



بررسی ارتباط پلیمورفیسم SNP-43 از ژن Calpain-10 با دیابت شیرین نوع دو در جمعیت آذربایجان شرقی

فاطمه بحرینی^۱، سید مجتبی محدث اردبیلی^{۲*}، صفر فرج نیا^۳، جلال قره سوران^۴، ایرج نبی پور^۴، علیرضا سلطانیان^۵، اکبرعلی عسکرزاده^۶

^۱ گروه ژنتیک انسانی، پژوهشکده ابن سینا

^۲ گروه بیوشیمی و آزمایشگاههای بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۳ گروه سلوی و مولکولی، مرکز پشمینه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

^۴ مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر

^۵ گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشکده علوم پزشکی همدان

^۶ گروه بیماری‌های داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز

چکیده

زمینه: جستجوی گستره ژنوم جهت یافتن استعداد ژنتیکی ابتلاء به دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های مختلف، تاکنون نتایج متفاوتی را در برداشته است. اخیراً Calpain10 به عنوان یک ژن مستعدکننده ابتلاء به دیابت نوع ۲ در ناحیه NIDDM1 شناخته شده است. هدف از این مطالعه تعیین ارتباط پلیمورفیسم ایترنون ۳ (SNP-43) از ژن calpain10 با بیماری دیابت نوع ۲ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی ۱۰۲ فرد دیابتی و ۱۰۰ فرد سالم در استان آذربایجان شرقی بررسی گردید. ژنتیپ‌های مختلف این پلیمورفیسم از ژن calpain10 با استفاده از روش PCR-RFLP تعیین شد و از آزمون مجدور کای و رگرسیون لجستیک برای تحلیل داده‌ها استفاده گردید.

یافته‌ها: توزیع ژنتیپ‌های پلیمورفیسم ژن calpain10 در گروه کنترل برای ژنتیپ‌های A/G، A/A به ترتیب ۱۱ (۱۱ درصد)، ۸۶ (۸۶ درصد) و ۳ (۳ درصد) بود. توزیع ژنتیپ‌ها در گروه بیمار ۷ (۶/۹ درصد)، ۹۵ (۹۳/۱ درصد) و صفر بود. فراوانی آلل G در بین افراد بیمار نسبت به افراد سالم اختلاف معناداری را نشان می‌داد ($P=0.037$).

نتیجه‌گیری: از آنجا که داشتن آلل G ریسک فاکتور ابتلاء به دیابت نوع دو در نظر گرفته شده است، لذا می‌توان گفت که پلیمورفیسم ۴۳ از ژن calpain10 در جمعیت آذربایجان شرقی ارتباط معناداری با بیماری دیابت نوع دو دارد.

وازگان کلیدی: Calpain10، SNP43، دیابت نوع ۲، PCR-RFLP، آذربایجان شرقی

دریافت مقاله: ۸۹/۶/۱ - پذیرش مقاله: ۸۹/۷/۶

* تبریز، خیابان گلگشت، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی

مقدمه

پروتئین‌ها را تعدیل (Modulate) می‌کند (۱۷). در خصوص همبستگی SNP43 از زن ۱۰ Calpain-10 مطالعات متعددی انجام شده است (۱۸-۲۶) که از نظر وضعیت‌های اقلیمی- نژادی شباهتی به جمعیت شمال غرب ایران نداشته و علاوه‌بر آن نتایج متفاوتی نیز از لحاظ همبستگی با دیابت نوع دو را نشان داده‌اند. لذا در این مطالعه بر آن شدیدم که با انجام یک مطالعه مورد-شاهدی رابطه بین پالی‌مورفیسم SNP-43 و دیابت نوع دو را در جمعیت شمال غرب ایران مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌کار

