بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن CTLA- 4 با دیابت نوع ۲

سائده خادم پر[۱]، فاطمه کشاورزی*[۲]، قاسم سلگی[۳]

۱) گروه زیست شناسی، واحد علوم و تحقیقات کردستان، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

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

۳) گروه ایمنی شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۹ تاریخ پذیرش: ۹٤/۹/۱۷

چکیده

مقدمه: دیابت نوع ۲ شایع ترین نوع دیابت بوده و ۹۰ درصد موارد این بیماری را به خود اختصاص داده است. CTLA-4 در میان کنش های عرضه آنتی ژن به Tcell ها یک مولکول تنظیمی است. از آن جا که این مولکول مکانیزم های آپوپتوزیس آنتی زن خاص و پیشرفت نقص Bcell ها را که از ویژگی های دیابت تیپ ۲ است واسطه گری می کند لذا ممکن است CTLA-4 کاندید مناسبی برای استعداد به دیابت تیپ ۲ باشد. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن CTLA-4 در بیماران دیابتی تیپ ۲ و مقایسه آن با افراد سالم است.

مواد و روش ها: در این مطالعه موردی–شاهدی نمونه های خون از ۱۰۰ فرد سالم و ۱۱۰ بیمار مبتلا از شهرهای سنندج، همدان و کرمانشاه جمع آوری گردید. بعد از استخراج DNA پلی مورفیسم های ژن CTLA-4 با استفاده از روش ARMS-PCR بررسی شد. سپس آنالیز آماری نتایج با استفاده از آزمون کای–دو صورت گرفت.

یافته های پژوهش: بر اساس نتایج ژنوتیپ GG در موقعیت ۴۹+(OR=1.92, P=0.02) و (CT, TT) در موقعیت ۳۱۸– (OR=9.08, P=0.02) یک ریسک فاکتور برای دیابت نوع دو می باشد. این در حالی است که جایگاه ژنی۱۷۲۲– با ژنوتیپ T/C (OR=1.85, P=0.50) ارتباط معنی داری با دیابت نوع دو نداشت.

بحث و نتیجه گیری: این نتایج پیشنهاد می کند که پلی مورفیسم های(۳۱۸–)C/T,A/G(۴۹+) ژن CTLA-4 ارتباط معنی داری با دیابت نوع دو دارند در حالی که در پلی مورفیسم(۱۷۲۲+)T/C این ارتباط مشاهده نمی شود.

