



بررسی فراوانی آللی پلی مورفیسم rs2070150 در بیماران مبتلا به دیابت تیپ ۲ در جمعیتی از استان کردستان

روناک شهسواری: کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

فاطمه کشاورزی: دانشیار ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران (*نویسنده مسئول) fkeshavarzi@iausdj.ac.ir

چکیده

کلیدواژه‌ها

دیابت نوع ۲،

پلی مورفیسم،

ATF6(rs2070150)

زمینه و هدف: دیابت تیپ ۲ یک بیماری متابولیک است. مکان‌های ژنتیکی متنوعی در استعداد ابتلا به این بیماری نقش دارند که از جمله آن مکان‌هایی در ژن ATF6 (Activating transcription factor) می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم ATF6(rs2070150) و دیابت تیپ دو در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در کردستان انجام شده است.

روش کار: در مطالعه مورد - شاهدی حاضر، ۱۰۰ نمونه خون بیمار همراه با ۱۰۰ نمونه کنترل (با همسان‌سازی سن و جنس) از شهرهای استان کردستان برای جایگاه ATF6(rs2070150) با استفاده از روش Tetra-ARMS PCR ارزیابی شد و داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و با آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد در میان افراد بیمار ۴، ۱۲ و ۸۴ نفر و در میان افراد کنترل سالم ۳، ۲۶ و ۷۱ آن‌ها به ترتیب ژنوتیپ CC، CG و GG داشتند. این نتایج مؤید این است که فراوانی آلل‌های CC و GG در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر، ولی فراوانی آلل GC در گروه کنترل نسبت به گروه آزمایش بیشتر است که این تفاوت در سطح آلل‌های گروه بیمار و کنترل به لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد

نتیجه‌گیری: ژنوتیپ GC (۴۲٪) در جمعیت مطالعه شده یک ریسک فاکتور برای دیابت تیپ دو است ($p=0/041$).

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت‌کننده: دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج

شیوه استناد به این مقاله:

Shahsavari R, Keshavarzi F. Allelic frequency of rs2070150 polymorphism in patients with type 2 diabetes in a population of Kurdistan province. Razi J Med Sci. 2019;26(7):1-9.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.



Original Article

Allelic frequency of rs2070150 polymorphism in patients with type 2 diabetes in a population of Kurdistan province

Ronak Shahsavari, MA, Department of Biology, Sanandaj branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran

Fatemeh Keshavarzi, Associate Professor, Department of Biology, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran (*Corresponding author) fkeshavarzi@iausdj.ac.ir

Abstract

Background: Type 2 diabetes is a metabolic disorder. Various genetic locations play a role in susceptibility to this disease, including those in the ATF6 (Activating transcription factor. The aim of this study was to investigate the correlation between ATF6 polymorphism (rs2070150) and type 2 diabetes mellitus in patients with type 2 diabetes in Kurdistan.

Methods: The present study is a case-control study. A total of 200 blood samples 100 healthy individuals and 100 diabetic patients (age and gender matched)) from the cities of Kurdistan province were screening for ATF6 (rs2070150) polymorphism by Tetra-ARMs PCR method. The obtained data were analyzed using SPSS software and chi-square test.

Results: The results showed that 4, 12 and 84 patients, and 3, 26 and 71 healthy controls, respectively, had CC, CG and GG genotypes.

Conclusion: GC (%42) Genotype in studied population is a risk factor for type 2 diabetes ($p=0.041$).

Conflicts of interest: None

Funding: Islamic Azad University, Sanandaj Branch

Keywords

Type 2 diabetes,
Polymorphism,
ATF6 (rs2070150)

Received: 08/05/2019

Accepted: 10/08/2019

Cite this article as:

Shahsavari R, Keshavarzi F. Allelic frequency of rs2070150 polymorphism in patients with type 2 diabetes in a population of Kurdistan province. Razi J Med Sci. 2019;26(7):1-9.

*This work is published under [CC BY-NC-SA 3.0 licence](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/).