در این مطالعه مورد شاهدی ۱۰۲ فرد بیمار دیابتی و ۱۰۲ فرد سالم بهشیوه نمونه‌گیری چند مرحله‌ای، بررسی گردید که بهدلیل از دستدادن اطلاعات دو نفر از افراد گروه کنترل، تجزیه و تحلیل براساس نتایج ۱۰۰ فرد سالم انجام گرفت. معیارهای ورود افراد به مطالعه برای گروه مورد شامل کسانی است که در محدوده سنی ۴۰ تا ۷۰ سال هستند و دارای دیابت شیرین نوع دو برحسب تشخیص توسط پزشک متخصص غدد با توجه به معیارهای ADA (معیارهای انجمن دیابت آمریکا) بدون توجه به وضعیت کنترل سطح قندخون، داروی مصرفی و وجود عوارض می‌باشند. معیارهای خروج افراد از گروه فوق‌الذکر عبارتند از: سن کمتر از ۴۰ سال و بیشتر از ۷۰ سال، انواع دیگر دیابت (دیابت تیپ یک و انواع اختصاصی آن) برحسب معیارهای بالینی، وابستگی به گروه‌های قومیتی غیرآذری برحسب اظهارات خود فرد، وجود هرگونه سابقه رادیاسیون- شیمی درمانی (کارکنان تأسیسات رادیوتراپی، رادیولوژی و طب هسته‌ای) و

دیابت یک بیماری هتروژن و متابولیک است که با افزایش سطح قندخون بروز می‌کند و در صورت عدم درمان منجر به کوری، بیماری کلیوی و قلبی، سکته مغزی، قطع پا و کاهش امید به زندگی در بیماران می‌شود (۱). بیماری دیابت شایع‌ترین بیماری در جهان می‌باشد (۲) که در اثر کمبود و یا نبود انسولین و یا اختلال عملکردی انسولین به وجود می‌آید (۳) و شیوع آن در حال افزایش است (۴-۶).

بیماری دیابت هزینه سنگینی را بر جوامع بشری تحمیل می‌کند (۶ و ۷). در سال ۱۹۹۰، ۷/۹۷ میلیون سال عمر از دست رفته به علت مرگ و ناتوانی به دلیل دیابت بوده است (۸). چنانچه اقدامات پیشگیری‌کننده در این مورد مدنظر قرار نگیرد، میزان شیوع جهانی بیماری در کمتر از ۳۰ سال آینده بهبیش از ۳۶۶ میلیون نفر خواهد رسید (۹). دیابت شیرین نوع دو، یکی از انواع بیماری دیابت بوده و از شایع‌ترین بیماری‌ها در جمعیت‌های انسانی است (۵-۱۱). در بروز دیابت شیرین نوع دو عوامل زنیتیکی دخیل هستند (۱۱ و ۱۲)، و مطالعات اخیر نشان داده‌اند که گوناگونی در زن ۱۰ Calpein-10، منجر به دیابت نوع ۲ می‌شود (۱، ۱۳ و ۱۵). زن ۱۰ CAPN 10 Caplein-10 یا به عبارتی 2q37.3، نخستین زن کاندید برای دیابت نوع ۲ می‌باشد که به‌واسطه غربال‌گری وسیع ژنوم، شناسایی شد (۱۵). زن ۱۰ Caplein-10 یکی از زن‌های مستعد کننده ابتلاء به دیابت نوع ۲ با سن شروع در میانسالی است (۱). زن ۱۰ Caplein-10 یکی از اعضای خانواده پروتئازهای درون سلولی است. این آنزیم‌ها برای عملکردهای متعدد سلولی ضروری می‌باشند به‌طوری که مستقیماً فعالیت و ساختار سایر

از زوج پرایمرهای اختصاصی، PCR انجام شد. توالی پرایمرهای اختصاصی برای تکثیر پلی مورفیسم ایتررون ۳ ژن calpain10 عبارتند از:

پرایمر ۵'- forward
CACGCTTGCTGTGAAGTAATGC-3'
پرایمر ۵'- Reverse
CTCTGATTCCCATGGTCTGTAG-3'

تنظیم دستگاه ترموسایکلر برای تکثیر توالی پلی مورفیک ایتررون ۳ ژن calpain10 به ترتیب زیر انجام گرفت:

مرحله اول: دناتوراسیون ابتدایی با دمای ۹۴ به مدت ۴ دقیقه.

مرحله دوم: شامل ۳۵ سیکل است و هر سیکل از سه بخش زیر تشکیل می شود:

الف- denaturation با دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه.