واژه های کلیدی: دیابت نوع دو، پلی مورفیسم، CTLA-4

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

Email:Gol.keshavarzi@gmail.com

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

مقدمه

مبتلایان به دیابت نوع ۲، ۹۰ تا ۹۵ درصد از بیماران دیابتی را شامل می شوند. دیابت جزو گروه بیماری های مولتی فاکتوریال است. عوامل متعددی در ایجاد دیابت نوع دو وجود دارند از جمله چاقی، برخی از محصولات بیولوژیکی که توسط آدیپوسیت ها تولید می شوند(نظیر لپتین، تومور نکروز فاکتور آلفا، اسید چرب آزاد)، اختلال تحمل گلوکز، استرس به واسطه تاثیر بر وضعیت متابولیک و تغییر در هورمون هایی چون کاتکول آمین و هورمون رشد و عامل فشارخون را می توان نام برد(۶-۱). با این که هنوز بسیاری از ژن های زمینه ساز ابتلا به دیابت شناخته نشده است ولی مشخص است که این بیماری پلی ژنیک و چند عاملی می باشد(۷). لکوس های ژنتیکی متنوعی در استعداد ابتلا به این بیماری نقش دارند(۷). از جمله مولکول هایی که ارتباط شان با بیماری های اتوایمیون مشخص شده است مولکولی کمک مهاری است که می تواند در مکانیسم فعال شدن لنفوسیت ها اختلال ایجاد کند(۷). این گلیکوپروتئین درون غشایی CTLA-4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4) می باشد. مولکول CTLA-4 یا CD152 از خانواده بزرگ ایمونوگلوبولین ها است که دارای ۲۲۳ اسید آمینه ساختاری و ۳۴ اسید آمینه به عنوان پپتید سیگنال دهنده می باشد(۷). ژن CTLA-4 بر روی کروموزوم 2q33 قرار دارد(۸)، پروتئین آن یک مولکول سطحی است که در سطح سلول های T فعال شده، بیان می شود. این مولکول اثر مهاری خود را از طریق رقابت با مولکول تحریک کننده CD28 در اتصال به مولکول های B7-1 و B7-2 بر روی سلول های ارائه کننده آنتی ژن اعمال می نماید(۸). شواهد فزاینده ای وجود دارد که تعادل بین مولکول های CTLA-4 و CD28 در اتصال به لیگاندهای مشترک آن ها(مولکول های B7) نقش ویژه ای در کنترل محیطی پاسخ ایمنی سلولی به عهده دارد(۸). بدین ترتیب فاکتور های تنظیم کننده بیان یا عمل مولکول CTLA-4 می توانند باعث تغییر این تعادل و منجر به از دست رفتن کنترل محیطی و ایجاد پاسخ های خود ایمنی گردند(۹). از آن جایی که الل های مختلفی برای ژن CTLA-4 در جمعیت وجود دارد، اگر فردی اللی را به ارث ببرد که CTLA-4 کمتری می سازد استعداد این فرد به بیماری های اتوایمیون افزایش می یابد و لنفوسیت های آن کمتر مهار می شوند. این افراد بیشتر مستعد ابتلا به بیماری های اتو ایمیون چون ارتریت روماتوئید، لوپوس و دیابت ۱ هستند(۱۰). CTLA-4 در میانکنش های عرضه آنتی ژن به Tcell ها یک مولکول تنظیمی است. از آن جا که این مولکول مکانیزم های آپوپتوزیس آنتی زن خاص و پیشرفت نقص Bcell ها را که از و یژگی های دیابت تیپ ۲ هست، میانجیگری می کند لذا ممکن است کاندید مناسبی برای استعداد به دیابت تیپ ۲ باشد(۷). گزارشات در رابطه با ارتباط پلی مورفیسم ژن CTLA-4 با بیماری های خود ایمنی و از جمله دیابت ۲ دارای تناقض می باشد و البته در این راستا مطالعاتی هم عنوان می کنند که ارتباط معناداری میان این دسته از بیماری با پلی مورفیسم های CTLA-4 وجود دار(۱۳-۱۱). ۲ پلی مورفیسم C/T(-318) و T/C (-1722) در پروموتور ژن CTLA-4 و A/G(+49) در اگزون شماره یک همین ژن باعث تبدیل اسید امینه ترئونین به اسید امینه الانین در قسمت پپتید رهبر می گردد. از طرف دیگر پلی مورفیسم C/T(-318) موقعیت(جا به جایی C به T) و T/C (-1722) (جا به جایی T به C) در ناحیه پروموتور در بیان ژن اثر دارند(۱۳-۱۱). در این راستا پژوهش جاری به بررسی ارتباط ۳ پلی مورفیسم C/T 318- و T/C 1722- در پروموتور و A/G 49+ در اگزون شماره یک ژن مذکور با بیماری دیابت نوع ۲ در تعدادی از مبتلایان به این بیماری در غرب کشور می پردازد.

مواد و روش ها

نوع مطالعه: این مطالعه یک تحلیل مورد-شاهدی (Case-Control) است و جامعه مورد مطالعه بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ از شهرستان های سنندج، قروه، کرمانشاه و همدان بود.

جمع آوری نمونه: بعد از اخذ رضایت نامه کتبی جهت شرکت در تحقیق از افراد بیمار و کنترل مصاحبه به عمل آمد. بر اساس سوابق خانوادگی ابتلا به دیابت

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

و نتایج آزمایشات قند ناشتا، آزمایش خون و تست های تاییدی هر دو گروه انتخاب شدند. بیماران از سنین مختلف بودند. افراد کنترل فاقد هر گونه بیماری سیستمیک مانند دیابت و مشکلات قلبی–عروقی بودند، هم چنین چون سن ریسک فاکتور این بیماری است سن افراد کنترل ترجیحاً بالای ۵۰ سال بود. بر این اساس از ۱۱۰ نفر بیمار و نفر ۱۰۰ کنترل خونگیری شد.

