Jundishapur
Journal of Medical Sciences

November & December 2024. Vol 22. No 5

Research Paper

Relationship of rs6499640 and rs17817449 Polymorphisms in the FTO Gene with Type 2 Diabetes

Shokoh Vahidnia[1], *Elham Siasi[2], Amir Mashaekhi[3]

1. MSc Degree, Department of Genetics, School of Science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
2. Association Professor, Department of Genetics, School of Science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
3. Assistance Professor, Department of Genetic and Molecular Biology, Dezful University of Medical Sciences, North Tehran Branch, Tehran, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Vahidna Sh, Siasi E, Mashaekhi A. [Relationship of rs6499640 and rs17817449 Polymorphisms in the FTO Gene with Type 2 Diabetes (Persian)]. Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2024; 22(5):594-606. 10.22118/jsmj.2023.408821.3190

https://doi.org/10.22118/jsmj.2023.408821.3190

ABSTRACT

Background and Objectives Diabetes is a growing global health problem caused by the interaction of genetic and environmental factors. One of the most important genes related to type 2 diabetes (T2D) is the FTO gene. The present study aimed to assess the relationship of rs6499640 and rs17817449 polymorphisms in the FTO gene with T2D in Dezful, Khzestan, Iran.

Subjects and Methods This research was conducted on 100 healthy people and 100 cases with T2D. DNA extraction was performed after blood sampling. The quantity and quality of extracted DNA were assessed using nanodrop and electrophoresis methods, respectively. Amplification-refractory mutation system and tetra-primer amplification refractory mutation system-polymerase chain reaction (PCR) techniques were used to determine the genotype of samples. Thereafter, we used sequencing to confirm the genotyping results by PCR, and data were analyzed statistically.

Results There was no significant relationship in the distribution of genotypes between rs6499640 and rs17817449 polymorphisms of the FTO gene and the increased risk of diabetes in Dezful (P=0.728 and P=0.085, respectively). Nonetheless, in the case of rs17817449 polymorphism, a significant relationship was found between the frequency of GG genotype and the risk of T2D.

Conclusion As evidenced by the obtained results, the studied polymorphisms were not correlated with the occurrence of T2D in Dezful. It is recommended that large-scale studies be conducted to confirm these results.

Keywords Diabetes, Gene, PCR, Polymorphism

Received: 26 Jul 2023
Accepted: 27 Dec 2023
Available Online: 19 Feb 2024

Corresponding Author:
Elham Siasi
Address: Babaei Highway, Hakimeih, Shahid Sadoughi Street, Department of Microbiology, School of Science, Islamic Azad University, North Tehran Branch, Tehran, Iran.
Tel: 09124056746
E-Mail: emi_biotech2006@yahoo.ca

Jundishapur
Journal of Medical Sciences

Extended Abstract

Introduction

Diabetes is a growing global health problem that affects more than 300 million people worldwide, and this number is expected to rise in the future. Type 2 diabetes (T2D) is the most common type of diabetes since it accounts for more than 90% of diabetes cases. The global T2D prevalence is expected to be 629 million by 2045. Notably, more than 60% of patients with diabetes live in Asian countries, and this number is projected to rise in the coming years. A thorough understanding of the pathogenesis and risk factors of this disease, such as genetic factors, plays a major role in the treatment and management of T2D. The heritability of T2D was estimated to range from 20%-80%. First-degree relatives of T2D patients are approximately three times more likely to develop T2D than people without a familial risk. One of the reasons for the high prevalence of T2D in Asian populations is their high genetic susceptibility, which enhances interactions with environmental triggers. To date, more than 250 genetic loci have been reported to be associated with T2D by genome-wide association studies. The human fat mass and obesity-associated (*FTO*) gene located on chromosome 16 encodes an alpha-ketoglutarate-dependent dioxygenase. Initially, the *FTO* gene polymorphisms were well-known as an obesity susceptibility factor. Several studies on various FTO gene variants have been conducted in different Asian populations with inconsistent results on their associations with T2D. Some meta-analysis of recently published studies revealed that two variants (rs6499640 and rs17817449) in the *FTO* gene were associated with increased risk of obesity and T2D in different populations. In light of the aforementioned issues, the present study aimed to assess the relationship of rs6499640 and rs17817449 polymorphisms in the *FTO* gene with T2D in Dezful, Khuzestan, Iran.

Methods

The present study was carried out in Dezful from autumn to winter 2022. The samples consisted of 100 healthy people and 100 cases with T2D. Written informed consent was obtained from all participants. The controls were recruited from healthy volunteers referred to the hospital for medical examination. The sample size of case and control groups was calculated using the standardized Cochrane formula. Genomic DNA was extracted from 200 µl EDTA-anticoagulated peripheral blood leukocytes, following the instructions published by the manufacturer. The quality and quantity of the extracted DNA were assessed at the 260 nm/280 nm wavelength by a Nanodrop machine and agarose gel electrophoresis method, respectively. Amplification-refractory mutation system (ARMS) and tetra-primer amplification refractory mutation system-polymerase chain (ARMS-PCR) were used to determine rs6499640 and rs17817449 polymorphism in the *FTO* gene, respectively. The PCR products were separated by gel electrophoresis visualized by electrophoresis. Since amplicons varied in length, we spotted the alleles on a 1.5% agarose gel and compared them with a molecular marker, followed by staining with 0.1% ethidium bromide. To ensure the accuracy of the genotyping method, we opted for some random samples and confirmed the assigned genotypes by subjecting the genomic regions with the polymorphisms to Sanger sequencing. Samples were also sequenced by the Pishgam Company in Iran. The distribution of genotype at each polymorphism locus with Hardy-Weinberg equilibrium was evaluated using the Chi-square test. Data analysis was administered using SPSS software (version 26.0). The p-values were two-sided, and $P < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The control and case groups were aged 30-50 years. The mean age scores were 38.96±5.49 and 46±5.35 years in the control and case groups, respectively. We studied 200 samples using ARMS-PCR and Tetra ARMS PCR assay. Thereafter, we typed the randomized samples parallel with direct sequencing to assess the accuracy of the assay. All the PCR products were well-sized by the gel electrophoresis method, allowing the easy identification of different genotypes. The genotypes scored from the PCR assay had a 100% match to direct sequencing. Allele frequencies for rs6499640 polymorphism in the *FTO* gene were 36% AA, 54% GA, and 10% GG in the case group, as well as 31% AA, 57% GA and 12% GG in controls. Moreover, for rs17817449 polymorphism in the *FTO* gene, allele frequencies were 24% GG, 41% TG, and 35% TT in the case groups, as well as 12% GG, 46% TG, and 42% in the control group. Within the study groups (cases and controls), the genotype distributions for two polymorphisms were in line with those produced by the Hardy-Weinberg equilibrium ($P>0.05$). There was no significant relationship in the distribution of genotypes between rs6499640 and rs17817449 polymorphisms of the *FTO* gene, as well as the increased risk of diabetes in Dezful ($P=0.728$ and $P=0.085$, respectively). Nonetheless, in the case of rs17817449 polymorphism, a significant relationship was found between the frequency of GG genotype and the risk of T2D.