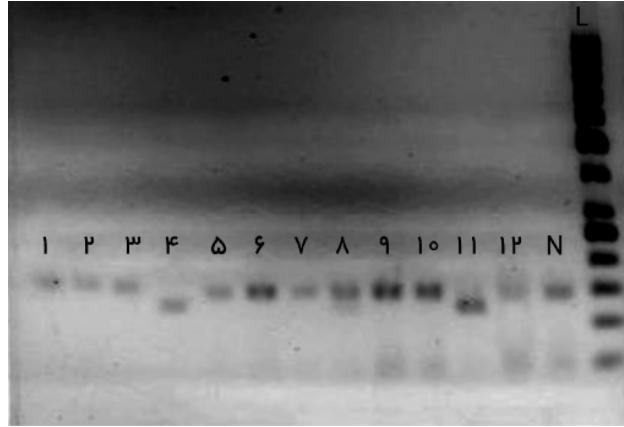
ب- annealing با دمای ۵۹ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه.

ج- extention با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه.

مرحله سوم: extention نهایی با دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه.

سپس محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۲ درصد برده شد و برای رنگ آمیزی از آئیدیوم بروماید استفاده شد، تا از تکثیر قطعه مورد نظر اطمینان حاصل گردد. محصول PCR ۱۴۴-bp در دمای ۳۷ درجه به مدت ۱۵ تا ۱۸ ساعت تحت تأثیر آنزیم Nsi-I قرار گرفته و محصول حاصل از این مرحله بر روی ژل آگاروز ۲ درصد بردشده است. افراد هموزیگوت با ژنتوتیپ GG پس از RFLP به صورت محصول PCR ۱۴۴-bp باقی میمانندند. اما از هموزیگوت های AA دو قطعه ۱۲۱bp و ۲۲bp حاصل می شود. این محصولات پس

یا وجود سرطان شناخته شده، وجود هرگونه اختلال ژنتیکی شناخته شده در فرد، بیماران دارای سندرم کوشینگ - آکرومگالی و بیماری های پانکرانس. در گروه شاهد معیارهای ورود به مطالعه شامل افراد بالای ۴۰ و زیر ۷۰ سال، عدم وجود سابقه هرگونه دیابت در خود فرد و یا بستگان درجه اول او، داشتن قندخون ناشتا و تست تحمل گلوکز طبیعی. در همین گروه معیارهای خروج از مطالعه عبارتند از: سن کمتر از ۴۰ سال و بیشتر از ۷۰ سال، وابستگی به گروه های قومیتی غیر آذربایجانی بر حسب اظهارات خود فرد، وجود هرگونه سابقه رادیاسیون - شیمی درمانی (کارکنان تأسیسات رادیوتراپی، رادیولوژی و طب هسته ای) و یا وجود سرطان شناخته شده، وجود هرگونه اختلال ژنتیکی شناخته شده در فرد. همچنین زنان باردار از مطالعه خارج شده اند. افراد گروه کنترل از نظر سن و جنس با گروه دیابتی همانند انتخاب شدند. بیماران از بین مراجعه کنندگان معرفی شده از سوی متخصصان داخلی استان و افراد سالم، از بین افراد سالم مراجعه کننده به آزمایشگاه استان آذربایجان شرقی انتخاب شدند. از افراد هر دو گروه برای انجام نمونه گیری رضایت نامه دریافت شد. برای استخراج DNA از نمونه خون محیطی استفاده شد و DNA به روش نمک اشباع استخراج گردید و برای تعیین غلظت DNA استخراج شده از اسپکترو فتو متر و تعیین جذب نوری (OD) ۲۶۰/۲۸۰ استفاده گردید که در نمونه های این تحقیق میزان آن ۱/۴ تا ۱/۸۵ بود. برای بررسی پلی مورفیسم ایتررون ۳ ژن calpain10 از روش PCR-RFLP استفاده گردید. بعد از بهینه سازی PCR با استفاده از ۱۰۰-۲۰۰ نانو گرم ۱ DNA، ۲ میکرومولار MgCl₂ واحد تک پلیمراز، ۰.۵ میلی مولار از هر یک از dntp ها و ۰.۵ میلی مولار



شکل ۲) الکتروفورز محصول حاصل از هضم آنزیمی بر روی ژل آگاروز ۲ درصد نمونه‌های شماره ۴ و ۱۱ هموزیگوت‌های A/A و سایر باندها هموزیگوت‌های G/G می‌باشد. نشانگر استاندارد وزن مولکولی DNA است. باند پایین ژل پرایمر دایمر می‌باشد.

