha promoter region associated with suceptibility to cerebral malaria. Nature 1994; 6: 508-10.

23.Ubalee R, Tsukahara T, Kikuchi M, L-um JK, Dzodzomenyo M, Kaneko A, et al,. Associations between frequencies of a susceptible TNFα promoter allele and protective α-thalassaemias and malaria parasite incidence in Vanuatu. Trop Med Int Heal 2005; 10:544-9.

24.Mohajertehran F, Tavakkol Afshari J, Rezaieyazdi Z, Ghomian N. Association of single nucleotide polymorphisms in the human tumor necrosis factor-α and interleukin 1-β genes in patients with pre-eclampsia. Iran J Allergy Asthma Immunol 2012;11: 224-9.

25.Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D, Spiegelman BM. Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes.Central role of tumor necrosis factor-alpha. J Clin Invest 1994; 94:1543-49.

26.Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor- alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. Science 1993; 259: 87-91.

27.Vilcek J, Lee TH. Tumor necrosis factor. New insights into the molecular mechanicsms of its multiple actions. J Biol Chem 1991; 266:7313-6.

28.Beyaert R, Fiers w. Molecular mec-han-

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

isms of tumor necrosis factor-induced cytotoxicity. What we do understand and what we do not. FEBS Lett 1994; 340:9-16.
29.Heller RA, Kronke M. Tumor necrosis factor receptor-mediated signaling pathw-ays. J Cell Biol 1994; 126:5-9.
30.Guy GR, Cao X, Chua SP, Tan YH. Okadaic acid mimics multiple changes in early protein phosphorylation and gene expression induced by tumor necrosis factor or interleukin-1. J Biol Chem 1992; 267:1846-52.
31.Guy GR, Cairns J, Ng SB, Tan YH. Inactivation of a redox-sensitive protein phosphatase during the early events of tumor necrosis factor/interleukin-1 signal transduction. J Bio Chem l 1993; 268:2141-8.
32.Zhang YH, Lin JX, Yip YK, Vilcek J. Enhancement of cAMP levels and of protein kinase activity by tumor necrosis factor and interleukin 1 in human fibrob-lasts: role in the induction of interleukin 6. Proc Natl Acad Sci USA 1988; 85:6802-5.
33.33. Van LJ, Agostinis P, Vandevoorde V, Haegeman G, Fiers W, Merlevede W, et al Tumor necrosis factor stimulates multiple serine/threonine protein kinases in Swiss 3T3 and L929 cells. Implication of casein kinase-2 and extracellular signal-regulated kinases in the tumor necrosis factor signal transductionpathway. J Biol Chem 1992; 267:25916-21.
34.Zhang B, Berger J, Hu E, Szalkowski D, White-Carrington S, Spiegelman BM, et al. Negative regulation of peroxisome proliferator- activated receptor-gamma gene expression contributes to the antiadipogenic effects of tumor necrosis factor-alpha. Mol Endocrinol1996; 10:1457-66.
35.Stephens JM, Lee J, Pilch PF. Tumor necrosis factor-alpha-induced insulin resistance in 3T3-L1 adipocytes is accompanied by a loss of insulin receptor substrate-1 and GLUT4 expression without a loss of insulin receptor-mediated signal transduction. J Biol Chem 1997; 272:971-6.
36.Barroso I, Gurnell M, Crowley VE, Agostini M, Schwabe JW, Soos MA, et al. Dominant negative mutations in human PPARgamma associated with severe insulin resistance, diabetes mellitus and hypertension. Nature 1999; 402:880-3.
37.Mirza S, Hossain M, Mathews C, Martinez P, Pino P, Gay J. Type 2-diabetes is associated with elevated levels of TNF-alpha, IL-6 and adiponectin and low levels of leptin in a population of Mexican Americans: A cross-sectional study. Cytokine 2012; 57:136-42.
38.Shiau MY, Wu CY, Huang CN, Hu SW, Lin SJ, Chang YH. TNF-alpha polymorphisms and type 2 diabetes mellitus in Taiwanese patients. Tissue Antigens 2003; 61: 393-7.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

Association of polymorphism-308 TNF-alpha promoter with Type 2 Diabetes Mellitus (A Case-Control Study)

Golshani H[1], Dousti M[2], Sayehmiri F[1], Haghani K[3], Bakhtiyari S[1,3]*

(Recived: August 10, 2013 Accepted: November 16, 2013)

Abstract

Introduction: Tumor necrosis factor α (TNF-α) is a potent cytokine, which is originnally identified as a factor implicated in inflamematory and immunoregulatory actions and it plays a role in the development of obesity, insulin resistance, and probability of type 2 diabetes. The objectives of the present study were to evaluate the association of -308 TNF-α promoter polymorphism with Type 2 Diabetes Mellitus.

Materials & Methods: In all, 173 patients with T2DM and 173 normoglycemic subjects were included in this study. All subjects were genotyped using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Genotypic and allelic frequencies were then analyzed in each group. Serum lipids, fasting glucose, fasting serum insulin, HOMA-IR, and HbA1c levels were determined by conventional methods. Data was analyzed using SPSS software.

Findings: The allelic frequency of the 'A' allele, was significantly different between case and control groups (P=0.006). Also, the genotype frequencies showed a significant difference in GA genotype between case and control individuals (OR=3.67, 95%, CI=1.61-8.35, P=0.002). Similarly, the 308 TNF-alpha was found to be significantly associated with T2DM (OR=3.65, 95% CI=1.66-8.02, P=0.001) for the dominant model. But, no significant association was observed for recessive model (P>0.05).

Discussion & Conclusion: This is the first study performed in Kurdish ethnic group from West Iran. The findings of this study revealed that the allele and genotype frequency of GA variation had a significant differrence between case and control groups. Also, the 308 TNFα was found to be significantly associated with T2DM for the dominant model.

Keywords: Type 2 diabetes, insulin resistance, -308 TNF-α promoter, Kurd

1. Student Research Committee, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
2. Dept of Parasitology, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
3. Dept of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
** Correspondin author*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]