بتا پانکراتیک از طریق دی فسفریلاسیون گلوکوکیناز نیز در تنظیم قند خون در فضای سیتوپلاسم نقش دارد (۸). پروتئین *ATF6* با فرایندهای فیزیولوژیکی مختلفی شامل تمایز سلولی، آپوپتوز و التهاب مرتبط که همگی در تومورزایی بسیار مهم هستند، مرتبط است (۱۲). مطالعات ژنتیک ملکولی پلی مورفیسم‌هایی را در *ATF6* نشان داده است که با دیابت نوع ۲، سطح کلسترول پلاسما و شاخص وزن بدن در ارتباط هستند (۱۳). وو (Wu) و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی نقش پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در سرطان کبد (HCC) پرداختند. این مطالعه در دو مرحله در سه گروه موردی-شاهدی در یک نمونه ۱۰۸۲ نفری از بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن (CHB) و ۸۱۶ بیمار مبتلا به ویروس هپاتیت B (HBV) انجام شد (۱۴). نتایج این مطالعه نشان داد که پلی مورفیسم ناجور (rs2070150) با HCC ارتباط معناداری دارد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که با پیشرفت بیماری، بیان *ATF6 mRNA* به‌طور معناداری افزایش یافته است. آنالیزهای آماری نشان داد که آلل حفاظتی rs2070150 می‌تواند به‌طور معناداری سطح بیان *ATF6 mRNA* و ژن‌های تنظیم شده *ATF6* از جمله *GRP78*، *XBPI* و *CHOP* را افزایش دهد (۱۴). در مطالعه دیگری هو (Hu) و همکاران به بررسی پلی مورفیسم ژنتیکی *ATF6* با بیماری دیابت نوع ۲ پرداختند. در این مطالعه از ۱۸۹۲ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ و ۱۸۰۸ نمونه شاهد با تنظیم عادی گلوکز استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ‌یک از پلی مورفیسم‌ها و هاپلوتایپ‌ها رابطه معناداری را با دیابت نوع ۲ نشان نداند در واقع هیچ رابطه‌ای بین پلی مورفیسم‌ها و ویژگی‌های کمی مشاهده نشد (۱۵). با توجه به آنچه بیان شد در پژوهش جاری به بررسی ارتباط ژنتیکی میان مکان پلی مورفیک *ATF6(rs2070150C/G)* با دیابت تیپ ۲ در دو گروه کنترل سالم و بیمار در استان کردستان پرداخته شده است.

دیابت تیپ ۲ از جمله بیماری‌های متابولیک است و در کشورهای پیشرفته و در حال رشد یک معضل بزرگ بهداشتی در حال گسترش می‌باشد که منجر به ناتوانی و مرگ زودرس می‌گردد. آمار ابتلا به دیابت ملیتوس در سال ۲۰۱۱، ۳۶۶ میلیون نفر در کل جهان بوده و پیش‌بینی می‌شود که این آمار تا سال ۲۰۳۰ به ۵۵۲ میلیون نفر برسد (۳ - ۱). مبتلایان به دیابت نوع ۲، ۹۰ تا ۹۵ درصد از بیماران دیابتی را شامل می‌شوند. عوامل متعددی در ایجاد دیابت نوع دو وجود دارند از جمله چاقی که به عنوان مهم‌ترین فاکتور خطر ساز دخیل در بروز دیابت نوع ۲ در نظر گرفته می‌شود (۴). برخی از محصولات بیولوژیکی که توسط آدیپوسیت‌ها تولید می‌شوند (نظیر لپتین، تومور نکروز فاکتور آلفا، اسید چرب آزاد) سبب تداخل در مراحل ماند ترشح انسولین، عملکرد انسولین و نیز تعدیل وزن بدن شده و ممکن است در ایجاد مقاومت به انسولین نقش داشته باشند. عامل دیگر، اختلال تحمل گلوکز است (۵). اثر استرس به‌واسطه‌ی تأثیر بر وضعیت متابولیک و تغییر در هورمون‌هایی چون کاتکول آمین و هورمون رشد می‌تواند در ترشح انسولین و ایجاد مقاومت نسبت به آن دخیل باشد. در رابطه با عامل فشار خون یک فرضیه فرعی این است که بالا رفتن فشار خون یک مارکر اختلال عملکرد اندوتلیال است، که آن نیز یک ریسک فاکتور مقاومت به انسولین، دیابت نوع ۲ و بیماری عروقی است (۸ - ۶). ارتباط ژنتیک با دیابت نوع ۲ نسبت به ارتباط آن با دیابت نوع ۱ قوی‌تر می‌باشد. با این‌که هنوز بسیاری از ژن‌های زمینه‌ساز ابتلا به دیابت شناخته نشده است ولی مشخص است که این بیماری پلی ژنیک و چندعاملی می‌باشد. لوکوس‌های ژنتیکی متنوعی در استعداد ابتلا به این بیماری نقش دارند (۱۰ - ۹). از جمله مکان‌های ژنی که نقش آن در این ارتباط به اثبات رسیده مربوط به ژن *Activating 6(ATF6)* است. این ژن بر روی 1q21-q23 قرار گرفته است (۱۱). پروتئین حاصل از رونویسی این ژن در گلیکولیز کبدی نقش دارد و در سلول‌های