استخراج DNA: DNA نمونه خون افراد به روش salting out (۱۳) مطابق پروتکل زیر استخراج شد. ۵ میلی لیتر خون بیمار در لوله های آزمایش حاوی ۵ میلی گرم در لیتر EDTA ریخته شد و به آرامی مخلوط گردید سپس ۵ میلی لیتر بافر لیزکننده(WBC Lysing) سرد که شامل Tris, EDTA, NaCl با غلظت های خاص است، به هر نمونه اضافه گردید. نمونه های مخلوط شده با بافر لیزکننده به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفوژ شد. پس از خاتمه سانتریفوژ محلول رویی دور ریخته شد و به لخته باقی مانده ۵ میلی لیتر از محلول(Phosphate buffered saline) PBS اضافه گردید و مجدداً لوله در دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. این مراحل تا سفید شدن کامل توده ادامه پیدا کرد. پس از خاتمه آخرین مرحله محلول رویی دور ریخته شد و به توده حاوی گلبول های سفید باقی مانده ۱ میلی لیتر آب مقطر سرد(اتوکلاو شده) اضافه شد و سپس محتویات لوله به یک میکروتیوب ۱/۵ میلی لیتر منتقل گردید. میکروتیوب ها در دور ۵۰۰۰rpm به مدت ۱ دقیقه سانتریفوژ شدند. محلول رویی دور ریخته شد و به هر تیوب λ ۶۰۰ بافر Tris اضافه شد و مخلوط گردید. به هر تیوب λ ۱۰۰ از محلول ۱۰ درصد SDS و λ ۵۰ پروتئیناز K (1mg/ml) اضافه شد و پس از مخلوط نمودن میکروتیوب ها یک شب در دمای ۵۵°C شیکر قرار داده شد. به نمونه های حاصل از هضم به اندازه یک سوم حجم خود محلول نمک اشباع (NaCl 5m) اضافه شد و پس از مخلوط نمودن ملایم، به مدت ۱۰ دقیقه در سرما و با دور ۱۲۰۰۰rpm سانتریفوژ گردیدند. محلول رویی به میکروتیوب دیگری منتقل گردید و برابر حجم آن الکل ایزوپروپانولی که در ۲۰– درجه سانتی گراد نگهداری می شد اضافه گردید و سپس میکروتیوب ها تکان داده شدند تا رشته های DNA ظاهر شوند. میکروتیوب ها در دور ۱۲۰۰۰rpm در سرما به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس محلول رویی دور ریخته شد و DNA سه مرتبه با اتانول ۷۵ درصد شست و شو داده شد و هر بار میکروتیوب ها در دور ۱۲۰۰۰rpm و در سرما به مدت ۲ دقیقه سانتریفوژ شدند. در مرحله آخر پس از خارج کردن محلول رویی میکروتیوب ها روی کاغذ خشک کن برگردانده شدند و اجازه داده شد تا DNA به طور کامل خشک شود. به هر میکروتیوب λ ۱۰۰ آب مقطر اتوکلاو شده اضافه شد و اجازه داده شد تا DNA در آن به طور کامل حل شود و محلول یکنواختی حاصل شود.

ARMS-PCR: این تکنیک بسیار قدرتمند برای مشخص کردن جهش های نقطه ای می باشد. اساس این روش بر پایه طراحی جفت آغازگرهای اختصاصی آلل ها و تکثیر آلل مورد نظر در یک واکنش PCR است که در آن DNA پلیمراز عمل پلیمریزاسیون را از انتهای ′۳ پرایمر و در جهت ′۳→′۵ زمانی آغاز می کند که به ترادف مکمل خود بچسبد. در تکنیک ARMS (Amplification Refractory Mutation System) این حقیقت به کار گرفته می شود که یک پرایمر اولیگونوکلئوتید برای این که به طور کار آمد توسط DNA پلیمرازها رشد یابد، باید یک انتهای ۳ کاملاً منطبق داشته باشد.

در این مرحله با استفاده از پرایمرهای اختصاصی که برای هر سه پلی مورفیسم ذکر شده طراحی شده بود(جدول شماره ۱). با روش ARMS-PCR، PCR انجام شد. در جایگاه ۴۹+ طول باند برابر با ۱۰۲ bp و در جایگاه ۳۱۸– طول باند آن ۱۸۵ bp و ۱۷۲۲– به طول ۲۳۷ bp می باشد(شکل های شماره ۳–۱).