Conclusion

According to the 9th International Diabetes Federation Atlas, one in eleven adults (20-79 years old) have diabetes, and one in two adults with diabetes are undiagnosed. The silent progression of T2D leads to severe complications, affecting both health and quality of life. Therefore, numerous researchers have turned their focus on finding novel biomarkers, including genetic biomarkers, which play critical roles in pathogenesis for early detection and personalized management of T2D. The association of *FTO* gene polymorphisms with body mass index (BMI) and T2D risk was known for the first time in 2007. Meanwhile, even a moderately increased BMI was reported to be associated with a higher risk of T2D and its complications. The recent

meta-analysis studies identified associations between polymorphisms of the *FTO* gene and T2D in both Asian populations and populations from various regions. This study investigated the relationship of rs6499640 and rs17817449 polymorphisms in the *FTO* gene with T2D type 2 diabetes in Dezful. Nonetheless, no significant association was found between these polymorphisms and T2D. Therefore, these studied polymorphisms could not be recognized as biomarkers for T2D in Dezful. The current study suffered from some limitations, including the use of unadjusted estimates, which indicated the need for more accurate estimations to adjust such factors as lifestyle and drinking status. In addition, sufficient information was not available for statistical analysis, which might have negatively affected the results. Furthermore, the inability to gather primary data from the investigated articles posed barriers to further analysis of probable interactions since gene-gene and gene-environment interactions, as well as various polymorphic loci of a similar gene, may influence the risk of developing diabetes. In addition, since the sample size was small, our analysis lacked enough power to detect a correct association between these two polymorphisms and the increased risk of diabetes in Dezful.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The study was approved by Ethics Committee of Dezful Medical Science University and written informed consents were obtained from all patients receiving treatment and participating in the study (No. IR.DUMS.REC.1399.054). Also, all methods in this study that were involved human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and with the 1964 Helsinki declaration, as also improvement or like to ethical standards.

Funding

Source of support was Nil.

Authors contributions

Conceived and designed the experiments with: Siasi Elham. Performed the clinical and experiment studies by: Shokoh Vahidnia. Analyzed the data and preparation and editing the manuscript with: Siasi Elham. Read and edited the paper: Amir Mashaekhi. All authors read and approved the final manuscript.

Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

Acknowledgements

There was not source of support for this research. The authors would like to thank the patients who contributed with samples for this study and Dezful Medical Science University Laboratory for assisting to experiments data.

مقاله پژوهشی

بـــررسی ارتباط بین پـــلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 در ژن FTO با بیماری دیابت نوع ۲

شکوه وحیدنیا[۱]، *الهام سیاسی[۲]، امیر مشایخی[۳]

۱. کارشناسی ارشد، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران.
۲. دانشیار، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران.
۳. استادیار، گروه ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی دزفول، دزفول، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Vahidna Sh, Siasi E, Mashaekhi A. [Relationship of rs6499640 and rs17817449 Polymorphisms in the FTO Gene with Type 2 Diabetes (Persian)]. Jundishapur Journal of Medical Sciences. 2024; 22(5):594-606. 10.22118/jsmj.2023.408821.3190

https://doi.org/10.22118/jsmj.2023.408821.3190

CC BY NC

چکیده

زمینه و هدف دیابت یکی از مشکلات در حال رشد برای سلامت جوامع سراسر دنیا است و ناشی از تعامل عوامل ژنتیکی و محیطی است. یکی از ژن‌های مهم مرتبط به دیابت نوع ۲ ژن FTO است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 در ژن FTO با بیماری دیابت نوع ۲ در جمعیت شهرستان دزفول بود.

روش بررسی در این مطالعه‌ی پژوهشی، نمونه‌ها شامل ۱۰۰ فرد نرمال و ۱۰۰ فرد با بیماری دیابت نوع ۲ بودند. پس از خون‌گیری، استخراج DNA انجام شد. کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده با استفاده از نانودراپ و الکتروفورز سنجیده شد. برای تعیین ژنوتیپ افراد از تکنیک‌های ARMS-PCR و Tetra-ARMS-PCR استفاده شد. سپس، با sequencing نتایج ژنوتایپینگ با PCR تأیید شد و داده‌ها آنالیز آماری شدند.

یافته‌ها ارتباط معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌ها بین افراد بیمار و سالم بین پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 ژن FTO و افزایش خطر ابتلا به دیابت در جمعیت افراد شهر دزفول مشاهده نشد (به‌ترتیب P برابر با ۰/۷۲۸ و ۰/۰۸۵). ولی در مورد پلی‌مورفیسم rs17817449، بین فراوانی ژنوتیپ GG و ریسک ابتلا به بیماری دیابت نوع دو ارتباط معنی‌دار مشخص شد.

نتیجه گیری بر اساس نتایج این پژوهش، ارتباطی بین حضور پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه و ابتلا به دیابت نوع ۲، در جمعیت بیماران دزفول گزارش نشد. برای تأیید این نتایج، مطالعات گسترده‌تری در جمعیت‌های بزرگ‌تر و نمونه‌های بیشتر توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها دیابت، ژن، پلی‌مورفیسم، PCR

تاریخ دریافت:۰۴ مرداد ۱۴۰۲
تاریخ پذیرش: ۰۶ دی ۱۴۰۲
تاریخ انتشار: ۳۰ دی ۱۴۰۲

نویسنده مسئول:
الهام سیاسی
نشانی: اتوبان بابایی، حکیمیه، خیابان شهید صدوقی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده‌ی علوم زیستی، گروه میکروبیولوژی.
تلفن: ۰۹۱۲۴۰۵۶۷۴۶
رایانامه: emi_biotech2006@yahoo.ca

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

مقدمه

دیابت یکی از مشکلات در حال افزایش برای سلامت انسان‌های جوامع دنیا است و یکی از ۱۰ علت اصلی مرگ‌ومیر در سراسر جهان است. بیش از ۳۰۰میلیون نفر در سراسر دنیا به دیابت مبتلا هستند و آمار ابتلا رو به رشد گزارش شده است [۱ ، ۲]. دیابت ملیتوس نوع ۲ یکی از انواع معمول دیابت است که در بیش از ۹۰ درصد موارد، دیابت از این نوع تشخیص داده می‌شود. گرچه مکانیسم‌های بیماری‌زایی دیابت نوع ۲ هنوز به‌طور دقیق شناخته نشده است، تعامل عوامل ژنتیکی و فاکتورهای محیطی سبب ایجاد این بیماری چندعاملی می‌شود [۲-۵].

ژن مرتبط با چاقی و توده‌ی چربی (*Fat mass and obesity associated* , *FTO*) آنزیمی کد می‌کند که با افزایش تجمع بافت چربی و بروز بیماری دیابت در ارتباط است. این ژن بر بازوی بلند کروموزوم ۱۶ ناحیه‌ی ۱۲/۲ قرارگرفته است [۶ و ۷]. در بسیاری از مطالعات گذشته که بر اساس آنالیز تعیین توالی ژنوم (GWAS) و روش‌های متاآنالیز صورت گرفته است، ژن مرتبط با توده‌ی چربی و چاقی (*FTO*) و حضور پلی‌مورفیسم‌ها در این ژن، یکی از عوامل اصلی ابتلا به دیابت در جمعیت‌های مختلف گزارش شده است [۸-۱۵]. در بسیاری از مطالعات متاآنالیز ارتباط معنی‌داری بین حضور پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO* از جمله دو پلی‌مورفیسم rs6499640 و rs17817449، با افزایش ریسک ابتلا به دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های آسیایی و اروپایی و امریکایی به دست آمده است. چاقی و دیابت نوع ۲ دو اختلال پیچیده با زمینه‌ی ژنتیکی هستند و هر دو اختلال به‌طور مؤثری روی مرگ‌ومیر و ایجاد دیگر بیماری‌ها تأثیر گذارند و از جمله مشکلات اصلی بهداشت عمومی در جهان هستند [۱۶-۲۹]. با توجه به جمعیت حدود دومیلیون‌نفری دیابتی‌ها در ایران و هشدار سازمان جهانی سلامت درباره‌ی افزایش دیابت در کشورهای درحال‌توسعه، پیشگیری اولیه از دیابت در کشور ما از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است [۲۵]. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 در ژن *FTO* که به‌طور مرتبط با ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ در دنیا مطرح هستند، در جمعیتی از بیماران شهرستان دزفول بود.