فراوانی هموزیگوستی برای آلل A (ژنوتیپ A/A) در بین افراد دیابتی و غیردیابتی به ترتیب برابر با صفر و ۳ نفر، فراوانی هموزیگوستی برای آلل G (ژنوتیپ G/G) در بین بیماران و افراد سالم نیز به ترتیب برابر با ۷ و ۱۱ نفر بود. در این مطالعه مشاهده شد که فراوانی هتروزیگوستی (ژنوتیپ A/G) در بین افراد دیابتی و غیردیابتی به ترتیب برابر با ۹۵ و ۸۶ نفر است. فراوانی آلل A در گروه بیماران ۷ و در گروه کنترل ۱۷ بود. فراوانی آلل G در گروه بیماران ۱۹۷ و در گروه کنترل ۱۸۳ بود. در این مطالعه براساس مطالعات هوریکاوا (۳۹) و گارانت (۳۱) که در دو جمعیت آمریکایی‌های مکزیکی تبار و آمریکایی‌های آفریقایی تبار انجام شد، داشتن آلل G را عامل خطر (Risk factor) محسوب کردند و در این مطالعه مشاهده گردید که بین توزیع آلل‌های A و G در گروه بیماران و کنترل تفاوت معنادار آماری مشاهده شد ($P=0.037$; $OR=2.61$ و $CI=1.06-9.5$ درصد).

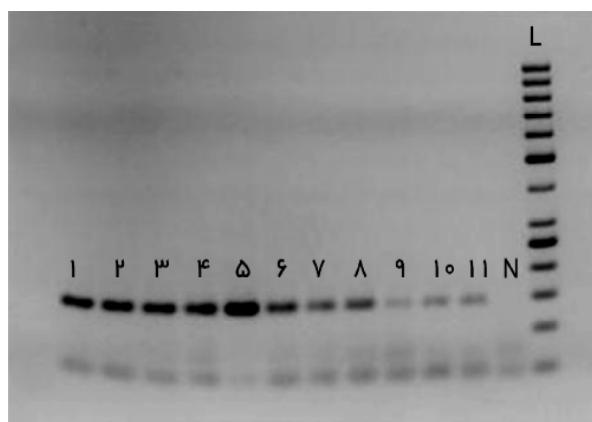
به عبارت دیگر می‌توان گفت بیماری دیابت با آلل G همبستگی دارد. در مطالعه حاضر از بین متغیرهای اندازه‌گیری شده فردی (سن، جنس، شاخص توده

از Run بر روی ژل آگاروز ۲ درصد، به وسیله ترانسلومیناتور UV مشاهده شد.

اطلاعات به دست آمده از طریق نرمافزار SPSS (SPSS Inc, chicago IL) (برایش ۱۳) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای مقایسه توزیع فراوانی سه ژنوتیپ مختلف ایترون ۳ در نمونه‌های مورد و شاهد از آزمون مجذور کای و رگرسیون لجستیک استفاده شد و p-value کوچکتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر، ابتدا ۱۰۲ فرد دیابتی (که نتیجه آزمایش تست تحمل گلوکز آنان مثبت بود) و سپس ۱۰۲ فرد سالم (که نتیجه آزمایش تست تحمل گلوکز آنان منفی بود) از نظر سن و جنس همسان شدند. اطلاعات دو نفر از افراد گروه کنترل در طول مطالعه از دست رفت که نهایتاً تحلیل براساس ۱۰۰ فرد سالم انجام پذیرفت. نتایج به دست آمده در خصوص محصول PCR تکثیر یافته ایترون ۳ ژن calpain10 در ژل آگاروز ۲ درصد در شکل (۱) و محصول حاصل از تجزیه آنزیمی بر روی ژل آگاروز ۲ درصد در شکل (۲) نشان داده شده است.



شکل ۱) الکتروفورز محصول PCR ۱۶۴ بجستباری برای تکثیر SNP-43 ایترون ۳ از ژن calpain10 بر روی ژل آگاروز ۲ درصد. در شماره ۱ تا ۱۱ وجود باند نشان‌دهنده تکثیر SNP-43 ایترون ۳ از ژن calpain10 می‌باشد و N نشان‌دهنده نمونه کنترل منفی و L نشانگر استاندارد وزن مولکولی DNA است. باند پایین ژل پرایمر دایمر است.