تجزیه و تحلیل آماری نتایج: نتایج حاصله وارد نرم افزار SPSS vol.16 شد. برای مقایسه داده ها بین دو گروه بیمار و سالم از آزمون X2 استفاده شد و از لحاظ آماری سطح معنی دار شدن $P\leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

یافته های پژوهش

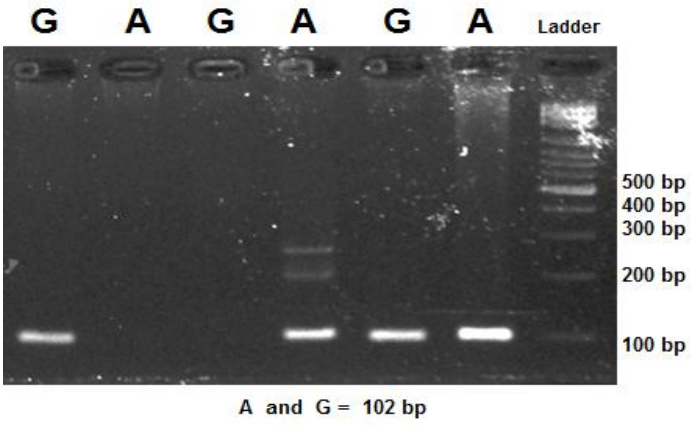
تجزیه و تحلیل آماری داده های موجود نشان می دهد که بین ژنوتیپ GG و دیابت نوع ۲ ارتباط وجود دارد(OR(CI:95%)=1.92(3.46-1.76) P=0.02). در بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژن CTLA-4 در جایگاه(rs۲۳۱۷۷۵) مشخص شد از مجموع ۱۱۱ نمونه بیمار و ۱۰۰ فرد سالم درصد فراوانی ژنوتیپ های GG, AG, AA به ترتیب در بیماران ۸/۱۰، ۳۷/۸۳، ۵۴/۰۵ و در افراد سالم نیز به ترتیب ۳۴، ۲۸، ۳۸ می باشد(جدول شماره ۲).

هم چنین نتایج حاصل از بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژن CTLA-4 در جایگاه(rs۵۷۴۲۹۰۹) نشان داد که برای ۱۱۱ نفر بیمار درصد فراوانی ژنوتیپ های CT،CC و TT به ترتیب ۶۷/۵۶، ۲۳/۴۲، ۹ و برای ۱۰۰ نفر فرد سالم این درصدها به ترتیب ۸۸، ۱۰ و ۱ می باشد(جدول شماره ۳). به علاوه ژنوتیپ های CT و TT ارتباط معنی داری با دیابت نوع ۲ دارند و میزان P برای این ها به ترتیب ۰/۰۱ و ۰/۰۲ به دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری داده های پلی مورفیسم ژن CTLA-4(rs۷۳۳۶۱۸) هیچ ارتباط معنی داری بین هر یک از آلل های T و C و احتمال ابتلا به دیابت نوع ۲ را نشان نداد(OR(CI:95%)=1.85 P=0.5)(0.40-9.62). در این جایگاه درصد فراوانی ژنوتیپ های CC, TC,TT در افراد بیمار به ترتیب ۸۳/۷۸، ۱۰/۸۱ و ۵/۴۰ درصد و در افراد سالم ۸۸، ۱۳ و ۳ درصد بود(جدول شماره ۴).

جدول شماره ۱. توالی پرایمرهای طراحی شده برای بررسی نوکئوتیدهای طرح

مکان CTLA-4	پرایمرهای رفت	پرایمرهای برگشت
+۴۹	GGCTCAGCTGAACCTGGCCG GGCTCAGCTGAACCTGGCCA	ATGCTCCAAAAGTCTCACTC
-۳۱۸	ACTTAGTTATCCAGATCCAC ACTTAGTTATCCAGATCCAT	AGGCTCTTGAATAGAAAGC
-۱۷۲۲	ATGATCATGGGTTTAGCTGT GTGATCATGGGTTTAGCTGC	CCATGTTGGTGGTGATGCAC