روش بررسی

نمونه‌ها و نمونه‌گیری

پس از انجام آزمایش‌های تخصصی فیزیولوژیک و پاتولوژیک اندوکرینولوژی (هورمون‌شناسی و مسیرهای سیگنالینگ وابسته به آن) که برای تشخیص بیماری دیابت نوع ۲ به کار می‌روند، با تشخیص پزشک متخصص غدد، تعداد ۱۰۰ فرد بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ به‌عنوان گروه مورد انتخاب شدند. تعداد ۱۰۰ فرد سالم که از نظر عدم ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ بررسی شدند، با فراوانی سنی و جنسی مشابه با گروه مورد مطالعه به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این افراد دارای سنین ۳۵ تا ۵۰ سال بودند و BMI آن‌ها در محدوده‌ی طبیعی بین ۲۵-۱۸/۵ بود (نمونه‌گیری در شهر دزفول و در بازه‌ی زمانی پاییز تا زمستان ۱۴۰۱ انجام گرفت). از هر فرد به مقدار ۵ میلی‌لیتر خون‌گیری شد. خون در لوله‌های آغشته به EDTA جمع‌آوری شد و تا زمان استخراج DNA در دمای ۲۰- نگهداری شد که این عمل طبق رضایت‌نامه‌ی کتبی و بر اساس کد اخلاق به شماره‌ی IR.DUMS.REC.1399.054 از دانشگاه علوم پزشکی دزفول و با رعایت بیانیه‌ی هلسینکی انجام گرفت. حجم نمونه بر اساس فرمول محاسبه‌ی حجم نمونه‌ی کوکران محاسبه شد. در این محاسبه با سطح خطای ۵ درصد، ۱۰۰ نمونه برای گروه بیمار و ۱۰۰ نمونه برای گروه کنترل تخمین زده شد.

$$n=\frac{\frac{z^2pq}{d^2}}{1+\frac{1}{N}\left(\frac{z^2pq}{d^2}-1\right)}$$

استخراج DNA

در این پژوهش، برای استخراج DNA از کیت KBCPrep Blood DNA Extractionتهیه‌شده از شرکت زیست‌فناوری کوثر، ساخت کشور ایران، استفاده **شد** و مطابق پروتکل تعریف‌شده**ی** این کیت، استخراج انجام گرفت.

ارزیابی کمیت و کیفیت DNA استخراج‌شده

با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز و همچنین، بررسی جذب نوری در طول‌موج‌های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر از دستگاه نانودراپ (Nano Drop spectro photometer مدل EPOCH از شرکت سازنده‌ی Bio Teck، امریکا) برای تعیین کمیت و کیفیت DNAهای استخراج‌شده استفاده شد.

مراحل ARMS PCR

برای بررسی پلی‌مورفیسم rs6499640 از تکنیک ARMS PCR استفاده شد. کاربرد تکنیک ARMS PCR استاندارد برای بررسی حضور یک جهش نقطه‌ای منفرد است (این روش از این نظر که به آنزیم محدودالاثر و برش آنزیمی نیاز ندارد، در مقایسه با روش PCR-RFLP مقرون‌به‌صرفه‌تر از نظر زمانی و اقتصادی است و آلل موتان نسبت به آلل وحشی با طراحی جفت پرایمر متفاوت برای آلل موتان و آلل وحشی در انتهای 3'-OH تکثیر داده می‌شود). برای انجام PCR از دستگاه Thermal cycler مدل Veriti Thermofisher (ABI) از کشور سازنده‌ی امریکا استفاده شد. توالی پرایمرها، مواد لازم برای PCR و برنامه‌ی دستگاه PCR به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ و ۳ نشان داده شده است.

جدول۱. جدول جزئیات مربوط به پرایمرهای طراحی‌شده برای rs6499640 توسط تکنیک ARMS PCR و برای rs17817449 توسط تکنیک Tetra-ARMs PCR

نام پلی‌مورفیسم	نام پرایمر	توالی پرایمر	طول پرایمر	Tm (°C)	طول محصول PCR (pb)
rs6499640	پرایمر چپ خارجی	5′ ATC TGC TCT TAA TGT CGA AAC TGT GC3′	۲۶	۶۵	۵۷۷
rs6499640	پرایمر راست خارجی	5′ ATA TTC AAA CCC TCA ACT CTA CCA GCT 3′	۲۷	۶۵	۵۷۷
rs6499640	پرایمر چپ داخلی	5′TGT GTA AGG AAC AGG GTT TCT CTG TAG 3′	۲۷	۶۷	۴۲۴
rs6499640	پرایمر راست داخلی	5′TGT GTA AGG AAC AGG GTT TCT CTG TAA 3′	۲۷	۶۷	۴۲۴
rs17817449	پرایمر چپ خارجی	5′ ACG GTG AAG AGG AGG AGA TTG TGT AAC T3′	۲۸	۶۹	با پرایمر راست داخلی ۱۲۸ با پرایمر راست خارجی ۵۶۸
rs17817449	پرایمر راست خارجی	5′ TGT AGT AGT AGT GAC AGA AGT GGA GAA A 3′	۲۸	۶۶	با پرایمر چپ داخلی ۴۸۹ با پرایمر چپ خارجی ۵۶۸
rs17817449	پرایمر چپ داخلی	5′GTT TCA GCT TGG CAC ACA GAA GCG 3′	۲۴	۶۷	با پرایمر راست خارجی ۴۸۹
rs17817449	پرایمر راست داخلی	5′AGG AGC TGG ACT GTT AAA TTA AAG CA 3′	۲۶	۶۳	با پرایمر چپ خارجی ۱۲۸

جدول۲. جدول مواد مورد نیاز

مواد مورد نیاز برای انجام ARMS PCR	مقدار(میکرولیتر)
آب دو بار تقطیر	۱۲
پرایمر مشترک	۰/۵
پرایمر اختصاصی آلل	۰/۵
DNA	۲
Master Mix(2X)	۱۰
حجم نهایی	۲۵
مواد مورد نیاز برای انجام Tetra-ARMs PCR	مقدار (میکرولیتر)
آب دو بار تقطیر	۴٫۶
پرایمر چپ	۰/۸ (۴)
پرایمر راست	۰/۸ (۴)
DNA	۴
(2X) Master Mix	۱۰
حجم نهایی	۲۵

جدول۳. جدول سیکل‌های مورد نیاز برای انجام PCR برای پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449

نوع فرایند	دما (سانتی‌گراد)	زمان	تعداد سیکل
واسرشته شدن اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱
واسرشته شدن	۹۵	۳۰ ثانیه	۳۵
دمای اتصال	۶۰	۳۰ ثانیه	۳۵
طویل‌سازی	۷۲	۳۰ ثانیه	۳۵
طویل‌سازی نهایی	۷۲	۵ دقیقه	۱
دمای نگهداری	۴	طولانی‌مدت	–

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

مراحل Tetra-ARMS PCR

برای بررسی پلی‌مورفیسم rs17817449 از روش Tetra-ARMS-PCR استفاده شد. به این منظور، ۴ پرایمر چپ خارجی، چپ داخلی، راست خارجی و راست داخلی طراحی شد. از پرایمر چپ داخلی برای تشخیص آلل G و از پرایمر راست داخلی برای تشخیص آلل T استفاده شد. پرایمرهای خارجی به‌عنوان کنترل PCR عمل کردند و اندازه‌ی محصول یکسانی را در هر دو نوع ژنوتیپ تولید کردند. توالی پرایمرها، مواد لازم برای PCR و برنامه‌ی دستگاه PCR به‌ترتیب در جداول ۱ و ۲ و ۳ نشان داده شده است.