روش کار

بیماران: تحقیق حاضر یک مطالعه مورد - شاهدی است. بیماران از میان افراد دیابتی ۳۵ سال به بالا و تحت درمان با داروی خوراکی که به مراکز درمانی و آزمایشگاهی استان کردستان (سقز، مریوان، بانه و کامیاران) مراجعه داشته‌اند، بدون محدودیت جنس انتخاب شدند. به همان تعداد بیماران، افراد سالم نیز از میان مراجعین و همراهان بیماران و سایر افراد به عنوان نمونه کنترل و با همسان‌سازی سن و جنس انتخاب شدند. افراد سالم و بیمار از نظر عدم وجود بیماری‌های سیستمیک دیگر مورد آزمایش قرار گرفتند. بر اساس آخرین معیارهای انجمن ADA (انجمن دیابت آمریکا) ۴ ویژگی برای ابتلا به دیابت ملیتوس در بیمار باید وجود داشته باشد. این 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 می‌شود این معیار قبلاً برای پایش درمان استفاده می‌شود ولی در حال حاضر معیار تشخیصی نیز تلقی می‌شود. 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 پلی‌اوری، پلی‌دیپسی و کاهش وزن این یافته باید با تکرار تست در روز دیگر تأیید گردد. ۳. گلوکز ۲ ساعته پلاسما مساوی یا بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر که پس از خوردن ۷۵ گرم گلوکز حل شده در آب در خلال تست تحمل گلوکز استاندارد تعیین شده باشد. ۴. چنانچه علائم هیپرگلیسمی موجود باشد و بعلاوه گلوکز پلاسما در نمونه تصادفی مساوی یا بیشتر از ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی لیتر باشد. بعد از انتخاب بیماران و کنترل در ابتدا اطلاعاتی به صورت کتبی و شفاهی در مورد طرح برای آگاه‌سازی شرکت‌کنندگان به آن‌ها منتقل شد. بیماران و کنترل بعد از اخذ رضایت کتبی و به صورت محرمانه ماندن اطلاعات آن‌ها در تحقیق شرکت داده شدند. در ادامه دو میلی‌لیتر خون از هر فرد (سالم و بیمار) گرفته شده و در ویال حاوی EDTA برای انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود. ملاحظات اخلاقی: اصول اخلاقی، پژوهشگران و به

ویژه افراد با کارکردهای خاص را در سطح جامعه ملزم می‌کند که اصولی رفتار کنند؛ زیرا هر قدر مسؤلیت‌ها مهم‌تر و جدی‌تر باشد، تکلیف‌های ناشی از رعایت اصول اخلاقی و اخلاقیات بیشتر است. چندین اصل اخلاقی در رابطه با شرکت‌کنندگان حاکم است، این اصول شامل این موارد می‌باشد: رضایت آگاهانه داوطلبانه، حق انصراف از پژوهش، افشای اطلاعات، حریم خصوصی/راز داری-محرمانگی، اجتناب از آسیب رساندن، اجتناب از تبعیض، عدم استثمار، ضرر ناشی از مشارکت در پژوهش که همه این موارد در این بررسی انجام شد. استخراج DNA از خون با استفاده از محلول DNAfast (۱۲): ابتدا $900 \mu\text{l}$ از محلول DNAfast را در لوله میکروفیوژ (1.5ml) ریخته و سپس $200 - \mu\text{l}$ خون را به آن اضافه نموده و به مدت یک دقیقه این مخلوط به شدت تکان داده شد. نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده شد. مقدار $400 \mu\text{l}$ کلروفرم به نمونه اضافه شده و لوله به مدت ۱۵ ثانیه به آرامی تکان داده شد (حدوداً ۶ بار لوله به آرامی سروته شد). در ادامه نمونه به مدت ۳ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار گرفت. نمونه با دو 12000 rpm ب مدت ۱۵ دقیقه و در درجه حرارت 4°C در میکروسانتریفیوژ، سانتریفیوژ شد. در این مرحله ۳ فاز مشخص در لوله ایجاد شد، محلول رویی (بالایی) به آرامی جدا گردید و به یک لوله میکروفیوژ جدید منتقل شد. هم حجم جدا شده، محلول ایزوپروپانل (حدوداً $400 - 500 \mu\text{l}$) اضافه شد و بخوبی *Vortex* گردید. سپس نمونه به مدت ۱۵ دقیقه بر روی یخ خرد شده قرار داده شد. نمونه با دور 12000 rpm به مدت ۱۰ دقیقه در 4°C سانتریفیوژ گردید. به آرامی محلول رویی را خارج و رسوب حاصل را در ته لوله باقی ماند. مقدار 1ml از اتانل ۷۵٪ به رسوب اضافه شده و لوله را به آرامی تکان داده تا رسوب بدین وسیله شستشو شد. نمونه با دور 750 rpm به مدت ۵ دقیقه در 4°C سانتریفیوژ گردید. به آرامی مایع رویی را خارج و رسوب DNA را در لوله نگه داشته شد. لوله را به مدت ۵-۱۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه قرار داده تا رسوب DNA کمی خشک گردید. رسوب DNA در $20 \mu\text{l}$ آب مقطر استریل حل شد. برای اطمینان از کیفیت DNA مقدر $3 \mu\text{l}$ از نمونه را بر روی ژل آگاروز ۰/۷٪ و ب/ا استفاده