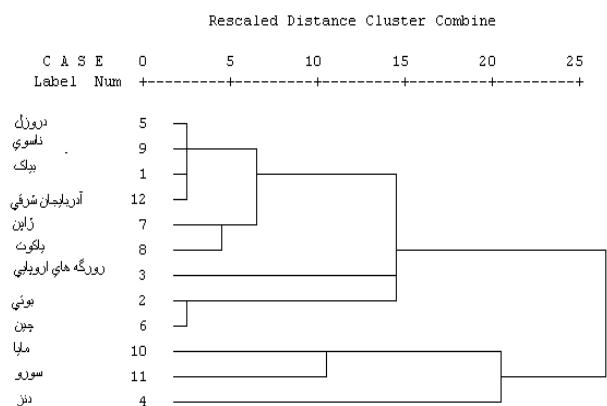
با استفاده از تحلیل خوشه‌ای (Cluster Analysis) مشاهده شد که فراوانی آلل G در آذربایجان شرقی Nasioi، Druzel، Biak، همانند جمعیت‌های Yakut و ژاپن می‌باشد (جدول ۳).

جدول ۳) گروه‌بندی ۱۲ جمعیت مختلف جهان بر حسب فراوانی آلل‌های G و A از SNP43 با استفاده از آنالیز خوشه‌ای

	گروه پنجم	گروه چهارم	گروه سوم	گروه دوم	گروه اول
Danes	Mixed Eur.	Maya	Mbuti	Biak	
-	-	Surui	Chinese	Druzel	
-	-	-	-	Japan	
-	-	-	-	Yakut	
-	-	-	-	Nasioi	
-	-	-	-	آذربایجان شرقی	

دندروگرام تحلیل خوشه‌ای (نمودار ۱)، نحوه خوشه‌بندی ۱۲ جمعیت مورد بررسی از لحاظ فراوانی آللی (آل‌های G و A) را نشان می‌دهد.

Dendrogram using Single Linkage



نمودار ۱) دندروگرام آنالیز خوشه‌ای بر حسب آلل G از SNP43 در ۱۲ جمعیت مختلف جهان

بحث
با وجود مطالعات گسترده روی پلی‌مورفیسم‌های شایع ژن Calpain10، SNP-63، SNP-44 و ایترون ۳ (SNP-43) نقش این پلی‌مورفیسم‌ها هنوز در جمعیت‌های مختلف بحث‌برانگیز است. Calpain10

بدنی، تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، کلسترول LDL و (HDL)، تنها متوسط TG در دو گروه مورد و شاهد تفاوت معنی‌دار آماری داشت ($P < 0.05$).

(۱) مشخصه‌های فردی شرکت‌کنندگان در مطالعه به تفکیک دو گروه مورد و شاهد در آذربایجان شرقی

P.value	شاهد	مورد	متغیرها
-	۱۰۰	۱۰۲	تعداد شرکت
			کنندگان (نفر)
۰/۲۶۸	۵۴/۶۶±۸/۶۴	۵۵/۵۱±۷/۳۵	سن (سال)
>۰/۰۵	۴۹/۵	۵۰/۵	جنس (مرد) درصد
۰/۰۸۹	۷۳/۶	۷۴/۵	تحصیلات (كمتر از دیپلم) درصد
۰/۰۸۱	۳۳/۳	۲۶/۵	درآمد (كمتر از ۲۵۰۰۰۰ ریال)
۰/۲۴	۳۱/۵۵±۶/۹	۲۷/۷±۴/۴	BMI(kg/m ²)
۰/۱۶۷	۱۹۲/۵۷±۴۴/۸۸	۲۲۵/۱۲±۴۷/۰۴	کلسترول تام (mmol/l)
۰/۰۹	۱۳۶/۲۵±۱/۷۳	۱۶۸/۵۴±۱۹/۶	LDL(mmol/l)
۰/۱۵۱	۵۳/۴۰±۱۳/۸۶	۴۶/۶۳±۷/۳۳	HDL(mmol/l)
۰/۰۱	۱۴۹/۹۴±۵۱/۲۶	۲۲۸/۰۴±۶۱/۷۸	TG(mmol/l)

*اعداد به صورت انحراف معیار ± میانگین بیان شده‌اند.

جمعیت آذربایجان شرقی از نظر توزیع فراوانی آلل G و A با سایر جمعیت‌ها مقایسه شده که نتایج آن در جدول (۲) نشان داده شده است.