الکتروفورز

برای بررسی نتایج ژنوتایپینگ، محصولات PCR بر ژل آگارز یک درصد الکتروفورز شدند و با استفاده از دستگاه ژل داک، عکس‌برداری انجام گرفت.

توالی‌یابی DNA

برای تأیید پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه، ۲۰ درصد از نمونه‌ها (۴۰ نمونه) با روش انتخاب تصادفی از نمونه‌های هموزیگوت غالب، هموزیگوت مغلوب و هتروزیگوت انتخاب شدند و با روش Sequencing و خوانش پرایمر چپ تعیین توالی شدند. به این منظور، نمونه‌ها به شرکت زیست‌فناوری پیشگام ارسال شدند. دستگاه مورد استفاده در این شرکت Applied Biosystems 3500 بود و حجم PCR برابر با ۳۵ میکرولیتر در نظر گرفته شد.

تفسیر نتایج و تجزیه‌وتحلیل آماری

تمام اطلاعات جمع‌آوری‌شده با نرم‌افزار SPSS ورژن ۱۶ آنالیز شد. داده‌های کمی از طریق میانگین و انحراف معیار و داده‌های کیفی توسط درصد گزارش شد. برای تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌های ژنوتایپینگ و مقایسه‌ی داده‌های کیفی نظیر فراوانی ژنوتیپ‌ها در دو گروه بیمار و سالم از آزمون کای‌اسکوئر استفاده شد. همچنین، با تعیین Odds ratio، P-value و 95% confidence interval معنی‌داری فرضیه بررسی شد. ارتباط میانگین داده‌های ژنوتیپ با شاخص‌های بیوشیمیایی خون نیز به کمک t-test بررسی شد.

یافته ها

نتایج نمونه‌ها

نتایج دموگرافیک نمونه‌ها در این تحقیق در جدول ۴ نشان داده شده است.

نتایج بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده توسط دستگاه نانودراپ

با توجه به اینکه جذب ۲۶۰ به ۲۸۰ برای نمونه‌ها در محدوده‌ی ۱/۸ تا ۲ قرار گرفت، DNAهای استخراج‌شده از خلوص قابل قبولی برخوردار بودند.

نتایج استخراج DNA بر ژل الکتروفورز

نتایج استخراج DNA از نمونه‌ها بر ژل الکتروفورز ران شدند. حضور باند شارپ و اختصاصی در تصویر ژل نمایش‌داده‌شده در دستگاه ژل داک، نشان‌دهنده‌ی کیفیت خوب استخراج DNA بود.

نتایج ژنوتایپینگ پلی‌مورفیسم‌ها

فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف برای پلی‌مورفیسم rs6499640 در سه جمعیت افراد بیمار، سالم و جمعیت کل و از لحاظ تعادل هاردی‌واینبرگ محاسبه شده است. طبق نتایج، فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف برای پلی‌مورفیسم rs6499640 در جمعیت افراد بیمار و افراد سالم در تعادل هاردی‌واینبرگ قرار داشت (P بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بود)، اما در جمعیت کل، در تعادل هاردی‌واینبرگ نبود (P برای جمعیت کل برابر با ۰/۰۲۵ بود). در افرد بیمار، فراوانی ژنوتیپ AA برابر با ۳۶ درصد و فراوانی ژنوتیپ GA برابر با ۵۴ درصد و فراوانی ژنوتیپ GG برابر با ۱۰ درصد و در افرد سالم، فراوانی ژنوتیپ AA برابر با ۳۱ درصد و فراونی ژنویپ GA برابر با ۵۷ درصد و فراوانی ژنوتیپ GG برابر با ۱۲ درصد و در جمعیت کل، فراوانی ژنوتیپ AA برابر با ۶۷ درصد و فراوانی ژنوتیپ GA برابر با ۱۱ درصد و فراوانی ژنوتیپ GG برابر با ۲۲ درصد محاسبه شد. نتایج حاصل از بررسی فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم rs17817449 در سه حالت مختلف، یعنی در جمعیت افراد بیمار، افراد سالم و در جمعیت کل، به‌صورت جداگانه و از لحاظ تعادل هاردی‌واینبرگ محاسبه شده است. طبق نتایج،

جدول۴. نتایج ویژگی‌های دموگرافیک

ویژگی مورد مطالعه	افراد بیمار	افراد سالم	p value
سن (سال)	۵/۳۵ ± ۴۶/۴	۵/۴۹ ± ۳۸/۹۶	۰/۰۰۰۱<
جنسیت (مرد)	٪۴۰	٪۴۰	۰/۹۹۹۹>
جنسیت (زن)	٪۶۰	٪۶۰	۰/۹۹۹۹>
BMI	۲۴/۶۱ ±۴۳/۲۴	۲۶/۲۹±۵۰/۱۹	۰/۰۶۰۶
FBS	۵۰/۵۲±۲۸/۱۱	۸/۴۴±۸۵/۴۳	۰/۰۰۰۱<

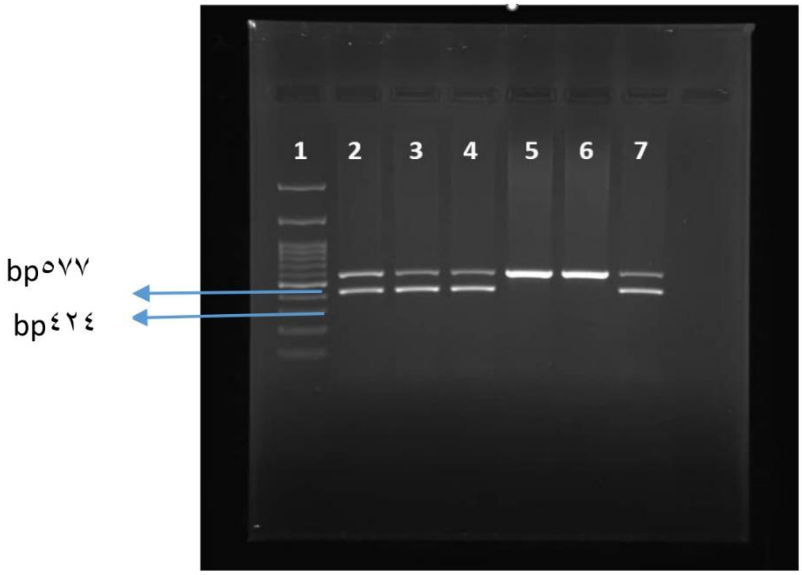
فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف برای پلی‌مورفیسم rs17817449 در جمعیت افراد سالم، بیمار و کل در تعادل هاردی‌واینبرگ قرار داشتند (P بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بود). در افراد بیمار، فروانی ژنویپ GG برابر با ۲۴ درصد و فراوانی ژنوتیپ TG برابر با ۴۱ درصد و فراوانی ژنوتیپ TT برابر با ۳۵ درصد و در فراد سالم، فراوانی ژنوتیپ GG برابر با ۱۲ درصد و فراوانی ژنوتیپ TG برابر با ۴۶ درصد و فراوانی ژنوتیپ TT برابر با ۴۲ درصد و در جمعیت کل، فراوانی ژنوتیپ GG برابر با ۳۶ درصد و فراوانی ژنوتیپ TG برابر با ۸۷ درصد و فراوانی ژنوتیپ TT برابر با ۷۷ درصد به دست آمد. نتایج فراوانی آللی و ژنوتایپینگ نمونه‌ها برای دو پلی‌مورفیسم مورد مطالعه در جدول ۵ نشان داده شده است. همچنین، نمونه‌ای از نتایج ژنوتایپینگ هر دو پلی‌مورفیسم rs6499640 و rs17817449، پس از الکتروفورز روی ژل آگارز و عکس‌برداری با دستگاه ژل داک در شکل‌های ۱ و ۲ آورده شده است.