جدول ۱- پرایمرهای پلی مورفیسم ATF6(rs2070150) جهت انجام Tetra -ARMS PCR

SNP	System	Primer sequence (5'-3')	Allele
ATF6(rs2070150)	F. inner primer	ATGGTGAAAACCTCTAATAGTCTCTCTTGAC	C
	R. inner primer	AGGCTTATCTTCCTTCAGTGGCTCGGC	G
	F. outer primer	TTCCTTTGGTATAGATGGATCATGCTGA	
	R. outer primer	AAAAAACAGCAAGCCAGCCTAATAAACA	

برای ژن ATF6(rs2070150) تکثیر می‌شد، به شرح ذیل است: قطعه تکثیری حاصل از پرایمرهای forward و reverse خارجی برابر با ۴۳۴ bp و طول قطعه حاصل از پرایمرهای forward داخلی و reverse خارجی برابر است با ۱۹۳ bp (برای آلل C) و طول قطعه حاصل از پرایمرهای forward خارجی و reverse داخلی برابر با ۲۹۳ bp (برای آلل G) است. در ادامه نوع و تعداد ژنوتیپ‌های در افراد سالم و دیابتی با روش Tetra -ARMS PCR و با استفاده از کیت سیناژن انجام شد (شکل ۱).

یافته‌ها

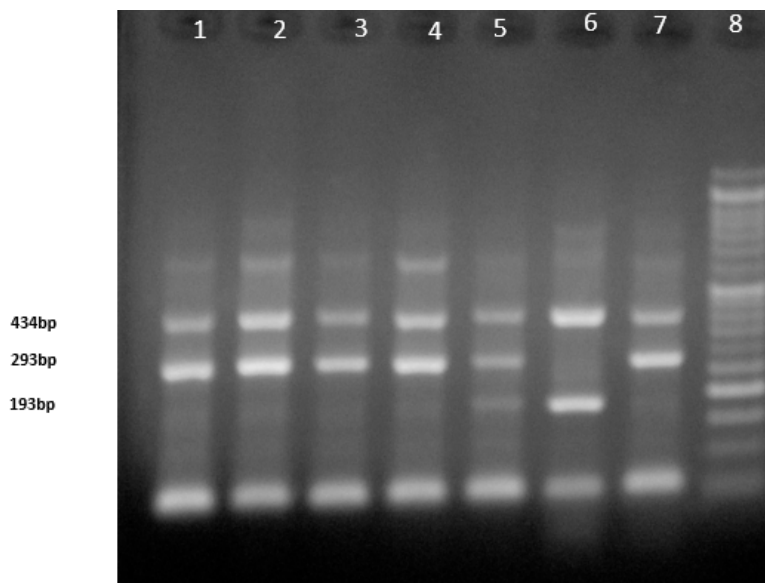
توزیع ژنوتیپ‌ها در ۱۰۰ فرد سالم مورد بررسی (۶۰ مرد و ۴۰ زن) در جدول ۲ درج گردیده است. همان‌طور که در جدول ۲ آمده از ۱۰۰ کنترل سالم (۴۰ زن و ۶۰ مرد)، به ترتیب (۳۱٪) و (۴۰٪) و (۹٪) نفر ژنوتیپ GG داشتند. همچنین (۲۸٪) فرد (۲۸٪) نفر ژنوتیپ GG داشتند.

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 اندازه‌گیری شد. غلظت DNA و پروتئین هر نمونه برحسب میکروگرم بر میلی‌متر در طول موج‌های ۲۶۰ nm، ۲۸۰ nm تعیین شد. جهت بررسی کیفیت نمونه‌ها در این پژوهش از ژل آگارز نیز استفاده شد.

Tetra -ARMS PCR: سکانس ژن ATF6 با مراجعه به سایت بین‌المللی NCBI به دست آمد و سپس با استفاده از نرم‌افزار آن لاین Primer 3 برای SNP مورد نظر ۴ پرایمر، دو پرایمر داخلی و دو تا خارجی طراحی شد. بعد از طراحی جهت سنتز به شرکت سیناژن سفارش داده شد (جدول ۱).

زوج پرایمرهای مورد استفاده شامل یک جفت پرایمر خارجی عمومی و یک جفت پرایمر داخلی اختصاصی آلل برای ژن بود. اندازه قطعاتی که بوسیله این ۴ پرایمر

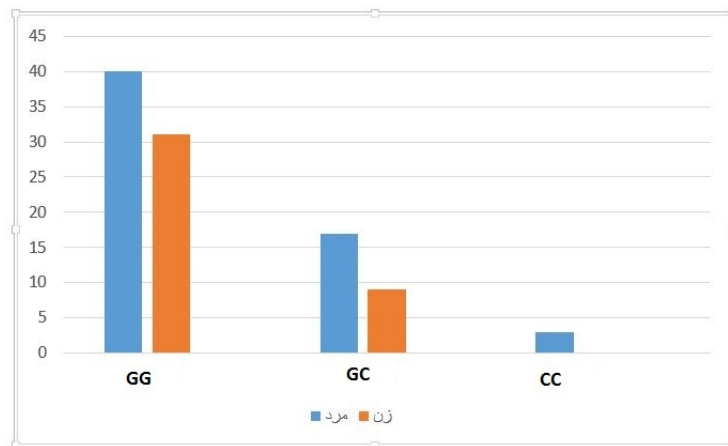


شکل ۱- تصویر الکتروفورز محصولات pcr ژن ATF6

- 1: Genotype GG (control: ۴۳۴bp, G: ۲۹۳ bp)
 5: Genotype GC (control: ۴۳۴ bp, G: ۲۹۳bp, C: ۱۹۳ bp)
 6: Genotype CC (control: ۴۳۴bp, C: ۱۹۳ bp)
 8: Ladder 50 bp