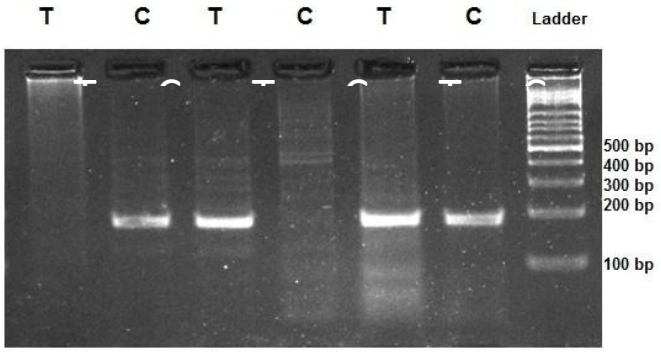
شکل شماره ۱. تصویر الگوی الکتروفورزی محصولات PCR ژن(rs۲۳۱۷۷۵)٤٩+ CTLA-٤

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

جدول شماره ۲. نتایج آزمون کای-دو به منظور مقایسه فراوانی پلی مورفیسم ژن CTLA-٤ جایگاه(rs٢٣١٧٧٥)٤٩+

پلی مورفیسم		بیمار(درصد) فراوانی	کنترل(درصد) فراوانی	OR (95%CI)	P
RS4 , +49 CTLA-231755	AA	۹(۸/۱۰)	۲۴(۳۴)	۰/۱۷(۰/۰۷-۰/۴۰)	۰/۰۰۰۰۰۷
	AG	۴۲(۳۷/۸۳)	۲۸(۲۸)	۱/۵۷(۰/۸۴-۲/۹۲)	۰/۱۷
	GG	۶۰(۵۴/۰۵)	۳۸(۳۸)	۱/۹۲(۱/۰۷-۳/۴۶)	۰/۰۲
آلل ها	A	۶۰(۵۴/۰۵)	۹۶(۹۶)	۰/۴۰(۰/۲۶-۰/۶۱)	۰/۰۰۰۰۱
	G	۱۶۲(۱۴۵/۹۴)	۱۰۴(۱۰۴)	۲/۰۴۹(۱/۶۳-۳/۸۲)	۰/۰۰۰۰۱



شکل شماره ۲. تصویر الگوی الکتروفورزی محصولات PCR ژن CTLAژن٤-٣١٨(-٣١٨)5rs٥٧٤٢٩٠٩

جدول شماره ۳. نتایج آزمون کای-دو به منظور مقایسه فراوانی پلی مورفیسم ژن CTLA-٤ جایگاه(٣١٨-)rs٥٧٤٢٩٠٩

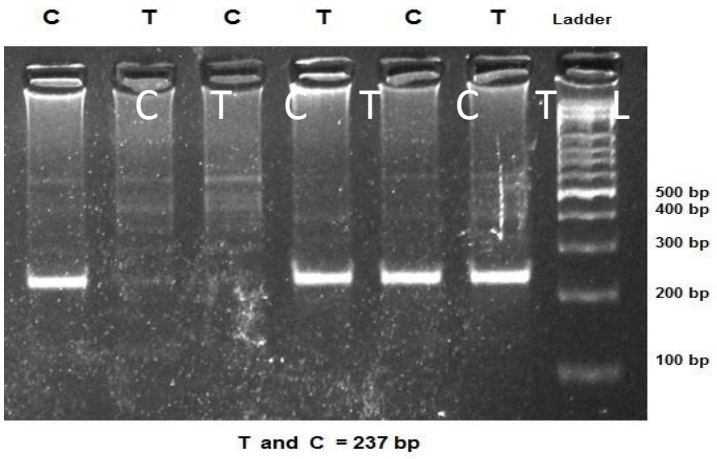
پلی مورفیسم		بیمار(درصد) فراوانی	کنترل(درصد) فراوانی	OR (95%CI)	P
RS(-318-4CTLA) 5742909	CC	۷۵(۶۷/۵۶)	۸۸(۸۸)	۰/۲۸(۰/۱۳-۰/۶۲)	۰/۰۰۰۷
	CT	۲۶(۲۳/۴۲)	۱۰(۱۰)	۲/۷۵(۱/۱۸-۶/۵۳)	۰/۰۱
	TT	۱۰(۹/۰۰۹)	۱(۱)	۹/۰۸(۱/۲۶-۲۰۸/۴۵)	۰/۰۲
آلل ها	C	۱۷۶(۱۵۸/۵۵)	۲۸۶(۲۸۶)	۰/۲۹(۰/۱۵ -۰/۵۶)	۰/۰۰۰۱
	T	۴۶(۴۱/۴۴)	۱۲(۱۲)	۴/۰۹(۲/۰۲-۸/۴۶)	۰/۰۰۰۰۲