آنالیز و تجزیه‌وتحلیل آماری

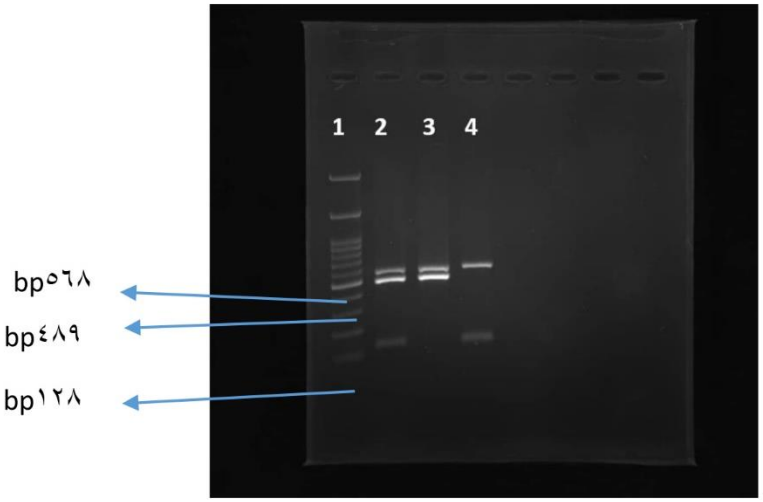
برای بررسی معنادار بودن ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه با بیماری دیابت نوع ۲، داده‌های به‌دست‌آمده با نرم‌افزار SPSS و آزمون Pearson Chi-Square آنالیز شدند. با توجه به اینکه P-value به‌دست‌آمده در این آزمون برای پلی‌مورفیسم rs6499640 بزرگ‌تر از ۰/۰۵ بود (۰/۷۲۸)، هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری بین این پلی‌مورفیسم و ابتلا به دیابت نوع ۲ مشاهده نشد. به همین ترتیب، محاسبات برای پلی‌مورفیسم rs17817449 نیز انجام شد. P-value به‌دست‌آمده برای این پلی‌مورفیسم نیز بیشتر از ۰/۰۵ بود (۰/۰۸۵)؛ بنابراین، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم rs17817449 و دیابت نوع ۲ در جمعیت مورد مطالعه مشاهده نشد. علاوه بر عوامل دموگرافیک که ریسک ابتلای افراد را به بیماری دیابت نوع ۲ که یک بیماری چندعاملی است، افزایش می‌دهد، فراوانی حضور ژنوتایپ موتان پلی‌مورفیسم‌های مورد مطالعه را نیز می‌توان عاملی برای افزایش ریسک ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ مطرح کرد. بنابراین، در این مطالعه، به بررسی Odds Ratio برای پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 از طریق روش بررسی Logistic Regression در نرم‌افزار SPSS پرداخته شد و نتایج آماری نشان داد که در پلی‌مورفیسم rs17817449 وجود ژنوتیپ هموزیگوت موتانت GG می‌تواند ریسک ابتلا به دیابت را (با OR=۲/۳۱ و P-value=۰/۰۳) افزایش دهد. ولی برای پلی‌مورفیسم rs6499640 ژنوتیپ هموزیگوت موتانت AA هیچ ارتباطی با افزایش ریسک ابتلا نشان نداد.

جدول۵. فراوانی آللی و ژنوتایپینگ برای پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449

پلی‌مورفیسم	مدل	ژنوتایپ	گروه کنترل	گروه بیمار	Odds Ratio	P value
rs6499640	آلل	A	(۶۰ درصد) ۶۰	(۶۳ درصد) ۶۳	۱	۰/۷۷
		G	(۴۰ درصد) ۴۰	(۳۷ درصد) ۳۷	۰/۵۹ (۰/۳۹ – ۱/۱۱)	
	هم‌بارز	AA	(۳۱ درصد) ۳۱	(۳۶ درصد) ۳۶	۱	۰/۷۲۸
		GA	(۵۷ درصد) ۵۷	(۵۴ درصد) ۵۴	۱/۲۳ (۰/۶۷ – ۲/۲۵)	
		GG	(۱۲ درصد) ۱۲	(۱۰ درصد) ۱۰	۱/۳۹ (۰/۵۶ – ۳/۶۶)	
	بارز	AA	(۳۱ درصد) ۳۱	(۳۶ درصد) ۳۶	۱	۰/۴۵
		GA+GG	(۶۹ درصد) ۶۹	(۶۴ درصد) ۶۴	۱/۲۵ (۰/۷۰ – ۲/۲۶)	
	مغلوب	AA+GA	(۸۸ درصد)۸۸	(۹۰ درصد) ۹۰	۱	۰/۶۵
		GG	(۱۲ درصد) ۱۲	(۱۰ درصد) ۱۰	۱/۲۳ (۰/۵۰ – ۲/۹۹)	
	فوق مغلوب	AA+GG	(۴۳ درصد) ۴۳	(۴۶ درصد) ۴۶	۱	۰/۶۷
		GA	(۵۷ درصد) ۵۷	(۵۴ درصد) ۵۴	۱/۱۳ (۰/۶۵ – ۱/۹۷)	
	رگرسیون لجستیک				۱/۱۹ (۰/۷۷ – ۱/۸۶)	۰/۴۳
rs17817449	آلل	T	(۶۵ درصد) ۶۵	(۵۶ درصد) ۵۶	۱	۰/۲۴۷
		G	(۳۵ درصد) ۳۵	(۴۴ درصد)۴۴	۰/۶۱ (۰/۴۳ – ۱/۱۳)	
	هم‌بارز	TT	(۴۲ درصد) ۴۲	(۳۵ درصد) ۳۵	۱	۰/۰۸۵
		TG	(۴۶ درصد) ۴۶	(۴۱ درصد) ۴۱	۰/۹۳ (۰/۵۱ – ۱/۷۳)	
		GG	(۱۲ درصد) ۱۲	(۲۴ درصد) ۲۴	۰/۴۲(۰/۱۸ – ۰/۹۵)	
	بارز	TT	(۴۲ درصد) ۴۲	(۳۵ درصد) ۳۵	۱	۰/۳۱
		TG+GG	(۵۸ درصد) ۵۸	(۶۵ درصد) ۶۵	۰/۷۴ (۰/۴۲ – ۱/۳۲)	
	مغلوب	TT+TG	(۸۸ درصد) ۸۸	(۷۶ درصد) ۷۶	۱	۰/۰۲۶
		GG	(۱۲ درصد)۱۲	(۲۴ درصد) ۲۴	۰/۴۳ (۰/۲۰ – ۰/۹۲)	
	فوق مغلوب	TT+GG	(۵۴ درصد) ۵۴	(۵۹ درصد)۵۹	۱	۰/۴۸
		TG	(۴۶ درصد) ۴۶	(۴۱ درصد)۴۱	۱/۲۳ (۰/۷۰ – ۲/۱۵)	
	رگرسیون لجستیک				۲/۳۱ (۰/۷۳ – ۲/۲۸)	۰/۰۳



شکل ۱. پلی‌مورفیسم rs6499640 با استفاده از تکنیک ARMS PCR. چاهک ۱: مارکر مولکولی با وزن ۱۰۰ جفت باز. چاهک ۲ و ۳: نمونه‌ی سالم با ژنوتیپ هتروزیگوت GA به طول ۴۲۴ و ۵۷۷. جفت باز. چاهک ۴ و ۵: نمونه‌ی سالم با ژنوتیپ هوموزیگوت AA به طول ۴۲۴ و ۵۷۷ جفت باز. چاهک ۶ و ۷: نمونه‌ی سالم با ژنوتیپ هوموزیگ GG به طول ۴۲۴ و ۵۷۷ جفت باز.