جدول ۲- نحوه توزیع فراوانی ژنوتیپ های بین مردان و زنان سالم

ژنوتیپ	جنسیت		کل
	زن	مرد	
GG	۳۱	۴۰	۷۱
GC	۹	۱۷	۲۶
CC	-	۳	۳



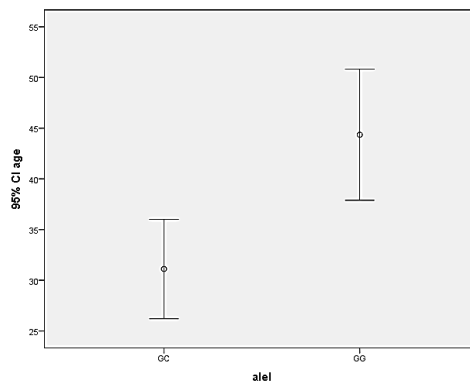
نمودار ۱- نحوه توزیع ژنوتیپها در مردان و زنان سالم

دارد، حذف این ژنوتیپ امکان مقایسه بهتر بین جنسیت، توزیع سن و نوع ژنوتیپ ایجاد می کند. نتایج این تحلیل در نمودارهای ۲ و ۳ نشان داده شده است. نتایج نمودارهای ۲ و ۳ در این سطح از مطالعه نشان می دهد در هر دو جنس پراکندگی سنی برای ژنوتیپ GC تقریباً برابر است، اما میزان این توزیع برای ژنوتیپ GG در مردان سالم نسبت به زنان کمتر و برای ژنوتیپ CC میزان توزیع در زنان سالم صفر است. در ادامه برای بررسی رابطه ژن *ATF(rs2070150)* با بیماری دیابت نوع دو، نوع ژنوتیپ افراد سالم و بیماران دیابتی را با تشکیل جدول توافقی، به طریق مشابه مورد مقایسه قرار دادیم. نتایج حاصل از بررسی فراوانی پلی مورفیسم ژن *ATF(rs2070150)* در جدول ۲ آمده است.

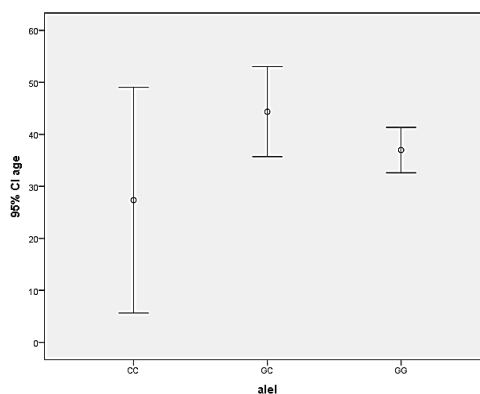
نتایج جدول ۲ نشان می دهد که از صد فرد سالم و صد نفر بیمار دیابتی به ترتیب ۳ (۳٪) و ۴ (۴٪) نفر دارای ژنوتیپ CC هستند. همچنین از صد فرد سالم و صد نفر بیمار دیابتی به ترتیب ۲۶ (۲۶٪) و ۱۲ (۱۲٪) نفر دارای ژنوتیپ GC هستند. علاوه بر این از صد فرد سالم (۷۱٪) ۷۱ نفر ژنوتیپ GG و تعداد این ژنوتیپ برای افراد بیمار ۸۴ است.

زن و ۱۷ مرد) ژنوتیپ GC و از مجموع ۱۰۰ نفر، ۳ (۳٪) مرد ژنوتیپ CC و هیچ زنی دارای ژنوتیپ CC نبود (نمودار ۱).