جدول ۲) توزیع آلل‌های SNP43 از ژن Calpain10 در ۱۲ جمعیت‌های مختلف از پنج قاره‌زمین

منطقه	جمعیت	آلل‌های	A	G
آفریقا	Biak(n=138)		۰/۰۹	۰/۹۱
	Mbuti(n=70)		۰/۰۳	۰/۹۷
آفریقا	Mixed Europeans(n=180)		۰/۲۰	۰/۸۰
آسیا	Danes(n=98)		۰/۳۷	۰/۶۳
آسیا	Druzel(n=126)		۰/۱۰	۰/۹۰
آسیا	Chines(n=110)		۰/۰۳	۰/۹۷
آسیا	Japan(n=72)		۰/۱۳	۰/۸۷
آسیا	Yakut(n=98)		۰/۱۵	۰/۸۵
آسیا	Nasioi(n=44)		۰/۱۰	۰/۹۰
آسیا	Maya(n=94)		۰/۳۱	۰/۶۹
آسیا	Surui(n=92)		۰/۲۷	۰/۷۳
آسیا	آذربایجان شرقی(n=202)		۰/۰۸	۰/۹۲

همبستگی نداشتند. اگر در مطالعه حاضر افراد مورد و شاهد را بتوان مجموعاً به عنوان یک نمونه از جمعیت مورد بررسی در نظر بگیریم، آنگاه مشاهده می‌شود که فراوانی آلل G در جمعیت مورد بررسی از متوسط ۵ قاره کره زمین بالاتر است ($P<0.05$ ، جدول شماره ۲). با توجه به فراوانی آلل G و A در جمعیت‌های مختلف (جدول شماره ۲) و با استفاده از آنالیز خوشه‌ای (Cluster Analysis) مشاهده می‌شود که فراوانی آلل G در آذربایجان شرقی همانند جمعیت‌های Druzel، Biak، Nasioi و Yakut و زیپن است (جدول ۳). در مطالعه حاضر امکان بررسی چند SNP از زن calpain10 و به تبع آن بررسی هاپلوتایپ‌ها وجود نداشت که توصیه می‌شود در مطالعات آینده به آن توجه شود. در این مطالعه تنها امکان انجام پژوهش بر روی جمعیت آذربایجان شرقی فراهم بود و توصیه می‌شود طی مطالعه‌ای در آینده فراوانی آلل G در سطح کشور ایران و در جمعیت‌های مختلف بررسی و ارتباط آن با دیابت نوع ۲ مورد ارزیابی قرار گیرد.

با توجه به یافته‌های این تحقیق فراوانی آلل G در افراد گروه بیمار (۱۹۷ نفر) بیشتر از گروه کنترل (۱۸۳) بود ($P=0.031$). با توجه به نتایج این تحقیق، آلل G از پلی‌مورفیسم SNP43 در جمعیت آذربایجان شرقی به عنوان یک فاکتور مستعدکننده به دیابت نوع ۲ لحاظ می‌شود.

تشکر و قدردانی

از کلیه کارشناسان مرکز تحقیقات پشمینه دانشگاه علوم پزشکی تبریز، آزمایشگاه مرکزی استان آذربایجان شرقی

اولین زن مستعد دیابت نوع ۲ بود که از طریق لینکاژ در جمعیت هیسپانیک (Hispanic) ایالت تکزاس شناسایی شد (۲۲). مطالعه حاضر نشان داد که در جمعیت آذربایجان شرقی وجود آلل G، خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ را در مقایسه با آلل A، به‌طور معنی‌داری افزایش می‌دهد ($P<0.05$). این نتیجه همانند نتایج حاصل از مطالعات هوریکاوا بود (۱، ۱۸ و ۲۱). ولی این نتایج با مطالعاتی که بر روی جمعیت انگلستان (۱۴)، جمعیت قفقازی (۲۰) و جمعیت قفقازی جنوب شرقی هلند (۲۴) انجام شد، در تضاد بود. یک علت محتمل در ایجاد چنین تفاوت‌هایی ممکن است به خاطر نوع مطالعات انجام شده و وابسته بودن پلی‌مورفیسم به‌تزايد و موقعیت جغرافیایی باشد. در گذشته برخی از مطالعات به صورت مورد-شاهدی و برخی دیگر به صورت مقطعی انجام شده است. یکی از نقاط قوت این مطالعه، مورد-شاهدی (Case-Control) بودن آن است که نسبت به مطالعات مقطعی (Cross-sectional)، وجود یا عدم وجود همبستگی را قوی‌تر نشان می‌دهد. همچنین در مطالعه حاضر اگرچه افراد با ژنوتیپ G/G، ۲/۲۱ برابر افرادی که حداقل یک آلل A (A/A or A/G) داشتند در معرض خطر دیابت نوع ۲ قرار داشتند، ولی این میزان از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. چنین نتیجه‌ای در مطالعه مالکی (۲۴) نیز دیده شد.