جدول شماره ٤. نتایج آزمون کای-دو به منظور مقایسه فراوانی پلی مورفیسم ژن CTLA- ٤ جایگاه (rs٧٣٣٦١٨)

پلی مورفیسم		بیمار(درصد) فراوانی	کنترل(درصد) فراوانی	OR (95%CI)	P
CTLA-4-1722(RS 733618)	TT	۹۳(۸۳/۷۸)	۸۸(۸۸)	۰/۹۸(۰/۴۴ -۲/۱۸)	۰/۸۸
	TC	۱۲(۱۰/۸۱)	۱۳(۱۳)	۰/۸۱(۰/۳۳-۲/۰۱)	۰/۷۸
	CC	۶(۵/۴۰)	۳(۳)	۱/۸۵(۰/۴۰-۹/۶۲)	۰/۵۰
آلل ها	T	۱۹۸(۱۷۸/۳۷)	۱۸۱(۱۸۱)	۰/۸۷(۰/۴۴ -۱/۷۱)	۰/۷۷
	C	۲۴(۲۱/۶۲)	۱۹(۱۹)	۱/۱۵(۰/۵۹-۲/۲۸)	۰/۷۷

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]



شکل شماره ۳. تصویر الگوی الکتروفورزی محصولات PCR ژن(CTLA ٤--rs١٧٢٢) ٧٣٣٦١٨

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق سه پلی مورفیسم ژن CTLA-4، شامل C/T ۳۱۸- و T/C-۱۷۲۲ در پروموتر ژن و A/G +۴۹ در اگزون شماره یک مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی حاضر ارتباط معناداری بین پلی مورفیسم T/C-۱۷۲۲ و بیماری دیابت نوع ۲ یافت نشد و فراوانی ژنوتیپ ها و آلل های پلی مورفیسم مورد بررسی در دو گروه بیمار و کنترل بسیار نزدیک به یکدیگر بود. این در حالی بود که در موقعیت ۴۹+ و ۳۱۸- تفاوت معنی داری بین گروه کنترل و بیمار مشاهده شد.

در تحقیقاتی که توسط محققین مختلف انجام شده، تاثیر پلی مورفیسم های این ژن در بیماری های اتوایمیون و سرطان های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است. در مطالعه ای که توسط الماسی در سال ۲۰۰۶ صورت گرفته ارتباط معناداری در پلی مورفیسم ژن CTLA-4 در موقعیت(۳۱۸-)C/T در بین بیماران مبتلا به بیماری های اسکلروزیس و گروه کنترل گزارش شده است(۱۳). نتایج تحقیقی که توسط مجتهدی در سال ۲۰۰۵ در بیماران دیابتی نوع ۱ انجام شده، نشان داده است که نسبت آلل G به آلل A در موقعیت(+۴۹)A/G بالا است(۱۴). یافته های این تحقیق موید این گفته است که حذف ژنی CTLA-4، در ناحیه پروموتور و اگزون شماره ۱ ممکن است با مکانیسم هایی که باعث فعال شدن بدون کنترل لنفوسیت ها می شود و مطرح کننده بیماری خود ایمنی است، در ارتباط باشد. مطالعاتی که در ارتباط با بیماری های اتوایمیون نهفته در بزرگسالان انجام شده نشان می دهد که توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل ها از CTLA-4.49A/G ژن پلی مورفیسم در بیماران مبتلا به T2DM و گروه شاهد یکسان بوده و ارتباطی بین توزیع این آلل و بیماری یافت نشد(۱۵). مطالعه انجام شده در مورد ارتباط پلی مورفیسم CTLA-4 و CD28 با بیماری دیابت نوع ۲ در سال ۲۰۱۰ در ترکیه نشان داد که تفاوت قابل مشاهده ای در توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل های(۳۱۸-)C/T,(+۴۹)A/G در دیابت نوع ۲ در مقایسه با گروه کنترل وجود ندارد(۱۶).