نمودار ۱ نحوه توزیع این ژنوتیپها در بین زن ها و مرد های سالم را نشان می دهد. همان طور که در جدول توافقی ۲ مشاهده می شود مقدار معنی داری آماره خی ۲ (p-value) برابر ۰/۰۴۱ است، بنابراین، چون این عدد از سطح خطای ۰/۰۵ بیشتر است، با اطمینان ۹۵ درصد می توان گفت که توزیع ژنوتیپ بین زنان و مردان سالم یکی نیست ولی با توجه به اینکه تعداد زن و مرد برابر نیستند و جامعه ی آماری یکسان نیست امکان نتیجه گیری در این سطح از مطالعه وجود ندارد و نیاز به مطالعات بیشتر است. نحوه توزیع سن افراد سالم با نوع ژنوتیپ بررسی شد و از نمودار میله ای خطا (Error Bar) استفاده شد. در این نمودار میانگین هر طبقه با یک نقطه و با محاسبه واریانس، یک فاصله اطمینان برای داده های آن طبقه رسم می شود. چون در افراد سالم تعداد افراد با ژنوتیپ CC برابر با صفر است، ساختن فاصله اطمینان برای آن دقت لازم را ندارد، بنابراین، این نوع ژنوتیپ را در رسم نمودار کنار می گذاریم. چون ژنوتیپ نوع CC فقط در مردان وجود



نمودار ۲- نمودار میله‌ای خطا برای بررسی نحوه توزیع سن در ژنوتیپ‌های زنان سالم



نمودار ۳- نمودار میله‌ای خطا برای بررسی نحوه توزیع سن در ژنوتیپ‌های مردان سالم

جدول ۲- نتایج آزمون کای دو به منظور مقایسه بین پلی مورفیسم توالی فاکتور رونویسی (ATF6) و دیابت تیپ ۲

P-Value	OR (CI95%)	گروه				ATF6(rs2070150)
		کنترل		بیمار		
		درصد	فراوانی	درصد	فراوانی	
0.041	0.42 (0.036 - 0.047)	۳	۳	۴	۴	CC
		۲۶	۲۶	۱۲	۱۲	GC
		۷۱	۷۱	۸۴	۸۴	GG

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعات توالی یابی ژنوم در جمعیت‌های مختلف وجود ژن‌های مستعد کننده متعدد برای دیابت نوع ۲ در ناحیه کروموزومی 1q21-q24 را نشان داده است. چندین ژن ویژه در این ناحیه شناسایی شده‌اند از جمله NOS1AP، LMNA و ATF6 که می‌توانند ریسک بروز دیابت در برخی از جمعیت‌ها را بیشتر نمایند (۴). با توجه به موارد فوق، در این مطالعه به بررسی ارتباط ژنتیکی میان جهش ژنی ATF6(rs2070150) و دیابت تیپ ۲ در جمعیتی متشکل از ۱۰۰ فرد سالم و ۱۰۰ فرد مبتلا به دیابت در کردستان پرداخته شد.

برای بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های ژن ATF6 در افراد سالم و افراد دیابتی نیز از آماره کای دو استفاده شد. با توجه به جدول ۲ مشاهده می‌شود فراوانی آلل‌های CC و GG در گروه آزمایش نسبت به گروه کنترل بیشتر، ولی فراوانی آلل GC در گروه کنترل نسبت به گروه آزمایش بیشتر می‌باشد که این تفاوت در سطح آلل‌های گروه آزمایش و کنترل به لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد. لازم به ذکر است که با توجه به سطوح اطمینان مشاهده شده، سهم این آلل‌ها در ایجاد بیماری دیابت ۴۲ درصد می‌باشد.

نوع ۲ و ۱۸۰۸ نمونه شاهد با تنظیم عادی گلوکز استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ‌یک از پلی‌مورفیسم‌ها و هاپلوتایپ‌ها رابطه معناداری را با دیابت نوع ۲ ندارد. داده‌های این مطالعه نشان داد که پلی‌مورفیسم‌ها در محل DUSP12-ATF6 نقش مهمی را در متابولیسم گلوکز در نمونه‌ها ایفا نمی‌کند (۱۵). نتایج هو ما را تشویق می‌کند که کار را در سطح وسیع‌تر و با نمونه‌های بیشتر گسترش بدهیم. برای مطالعاتی در این مورد سطح نمونه بایستی خیلی بیشتر باشد تا با اطمینان بتوان نتیجه‌گیری نمود.

همچنین تامیم و همکاران در مطالعه‌ای به آنالیز ژن‌های ساختاری واقع بر روی 1q21-q23 در رابطه با دیابت نوع ۲ در چندین جمعیت از هندی‌های پیما پرداختند. در این مطالعه از ۹۰۰ فرد مبتلا به دیابت تیپ ۲ استفاده شد. آن‌ها ۲۰ واریانت از جمله واریانت‌های Val(67)Met، Ala(145)Pro و Ser(157)Pro را در این توالی یابی ژنوم شناسایی کردند. نتایج نشان داد سه واریانت مذکور در بخش مهم و فعالی از ژن *ATF6* قرار گرفته‌اند که خود اهمیت این ژن را در بررسی‌های جمعیتی دیابت تیپ ۲ نشان می‌دهد. آن‌ها در این مطالعه به بررسی رابطه بین این سه واریانت ژن *ATF6* و ابتلا به بیماری دیابت تیپ ۲ پرداختند. نتایج یک ارتباط ضعیفی را نشان داد و لذا بررسی وسیع‌تر در سطح جمعیت پیشنهاد شد (۱۰).