نتایج به دست آمده در خصوص وجود همبستگی بین ژنوتیپ‌های SNP43 از زن Calpain10 با صفات فردی اندازه‌گیری شده مانند سن، جنس، کلسسترول و غیره. در مطالعه حاضر همانند مطالعه گارانت (۲۱) به جز تری‌گلیسیرید، هیچ‌کدام از آنها با ژنوتیپ‌های SNP43

علوم پزشکی بوشهر نهایت قدردانی را داریم.

و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمیسری دانشگاه

References:

- 1.Horikawa Y, Oda N, Cox NJ, et al. Genetic variation in the gene encoding calpain-10 is associated with type 2 diabetes mellitus. *Nat Genet* 2000; 26: 163-75.
- 2.Esteghamati A, Gouya MM, Abbasi M, et al, Prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in the adult population of Iran: National Survey of Risk Factors for Non-Communicable Diseases of Iran. *Diabetes Care* 2008; 31: 96-8.
- 3.DeFronzo RA. Pathogenesis of type 2 diabetes: metabolic and molecular implications for identifying diabetes genes. *Diabetes Rev* 1997; 5: 178-269.
- 4.Delavari AR, Mehdi-Hazaveh A, Norouzinejad A, et al. Prevention and control programming of diabetes disease, in Nurse and Diabetes. Tehran Ministry of Health 2005; 2: 11-2.
- 5.King H, Aubert R, Herman WH. Global burden of diabetes, 1995–2025: prevalence, numerical estimates, and projections. *Diabetes Care* 1998; 21: 1414-31.
- 6.Songer TJ, Ettaro L. Studies on the cost of Diabetes. Centers for Disease Control and Prevention. (Accessed in Dec 22, 2011 at <http://www.cdc.gov/diabetes/pubs/costs/index.htm>).
- 7.Amini M, Khadivi R, Haghghi S. Costs of type 2 Diabetes in Isfahan-Iran in 1998. *IJEM* 2002; 4: 97-104.
- 8.Jonson B. The economic impact of diabetes. *Diabetes Care* 1998; 5: 712-8.
- 9.Meetoo D, McGovern P, Safadi R. An epidemiological overview of diabetes across the world. *Br J Nurs* 2007; 16: 1002-7.
- 10.Foliaki S, Pearce N. Prevalence and causes of diabetes in Pacific people. *Pac Health Dialog* 2003; 10: 90-8.
- 11.Rich SS, Bergman RN. The genetic basis of glucose homeostasis. *Curr Diabetes Rev* 2005; 1: 221-6.
- 12.Lindgren CM, McCarthy MI. Mechanisms of Disease: genetic insights into the etiology of type 2 diabetes and obesity. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2008; 4: 156-63.
- 13.AlSaraj F, O'Gorman D, McAteer S, et al. Haplotype association of calpain 10 gene variants with type 2 diabetes mellitus in an Irish sample. *Ir J Med Sci* 2010; 179: 269-72.
- 14.Evans JC, Frayling TM, Cassell PG, et al. Studies of Association between the Gene for Calpain-10 and Type 2 Diabetes Mellitus in the United Kingdom. *Am J Hum Genet* 2001; 69: 544-52.
- 15.chen SF, Lu XF, Yan WL, et al. Variations in the calpain-10 gene are associated with the risk of type 2 diabetes and hypertension in northern Han Chinese population. *Chin Med J* 2007; 120: 2218-23.
- 16.Song Y, Niu T, manson JE, et al. Are Variants in the CAPN10 Gene Related to Risk of Type 2 Diabetes? A Quantitative Assessment of Population and Family-Based Association Studies. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 208-22.
- 17.Sorimachi H, Ishiura S, Suzuki K. Structure and physiological function of calpains. *Biochemi J* 1997; 328: 721-32.
- 18.Cassell PG, Jackson AE, North BV, et al. Haplotype combinations of calpain-10 gene polymorphisms associate with increased risk of impaired glucose tolerance and type 2 diabetes in South Indians. *Diabetes* 2002; 51: 1622-8.
- 19.Cox NJ, Hayes MG, Roe CA, et al. Linkage of Calpain-10 to Type 2 Diabetes: The Biological Rationale. *Diabetes* 2004; 53: S19-S25.
- 20.Elbein SC, Chu W, Ren Q, et al. Role of calpain-10 gene variants in familial type 2 diabetes in Caucasians. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 650-4.
- 21.Garant MJ, Kao WH, Brancati F, et al. SNP43 of CAPN10 and the risk of type 2 diabetes in African-Americans: the atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes* 2002; 51: 231-7.
- 22.Hanis CL, Boerwinkle E, Chakraborty R, et al. A genome-wide search for human non-insulin-dependent (type 2) diabetes genes reveals a major susceptibility locus on chromosome 2. *Nat Genet* 1996; 13: 161-6.
- 23.Lynn S, Evans JC, White C, et al. Variation in the calpain-10 gene affects blood glucose levels in the British population. *Diabetes* 2002; 51: 247-50.
- 24.Malecki MT, Moczuski D, Klupa T, et al. Homozygous combination of calpain-10 gene haplotypes is associated with type 2 diabetes mellitus in a polish population. *European J Endocrinology* 2002; 146: 695-9.
- 25.Orho-Melander M, Klannemark M, Svensson MK, et al. Variants in the calpain-10 gene predispose to insulin resistance and elevated free fatty acid levels. *Diabetes* 2002; 51: 2658-64.
- 26.Stumvoll M, Fritsche A, Madaus A, et al. Functional significance of the UCSNP-43 polymorphism in the CAPN10 gene for proinsulin processing and insulin secretion in nondiabetic Germans. *Diabetes Care* 2001; 50: 2161-3.