شکل ۲. پلی‌مورفیسم rs17817449 با استفاده از تکنیک Tetra-ARMS PCR. چاهک ۱: مارکر مولکولی با وزن ۱۰۰ جفت باز. چاهک ۲: نمونه‌ی سالم با ژنوتیپ هتروزیگوت GT به طول ۱۲۸، ۴۸۹ و ۵۶۸ جفت باز. چاهک ۳: نمونه‌ی سالم با ژنوتیپ هوموزیگ GG به طول ۴۸۹ و ۵۶۸ جفت باز. چاهک ۴: نمونه‌ی سالم با ژنوتیپ هوموزیگ TT به طول ۱۲۸ و ۵۶۸ جفت باز.

بحث

بر اساس آمار کمیته‌ی بین‌المللی دیابت که در سال ۲۰۱۹ گزارش شده است، از هر ۱۱ فرد بالغ بین گروه سنی ۲۰ تا ۷۹ سال، یک نفر به دیابت نوع ۲ مبتلا است و گسترش روزافزون ابتلا به این بیماری، جوامع بشری و کیفیت زندگی انسان‌ها را تحت تأثیر قرار داده است. بنابراین، به کاربرد بیومارکرهای جدید، از جمله مارکرهای ژنتیکی، در پیش‌آگهی و تشخیص و درمان این بیماری در بسیاری از مطالعات اخیر توجه شده است [۲ ، ۱۳، ۱۷]. بررسی‌های جدید در سراسر ژنوم برای ژن‌های حساس به دیابت نوع ۲، یک ژن جدید (*FTO*) با عملکرد ناشناخته را نشان داد که به‌طور قابل توجهی به افزایش توده‌ی بدنی و چاقی کمک می‌کند و محققان در مطالعات، SNPهایی را در ژن *FTO* شناسایی کردند که با ریسک ابتلا به

دیابت نوع ۲ با افزایش تجمع توده‌ی چربی مرتبط هستند. ژن *FTO* که در تنظیم مصرف غذا و مصرف انرژی نقش دارد در ناحیه‌ی هیپوتالاموس مغز به‌شدت بیان می‌شود. اگرچه mRNA ژن *FTO* در بافت‌های مختلف انسانی، مانند بافت چربی و سلول‌های بتا بیان می‌شود، بالاترین سطوح بیان ژن *FTO* در مغز، به‌ویژه در هیپوتالاموس، هیپوفیز و غدد فوق‌کلیوی یافت شده است [۲۹-۱۰] . در مطالعات متاآنالیزی که در سال‌های اخیر صورت گرفته است، ارتباط معنی‌داری بین چندین پلی‌مورفیسم ژن *FTO* و افزایش ریسک ابتلا به دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های مختلف دنیا، به‌خصوص جمعیت آسیایی، گزارش شده است. از جمله‌ی این پلی‌مورفیسم‌ها می‌توان به پلی‌مورفیسم‌های rs6499640, rs9939609, rs17817499, rs1421085, rs8050136، rs3751812 و rs7193144 اشاره کرد [۱۳ ، ۱۷].

در این تحقیق، ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 در ژن FTO با ریسک ابتلا به بیماری دیابت، در ۱۰۰ فرد نرمال و ۱۰۰ فرد مبتلا به بیماری دیابت نوع ۲ در جمعیتی از شهر دزفول بررسی شده است. طبق نتایج این پژوهش، ارتباط معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌ها بین افراد سالم و بیمار مطابق با آنالیز آماری chi-Square مشاهده نشد. ولی در مورد پلی‌مورفیسم rs17817449 بین فراوانی ژنوتیپ GG که ژنوتیپ هموزیگوت جهش یافته است و ریسک ابتلا به بیماری دیابت نوع۲ ارتباط معنی داری مشخص شده است. (pvalue=0.03).

Younus و همکاران در سال ۲۰۱۷، در پژوهشی تحت عنوان پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO* (rs9939609 و rs17817449) به‌عنوان پیش‌بینی‌کننده‌ی دیابت نوع ۲ در جمعیت چاق عراق، مشاهده کردند که حضور آلل T در دو پلی‌مورفیسم rs9939609 و rs17817449 ژن *FTO* با افزایش خطر معنی‌دار ابتلا به دیابت نوع ۲ در افراد چاق عراقی همراه است. آنان عنوان کردند که دو پلی‌مورفیسم ژن *FTO* (rs9939609 و rs17817449) در افزایش مقاومت به انسولین و در نتیجه، بروز دیابت نوع ۲ در بیماران چاق نقش دارند [۲۳]. نتایج حاصل از پژوهش آنان با نتایج مشاهده‌شده در پژوهش حاضر مطابقت نداشت. دلیل این اختلاف را می‌توان به تفاوت در فاکتورهای انتخابی افراد مورد بررسی نسبت داد که در جمعیت عراقی، این پژوهش درباره‌ی افراد چاق صورت پذیرفته بود و پژوهش حاضر در افراد با BMI در محدوده‌ی طبیعی انجام گرفته است. مطالعه‌ی دیگری را در سال ۲۰۲۲، Mielcarska و همکارانش در لهستان درباره‌ی ارتباط پلی‌مورفیسم rs17817449 ژن *FTO* با چاقی، دیابت نوع ۲ و بیماری‌های قلبی و عروقی راجع به ۲۹۵ بیمار انجام دادند. طبق نتایج این پژوهش، بین BMI و ژنوتیپ rs17817449 تفاوت معنی‌داری گزارش نشد و نتیجه‌گیری شد که واریانت rs17817449 ژن *FTO* ممکن است با کاهش خطر فشارخون شریانی و بیماری عروق کرونر مرتبط باشد. همچنین، تفاوت معنی‌داری بین فراوانی ژنوتیپ‌های *FTO* بین افراد مبتلا به دیابت و سالم گزارش نشد و ارتباطی بین پلی‌مورفیسم rs17817449 و افزایش خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ گزارش نشد [۲۰]. نتایج تحقیق آنان با پژوهش حاضر مطابقت داشت و می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مطالعات بیشتر با حجم نمونه‌ی بزرگ‌تر برای ارزیابی رابطه‌ی بین rs17817449 و خطر چاقی، اختلالات متابولیک و بیماری‌های قلبی‌عروقی لازم است. یکی از پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO*، rs17817449 است. طبق مطالعات صورت‌گرفته در سال ۲۰۱۷ توسط Abdelmajed و همکاران درباره‌ی جمعیت کودکان و نوجوانان مصری برای شناسایی ارتباط بین افزایش بافت چربی و واریانت‌های rs9939609 و rs17817449 از ژن *FTO*، هیچ ارتباط معنی‌داری بین واریانت‌های مورد بررسی و بروز چاقی در کودکان و نوجوانان مصری گزارش نشد و نتایج تحقیقات آنان هم‌راستا با مطالعه‌ی حاضر بود که نشان‌دهنده‌ی نقش عامل محیطی بر خطر ابتلا به چاقی و به دنبال آن، خطر ابتلا به بیماری‌هایی است که به دنبال چاقی ایجاد می‌شوند؛ از جمله دیابت نوع ۲ [۱۲].