در مطالعه ایی که Xiuying Qi و همکاران در ارتباط با A/G +۴۹ انجام دادند اثر مشترک alelle G CTLA-4 و سابقه خانوادگی دیابت در بروز LADA و T2DM تشخیص داده شد. تحقیق مذکور نشان داد که در صورت سابقه خانوادگی دیابت در خانواده در افراد حامل CTLA-4، آلل G افزایش یافته بود به عبارتی پلی مورفیسم در ژن CTLA-4 با LADA و T2DM همراه است و اثر آلل G در LADA قوی تر از T2DM است که این نتایج با نتایج این تحقیق هماهنگی دارد(۱۷). هم چنین در مطالعه ای که در جمعیت کرد انجام شده تفاوت معنی داری بین T2DM و گروه شاهد در توزیع آلل A/G+۴۹ از ژن

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

CTLA-4 وجود نداشته است در حالی که ارتباط معنی داری بین دیابت نوع ۱ و گروه کنترل مشاهده شده است(۱۸).

ژن های متفاوتی در جمعیت های مختلف در استعداد ابتلا به بیماری دخیل هستند و ممکن است انواع خاص موتاسیون های بیماری زا در تمامی گروه های نژادی و جغرافیایی وجود داشته باشد، همان چیزی که تنوع ژنتیکی خوانده می شود(۱۹). به این ترتیب که اگر چه جمعیت های متفاوت همگی به بیماری یکسانی مستعد هستند اما فاکتورهای آنتی ژنی و محیطی متفاوت سبب فعال شدن موتاسیون های متفاوتی در ژنوم می گردند که فرد را مستعد می سازد. از سوی دیگر این یافته ها ممکن است بیانگر توزیع ژنی متفاوت در مخزن ژنتیکی جمعیت در هر ناحیه جغرافیایی باشد(۲۰). بنا بر این با توجه به نقش CTLA-4 در بیماری های خودایمن و شیوع بالای دیابت در بخش قابل توجهی از جامعه ما که نشانگر شدت و اهمیت این عوامل خطرساز می باشد شناسایی افرادی که به لحاظ ژنتیکی مستعد به مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ هستند، می تواند در آگاهی دادن به افراد از لحاظ تغییر نوع زندگی و رژیم غذایی موثر باشد.

این نتایج پیشنهاد می کند که پلی مورفیسم های A/G(۴۹+),C/T(-۳۱۸) ژن CTLA-4 ارتباط معنی داری با دیابت نوع دو دارند در حالی که در پلی مورفیسم T/C(+۱۷۲۲) این ارتباط مشاهده نمی شود.

References

1. Kahn SE, Hull R L, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. J Nature 2006; 444:840-6.
2.Carlson B. SNPs-A shortcut to personalized medicine. J Genet Eng Biotechnol News 2008;28:12-22.
3. Bittencourt PL, Palacios SA, Cancado EL. Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 gene polymorphisms do not confersusceptibility to autoimmune hepatitis types 1 and 2 in Brazil. Am J Gastroenterol 2003;98:1616-20.
4. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. J Med Clin North Am 2004; 88:787-835.
5. Dipasqua AJ, Wallner S, Kerwood D J, Dabrowiak JC. Adsorption of the PtII anticancer drug carboplatin by mesoporous silica. Chem Biodiveres 2009;6: 1343-9.
6. Bril V, Perkins B, Toth C. Neuropathy. Canadian J Diabetes 2013;6: 142-4.
7. DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. J Med Clin North Am 2004; 88: 787-835.
8. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA. CD28/B7 system of T cell costimulation. J Ann Rev Immunol 1996; 14: 233-58.
9. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. J Lancet 2005; 365: 1415-28.
10. Nistico LR, Buzzetti LE, Pritchard B.The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with type 1 diabetes. J Hum Mol Genet 1996; 5: 1075-80.
11. Rau H, Braun J, Donner H. The Codon 17 Polymorphism of the CTLA4 Gene in Type 2 Diabetes Mellitus. J Clin Endocrinol Metab2001;68: 653-6.
12. Gogas H, Dafni U, Koon H, Spyropoulouvlachou M, Metaxas Y, Buchbinder E, et al. Evaluation of six CTLA-4 polymorphisms in high risk melanoma patients receiving adjuvant interferon therapy in the He13A/98 multicenter trial. J Transl Med 2010; 8: 8-10.
13. Almasi S, Erfani N, Mojtahedi Z, Rajaee A, Ghaderi A. Association of CTLA-4 gene promoter polymorphisms with systemic sclerosis in Iranian population. J Genes Immun2006; 7:401-6.
14. Mojtahedi Z, Omrani GR, Doroudchi M, Ghaderi A. CTLA-4+ 49 A/G polymorphism is associated with predisposition to type 1 diabetes inIranians. J Diabetes Res Clin Pract2005;68:111-6.
15. Haller K, Kisand K, Pisarev H, Salur L, Laisk T, Nemvalts V,et al. Insulin gene VNTR, CTLA-4+ 49A/G and HLA-DQB1 alleles distinguish latent autoimmune diabetes in adults from type 1 diabetes and