استیون و همکاران نیز در مطالعه‌ای به بررسی این واریانت و بیماری هپاتیت نوع ۲ در قفقازی‌های دانمارکی پرداختند. در این مطالعه ۷۹۸ بیمار مبتلا به هپاتیت نوع ۲ استفاده شد. نتایج این مطالعه نشان داد که واریانت‌های *ATF6* با افزایش سطح گلوکز در جمعیت ارتباط دارد. نتایج کلی این مطالعه نشان داد که یک یا چند واریانت با توزیع هموستازی گلوکز و بیماری هپاتیت نوع ۲ در ارتباط هستند (۱۶). این نتیجه باز اهمیت این ژن در متابولیسم گلوکز و ارتباط آن با دیابت را نشان داد.

وینستون و همکاران در مطالعه‌ای به بررسی ۷۸ پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ۹۵ فرد پرداختند. از این تعداد ۶۴ پلی‌مورفیسم برای ارزیابی در ۱۹۱ قفقازی از اوتا و بین ۱۶۵ و ۱۸۸ سوژه کنترل انتخاب گردید. شش SNP از جمله rs2070150 روابط مثبت با

نتایج به‌دست‌آمده در آزمایشات نشان داد فراوانی آلل‌های CC و GG در گروه بیمار نسبت به گروه کنترل بیشتر، ولی فراوانی آلل GC در گروه کنترل نسبت به گروه آزمایش بیشتر می‌باشد که این تفاوت در سطح آلل‌های گروه آزمایش و کنترل به لحاظ آماری نیز معنی‌دار می‌باشد. لازم به ذکر است که با توجه به سطوح اطمینان مشاهده شده، سهم این آلل‌ها در ایجاد بیماری دیابت ۲ در این جمعیت ۴۲ درصد می‌باشد.

نتایج مطالعات مختلف نشان می‌دهد که *ATF6* به عنوان یک فعال‌ساز کلیدی رونویسی در رأس پاسخ‌های فولدینگ پروتئین‌های تانخورده، یک کاندید عملکردی برای دیابت نوع ۲ محسوب می‌شود و مطالعات، نقش آن را در پاسخ‌های استرسی شبکه رتیکولو اندوپلاسمیک، سندرم مقاومت به انسولین و هپاتیت تأیید می‌کند (۱۳). وو و همکاران در مطالعه‌ای با عنوان «پلی‌مورفیسم ناچور در ژن *ATF6* با مستعد بودن به سرطان کبد احتمالاً با تغییر سطح *ATF6* ارتباط دارد» به بررسی نقش پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی در سرطان کبد (HCC) پرداختند. این مطالعه در دو مرحله در سه گروه موردی-شاهد در یک نمونه ۱۰۸۲ نفری از بیماران مبتلا به هپاتیت B مزمن (CHB) و ۸۱۶ بیمار مبتلا به ویروس هپاتیت B (HBV) انجام گرفت (۱۴). نتایج این مطالعه نشان داد که پلی‌مورفیسم rs2070150 با HCC ارتباط معناداری دارد. به‌طور کلی نتایج نشان داد که با پیشرفت بیماری، بیان *ATF6* mRNA به‌طور معناداری افزایش یافته است. آنالیزهای عاملی نشان داد که آلل حفاظتی rs2070150 می‌تواند به‌طور معناداری سطوح بیان *ATF6* mRNA، بعلاوه ژن‌های تنظیم شده *ATF6* از جمله GRP78، XBP1 و CHOP را افزایش دهد (۱۴) که نتایج این مطالعه تأییدی بر تحقیق جاری است هرچند تعداد نمونه در مقایسه با کارهای وو بسیار کم است.

همچنین هو و همکاران در مطالعه‌ای دیگری تحت عنوان «عدم رابطه بین پلی‌مورفیسم‌های ژنتیکی در محل DUSP12-ATF6 و ویژگی‌های مرتبط با متابولیسم گلوکز در یک جمعیت چینی» به بررسی رابطه بین پلی‌مورفیسم ژنتیکی با بیماری دیابت نوع ۲ پرداختند. در این مطالعه از ۱۸۹۲ بیمار مبتلا به دیابت

6. Graff M, Gordon-Larsen P, Lim U, Fowke JH, Love SA, Fesinmeyer M, et al. The influence of obesity-related single nucleotide polymorphisms on BMI across the life course: the PAGE study. *Diabetes*; 2013.62:1763-7.

7. Winston S, Swapan D, Hua W, Juliana C, Panos D, Philippe F, et al. Activating Transcription Factor 6 (ATF6) Sequence Polymorphisms in Type 2 Diabetes and Pre-Diabetic Traits. *Diabetes J*; 2007.56(9):45-56.

8. Shuda M, Kondoh N, Imazeki N. Activation of the ATF6, XBP1 and grp78 genes in human hepatocellular carcinoma: a possible involvement of the ER stress pathway in hepatocarcinogenesis. *J Hepatol*; 2003.38:605-14.