ازآنجاکه عادات غذایی و رژیم تغذیه‌ای هر فرد در ابتلای او به بیماری‌های مولتی‌فاکتوریال، از جمله دیابت، می‌تواند مؤثر باشد و یکی از عوامل مهم مرتبط با ابتلا به دیابت افزایش تجمع بافت چربی و چاقی است، در این تحقیق به بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs6499640 در ژن *FTO* که با بروز چاقی و افزایش بافت چربی مرتبط است و می‌تواند ریسک‌فاکتوری برای ابتلا به دیابت نوع ۲ باشد، پرداخته شده است. در سال ۲۰۲۱، Czajkowski و همکاران به مطالعه‌ی اثرهای توده‌ی چربی و ارتباط آن با پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO* از جمله rs3751812، rs8050136، rs9939609، rs6499640، rs8044769 و rs7190492 در جمعیت لهستانی پرداختند. در این مطالعه مشخص شد که مصرف فیبر غذایی ممکن است اثر حضور پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO* را تغییر دهد و در بروز برخی بیماری‌ها از جمله دیابت نوع ۲ مؤثر باشد [۱۵] .

پژوهش‌هایی از این قبیل نشانگر این هستند که عوامل محیطی نیز مانند دریافت فیبر غذایی، می‌توانند در کنار عوامل ژنتیکی، در ابتلا به دیابت نوع ۲ مؤثر باشند. همچنین، در سال ۲۰۱۸، Gao و همکاران ارتباط پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتید rs6499640 از ژن *FTO* را با سطوح لیپید در کودکان چینی و ارتباط آن با بروز بیماری دیابت نوع ۲ را بررسی کردند. در مجموع، ۳۵۰۳ کودک ۶ تا ۱۸ساله در مطالعه وارد شدند. سطوح لیپید تجزیه‌وتحلیل شد و پلی‌مورفیسم rs6499640 تعیین ژنوتیپ شد. ارتباط آماری معنی‌داری بین rs6499640 از ژن *FTO* و سطوح لیپید در دختران چینی وجود دارد. در این مطالعه، منبع خطر جدیدی برای تجمع سطوح لیپید و ریسک افزایش ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ در کودکان چینی شناسایی شد [۲۱]. در سال ۲۰۱۹، khoshi و همکاران در جمعیت بیماران ایرانی به بررسی حضور پلی‌مورفیسمrs9939609 (یکی از پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO*) و افزایش توده‌ی بدنی و ریسک ابتلا به دیابت نوع ۲ پرداختند و در مطالعه‌ی آنان، مشخص شد که حضور این پلی‌مورفیسم با افزایش تجمع بافت چربی و بروز بیماری دیابت نوع ۲

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

ارتباط معنی‌داری دارد [۲۵]. به‌خلاف تحقیق حاضر که بین دو پلی‌مورفیسم rs6499640 و rs17817449 از ژن *FTO* در جمعیت شهر دزفول و ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ ارتباط معنی‌دار گزارش نکرد، پلی‌مورفیسم مورد مطالعه‌ی khoshi و همکاران در جمعیت بیماران بجنورد ارتباط معنی‌داری را نشان داد که می‌تواند به‌دلیل اختلاف قومیت و منطقه‌ی جغرافیایی یا به‌دلیل تفاوت تعداد نمونه‌های بررسی‌شده و همچنین، تفاوت نوع پلی‌مورفیسم مورد مطالعه باشد.

ارتباط ژن *FTO* با چاقی و دیابت نوع ۲ در مطالعات بسیاری بررسی شده است. چندین مطالعه ارتباط مثبت افزایش چاقی و دیابت نوع ۲ را با ژن *FTO* نشان دادند؛ اما برخی دیگر هیچ ارتباطی با دیابت نوع ۲ نشان ندادند. در بسیاری از تحقیقات، مشخص شده است که بین ژن‌هایی که با چاقی مرتبط هستند، از جمله یکی از مهم‌ترین این ژن‌ها که ژن *FTO* است و پلی‌مورفیسم‌های تک‌نوکلئوتیدی در این ژن، با ریسک ابتلا به دیابت نوع ۲ ارتباط معنی‌داری وجود دارد [۱۵-۱۰]. همچنین، در مقالات مختلف، ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های ژن *FTO*، به‌خصوص پلی‌مورفیسم‌های مورد بررسی در این پژوهش، rs1781744 و rs6499640، با بیماری دیابت نوع ۲ در جمعیت‌های مختلف چینی، اروپایی، ژاپنی، مصری، لهستانی و عراقی بررسی شده است [۲۹-۱۶]. تفاوت حاصل بین نتایج تحقیق حاضر در مقایسه با نتایج مقالات اخیر، می‌تواند به‌دلیل سن متفاوت نمونه‌ها، جنسیت و تعداد افراد، قومیت‌های مختلف، عوامل محیطی و محدوده‌ی BMI در نمونه‌های بررسی‌شده یا به‌دلیل تفاوت‌های روش‌های آزمایشگاهی و سایر ویژگی‌های دموگرافیک در نمونه‌ها باشد. توصیه می‌شود برای رفع کاستی‌های تحقیق، نقش این عوامل محیطی، به‌خصوص عادات زندگی افراد و بررسی حجم نمونه‌ی بیشتر، در مطالعه‌های آینده در نظر گرفته شود.

نتیجه گیری

در جمعیت مورد مطالعه در شهر دزفول، پلی‌مورفیسم‌های rs6499640 و rs17817449 ارتباط معنی‌داری را با ابتلا به بیماری دیابت نوع ۲ نشان ندادند. بنابراین، نمی‌توان از این دو پلی‌مورفیسم به‌عنوان بیومارکر بیماری دیابت نوع ۲ در این جمعیت استفاده کرد. ولی توصیه می‌شود که در جمعیت‌ها و قومیت‌های دیگر با تعداد افراد بیشتر و حجم بالاتر نمونه مطالعه‌هایی انجام شود تا بتوان در مورد این دو پلی‌مورفیسم و ارتباط آن‌ها با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ در جمعیت ایرانی بحث کرد.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

این مقاله در نمونه گیری از کسب رضایت نامه و اگاهی افراد از مطالعه انجام گرفته است و با کد اخلاق به شماره IR.DUMS.REC.1399.054 از دانشگاه علوم پزشکی دزفول و بارعایت بیانیهی هلسینکی انجام گرفته است.

حامی مالی

مشارکت و حامی مالی در این پژوهش وجود ندارد.

مشارکت نویسندگان

طراحی و تنظیم تحقیق و نگارش مقاله توسط خانم دکتر سیاسی انجام شده است. اجرای پروژه و مراحل انجام ازمایشات توسط خانم شکوه نیا صورت پذیرفته است. ادیت مقاله و آنالیز نتایج با همکاری آقای دکترمشایخی انجام گرفته است. نگارش و پذیرش فایل نهایی مقاله با نظرو مقبولیت تمامی نویسندگان صورت گرفته است.

تعارض منافع

بین نویسندگان مقاله هیچ‌گونه تعارض منافعی وجود ندارد.