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

from type 2 diabetes group. J Tissue Antigens 2007;69: 121-7.
16. Uzer E, Dilmec F, Akkafa F, Boduroglu O, Kuilenburg A. Investigation of CTLA-4 and CD28 gene polymorphisms in patients with diabetes mellitus Type 2 using PCR-RFLP in a Turkish population. West Indian Med J 2010; 59: 235-40.
17. Qi X, Wang ZXU, Sun J, Keller L, Xu W. Relationship of CTLA-4 gene to latent autoimmune diabetes in adults and Type 2diabetes a population based case control study. J Diabetes Manage2014;4:131-9.
18. Ahmadi S, Rostamzadeh J, Khosravi D, Shariati P, Shakiba N. Association of CTLA-4 gene 49A/G polymorphism with the incidence of type 1 diabetes mellitus in the Iranian Kurdish population. Pakistan J Biol Sci2013; 16: 1929-35.
19. Marron MP, Raffel LJ, Garchon HJ, Jacob CO, Teng WP, et al. Insulin dependent diabetes mellitus is associated with CTLA4 polymorphisms in multiple ethnic groups. J Hum Mol Genet1997;6:1275-82.
20. Kristiansen O, Larsen Z, Pociot F. CTLA-4 in autoimmune diseases a general susceptibility gene to autoimmunity. J Genes Immun2000;1:170-84.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]

The Investigation of Relationship between Polymorphisms of CTLA-4geneand Type II Diabetes

Khadempar S[1], Keshavarzi F[2], Solgi G[3]*

(Received: November 30, 2014 Accepted: December 8, 2015)

Abstract

Introduction: Type II diabetes is the most common form of diabetes and accounts for 90 percent of disease cases. CTLA4 represents a key regulatory element in the T cell/antigen-presenting cell interaction. Because CTLA4 involves in antigen-specific apoptosis and progressive failure of B-cell, a typical feature of type 2 diabetes, CTLA4 may be a candidate gene to indicate type 2 diabetes susceptibility. The aim of this study was to investigate the role of polymorphisms of CTLA-4 gene in type II diabetic patients compared with healthy subjects.

Materials & methods: In this case-control study, the blood samples were collected from 100 patients and 111 controls from Sanandaj, Hamedan and Kermanshah cities. After DNA extraction, the polymorphisms of CTLA-4 was investigated by ARMS-PCR method. Then, statistical analysis of results was performed using chi-square test.

Findings: The results show that the GG genotype at position +49 [OR (95% CI) = 1.92 P = 0.02] and in position - 318 TT and CT [OR (95% CI) = 9.80 P = 0.02] are a risk factor for Type II diabetes, while on position -1722 T/C [OR (95% CI) = 1.85 P =0.50] doesn't have significant relationship.

Discussion & conclusions: These results suggest that the polymorphisms +49 A/G and -318 C/T of CTLA-4 gene have significant relationship with type II diabetes, without any significant relationship with the position of -1722 T/C.

Keywords: Diabetes type II, Polymorphism, CTLA-4

1.Dept of Biology, Kurdistan Science and Research Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2. Dept of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2.Dept of Immunology, Faculty of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran
**Corresponding author Email: Gol.keshavarzi@gmail.com*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-04-04]

[DOI: 10.18869/acadpub.sjimu.24.5.22]