Original Article***A study on association of SNP-43 polymorphism in Calpain-10 gene with type 2 diabetes mellitus in the population of Eastern Azerbaijan province***

F. bahreini¹, SM. Mohaddes Ardebili^{2*}, S. Farajnia³, J. Ghareh Sooran², I. Nabipour⁴, AR. Soltanian⁵, AL. Askarzadeh⁶

¹ Department of Human Genetics, Ebn-e-Sina Institute, Tabriz, IRAN

² Department of Biochemistry and clinical Laboratory, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, IRAN

³ Department of cellular and Molecular, Pashmineh Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, IRAN

⁴ The Persian Gulf Marine Biotechnology Research, The Persian Gulf Biomedical Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN

⁵ Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Health, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, IRAN

⁶ Department of Internal Diseases, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, IRAN

(Received 23 Aug, 2010 Accepted 28 Sep, 2010)

Abstract

Background: Genome – wide analysis of genetic predisposition to type 2 diabetes mellitus in different populations have yielded variable results. Calpain10, a gene that encodes a non-lysosomal cysteine protease, has been recently proposed as a type 2 diabetes susceptibility genes in the non-insulin-dependent diabetes mellitus NIDDM1 region. Aim of the study is to evaluate the relation between SNP43 and type2 diabetes.

Methods: A total of 102 diabetic subjects and 100 undiabetic controls enrolled in a case-control study in Eastern Azerbaijan Azerbaijan Province. The polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism technique (PCR-RFLP) was applied. We use χ^2 test and logistic regression to analysis of data.

Results: Genotypes distribution of calpain10 gene in control group were 11(11%), 86(86%) and 3(3%) with respected to A/G, G/G and A/A genotypes, respectively. In diabetic group genotypes distribution were 7(6.9%), 95(93.1%) and zero, respectively. The G allele frequency was significant difference in case and control groups.

Conclusion: Since G allele is a risk factor to affect type 2 diabetes disease; hence SNP43 of calpain10 gene had significant association with type 2 diabetes in Eastern Azerbaijan.

Keywords: calpain10, SNP43, type 2 diabetes, PCR-RFLP, eastern Azerbaijan

*Address for correspondence: Department of veterinary medicine, Young Researches Club, Islamic Azad university, Shahrekord Branch, Sharekord, IRAN; E-mail: momohaddes@yahoo.com