9. Xiao S, Zeng X, Fan Y, Su Y, Ma Q, Zhu J, et al. Gene Polymorphism Association with Type 2 Diabetes and Related Gene-Gene and Gene-Environment Interactions in a Uyghur Population. *Med Sci Monit*; 2016. 22: 474- 87.

10. Thameem F, Farook VS, Bogardus C, Prochazka M. Association of Amino Acid Variants in the Activating Transcription Factor 6 Gene (ATF6) on 1q21-q23 With Type 2 Diabetes in Pima Indians. *Diabetes J*; 2008.55:839-842.

11. Meyre D, Delplanque J, Chevre JC, Lecoœur C, Lobben S, Gallina S, et al. Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat Genet*; 2009.41:157-9.

12. Wu X, Xin Z, Zhang W. A missense polymorphism in ATF6 gene is associated with susceptibility to hepatocellular carcinoma probably by altering ATF6 level. *Int J Cancer*; 2010.135:61-68.

13. Almawi WY, Nemr R, Keleshian SH, Ehtay A, Saldanha FL, Al-Doseri FA, et al. A replication study of 19 GWAS- validated type 2 diabetes at-risk variants in the Lebanese population. *Diabetes Res Clin Pract*; 2013.102:117-22.

14. Wu J, Xu J, Zhang Z, Ren J, Li Y, Wang J, et al. Association of FTO polymorphisms with obesity and metabolic parameters in Han Chinese adolescents. *PLoS One*; 2014. 9: e98984.

15. Hu C, Zhang R, Wang C, Ma X, Wang J. Lack of association between genetic polymorphisms within DUSP12-ATF6 locus and glucose metabolism related traits in a Chinese population. *BMC Med Gene*; 2011.12:3-8.

16. Steven JR, Meex MJ, van Greevenbroek. Activating Transcription Factor 6 Polymorphisms and Haplotypes Are Associated with Impaired Glucose Homeostasis and Type 2 Diabetes in Dutch Caucasians. *J Clin Endocrinol Metabol*; 2007.92(7):2720-272.

17. Cheung CY, Tso AW, Cheung BM, Xu A, Ong KL, Law LS, et al. Genetic variants associated with persistent central obesity and the metabolic syndrome in a 12-year longitudinal study. *Eur J Endocrinol*; 2011.164:381-8.

دیابت نوع ۲ را داشتند. (۷).

چو و همکاران نیز در مطالعه خود با بررسی ارتباط SNP های از ژن *ATF6* با دیابت تیپ ۲ در ۹۵ فرد پرداختند. نتایج آن‌ها نشان داد که عدم توازن بیان آللی در cDNA لنفوسیت وجود دارد. به‌طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که *ATF6* نقش مهمی در دیابت نوع ۲ ایفا نمی‌کند، اما بررسی دقیق آن نیازمند مطالعات بیشتر در خصوص عدم توازن در بیان آللی است (۱۷). اکثر مطالعات همراهی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی دارای مشکل عدم تجدید پذیری هستند که این امر توالی یابی دوباره ژن‌ها به‌منظور شناسایی واریانت‌های نادر جدید و جهش‌های مضر را ضروری می‌سازد؛ و لذا مطالعاتی از این دست در جمعیت‌ها به نظر ضروری است. مشکلی که در مطالعه ما بیشتر از همه خود را نشان می‌دهد کم بودن حجم نمونه است. در اکثر مطالعاتی که ذکر شده حجم نمونه مورد بررسی بیشتر از صدها نفر بوده است. با توجه به محدودیت منابع مالی و حمایتی این بررسی در این سطح انجام شده و نیاز می‌باشد برای رسیدن به یک نتیجه‌گیری منطقی و صحیح کار ادامه یابد.

مطالعه حاضر روی این حجم از جمعیت مورد بررسی، رابطه معنی‌داری بین ژنوتیپ GC(42%) از مکان ژنی *ATF6(rs2070150)* با دیابت تیپ دو نشان داد ($P=0/041$)، به عبارتی این ژنوتیپ یک ریسک فاکتور برای ابتلا به بیماری دیابت تیپ ۲ می‌باشد.

References

1. McCarthy MI. Genomics, type 2 diabetes, and obesity. *N Engl J Med*; 2010.363:2339-50.
2. International Diabetes Federation, IDF Diabetes Atlas, Sixth Edition 2013.
3. Hossain P, Kawar BEI, Nahas M. Obesity and diabetes in the developing world—a growing challenge. *N Engl J Med*; 2007.356:213-5.
4. Demirsoy HI, Ertural YD, Balci S, Çinkır Ü, Sezer K, Tamer L, et al. Profiles of circulating miRNAs following metformin treatment in patients with type 2 diabetes. *J Med Biochem*; 2018.237:502-9.
5. Scherag A, Dina C, Hinney A, Vatin V, Scherag S, Vogel CI, et al. Two new Loci for body-weight regulation identified in a joint analysis of genome-wide association studies for early-onset extreme obesity in French and German study groups. *PLoS Genet*; 2010.6:e1000916.