تشکر و قدردانی

از تمام افرادی که به‌عنوان نمونه در این تحقیق شرکت کردند و کارکنان آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی دزفول تشکر و سپاسگزاری به عمل می‌آید.

References

[1] Shill LC, Alam MR, Chowdhury AI, Alam S. Association of *FTO* gene (rs9939609) with obesity and type-2 diabetes mellitus: Review from current studies. Rom J Diabetes Nutr Metab Dis. 2021; 28(4): 447–452. [DOI: 10.46389/rjd-2021-1065]

[2] Phani NM, Vohra M, Rajesh S, Adhikari P, Nagri SK, D'Souza SC, Satyamoorthy K, Rai PS. Implications of critical PPARγ2, ADIPOQ and FTO gene polymorphisms in type 2 diabetes and obesity-mediated susceptibility to type 2 diabetes in an Indian population. Mol Genet Genomics. 2016;291(1):193-204. [DOI: 10.1007/s00438-015-1097-4] [PMID]

[3] Baručija-Özçoban I, Ašić A, Bešić L, Halilović S, Marjanovic D, Dogan S. A Decade of the Common FTO rs9939609 Polymorphism: A Systematic Review. Coll Antropol. 2018; 42 (2): 147–158. [Link]

[4] Al-Tu'ma FJ, Obed KH. Association between Fat Mass and Obesity Associated (*FTO*) gene polymorphism (rs9939609) and lipid profile in type 2 diabetic obese Iraqi male. Iraq Med J. 2018; 2(1): 15-19. [Link]

[5] Kar K, Munim MA, Fariha A, Singha Roy A, Rahman MI, Akter S, et al. Association of an intronic SNP rs9939609 in *FTO* gene with type 2 diabetes mellitus among Bangladeshi population: A case–control study combined with updated meta-analysis. Human Gene. 2023; 35(201133): 1-16. [DOI: 10.1016/j.humgen.2022.201133]

[6] Filimban N, Qusti S, Ghannam N, Shaer N, Y. Sakka M, Al-Mars A, et al. Type 2 diabetes is associated with *FTO* polymorphism through its effect on increasing the maximum BMI in western region of Saudi Arabia. J Adv Pharm Educ Res. 2017; 7(4): 378-386. [Link]

[7] Bego T, Causevic A, Dujic T, Malenica M, Velija-Asimi Z, Prnjavorac B, et al. Association of FTO gene variant (rs8050136) with type 2 diabetes and markers of obesity, glycaemic control and inflammation. J Med Biochem. 2019; 38: 153 –163. [DOI: 10.2478/jomb-2018-0023] [PMID] [PMCID]

[8] Algenabi AA, Hussein MK, Hadi NR, Nasser FA, Fatima G, Al-Aubaidy HA. Assessing the fat mass and obesity associated gene polymorphisms (rs17817449 and rs1588413) in obesity and type 2 diabetes mellitus. Sys Rev Pharm. 2020;11(6):656-60. [DOI: 10.31838/srp.2020.6.97]

[9] Oğuz O, Gheybi A, Doğan Z, Akbaş F, Zeybek U, Ergen A. Investigation of GHRL (rs4684677), FTO (rs8044769) and PGC1A (rs8192678) polymorphisms in type 2 diabetic Turkish population. Turk J Biochem. 2022; 47(5): 564–570. [DOI: 10.1515/tjb-2021-0235]

[10] Saucedo R, Valencia J, Gutierrez C, Basurto L, Hernandez M, Puello E, et al. Gene variants in the FTO gene are associated with adiponectin and TNF-alpha levels in gestational diabetes mellitus. Diabetol Metab Syndr. 2017; 9(32): 1-7. [DOI: 10.1186/s13098-017-0234-0]

[11] Zarza-Rebollo JA, Molina E, Rivera M. The role of the *FTO* gene in the relationship between depression and obesity. A systematic review. Neurosci Biobehav Rev 2021; 12(7): 630-637. [DOI: 10.1016/j.neubiorev.2021.05.013]

[12] Abdelmajed SS, Youssef M, Zaki ME, Abu-Mandil Hassan N, Ismail S. Association analysis of *FTO* gene polymorphisms and obesity risk among Egyptian children and adolescents. Gene Dies. 2017; 4: 170e175. [DOI: 10.1016/j.gendis.2017.06.002]

[13] Huong PT, Thu Nguyen CT, Nhung VT. The association between *FTO* polymorphisms and type 2 diabetes in Asian populations: A meta-analysis. Meta Gene. 2021; 30: 100958. [DOI: 10.1016/j.mgene.2021.100958]

[14] Czajkowski P, Adamska-Patruno E, Bauer W, Fiedorczuk J, Krasowska U, Moroz M, et al. The Impact of *FTO* Genetic Variants on Obesity and Its Metabolic Consequences is Dependent on Daily Macronutrient Intake. Nutrients. 2020; 12(3255): 1-26. [DOI: 10.3390/nu12113255]

[15] Czajkowski P, Adamska-Patruno E, Bauer W, Krasowska U, Fiedorczuk J, Moroz M, et al. Dietary Fiber Intake May Influence the Impact of *FTO* Genetic Variants on Obesity Parameters and Lipid Profile—A Cohort Study of a Caucasian Population of Polish Origin. Antioxid 2021; 10(1793): 1-17. [DOI: 10.3390/antiox10111793] [PMID] [PMCID]

[16] Kamura Y, Iwata M, Maeda S, Shinmura S, Koshimizu Y, Honoki H, Fukuda K, Ishiki M, Usui I, Fukushima Y, Takano A, Kato H, Murakami S, Higuchi K, Kobashi C, Tobe K. FTO Gene Polymorphism Is Associated with Type 2 Diabetes through Its Effect on Increasing the Maximum BMI in Japanese Men. PLoS One. 2016;11(11):e0165523. [DOI: 10.1371/journal.pone.0165523] [PMID] [PMCID]

[17] Yang Y, Liu B, Xia W, Yan J, Liu HY, Hu L, Liu SM. FTO Genotype and Type 2 Diabetes Mellitus: Spatial Analysis and Meta-Analysis of 62 Case-Control Studies from Different Regions. Genes. 2017; 8(70): 1-16. [DOI: 10.3390/genes8020070] [PMID] [PMCID]

[18] Liu AL, Xie HJ, Xie HY, Liu J, Yin J, Hu JS, Peng CY. Association between fat mass and obesity associated (*FTO*) gene rs9939609 A/T polymorphism and polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. BMC Med Gene. 2017; 18(89): 1-7. [DOI : 10.1186/s12881-017-0452-1]

[19] Lan N, Lu Y, Zhang Y, Pu S, Xi H, Nie X, Liu J, Yuan W. FTO –A Common Genetic Basis for Obesity and Cancer. Front. Genet 2020; 11:559138. [DOI: 10.3389/fgene.2020.559138]

[20] Mielcarska S, Stopińska K, Poręba M, Szywacz W, Macionga A, Szweda-Gandor N, et al. Influence of the *FTO* polymorphism rs17817449 on the risk of obesity, type 2 diabetes, and cardiovascular diseases in Upper Silesian population a preliminary, cross-sectional study. Med Res J 2022; 7 (2): 134–141. [DOI: 10.5603/MRJ.a2022.0019]

[21] Gao L, Wu L, Zhang M, Zhao X, Cheng H, Mi J. Gender-specific association of the rs6499640 polymorphism in the *FTO* gene with plasma lipid levels in Chinese children. Gene Molecul Bio. 2018; 41(2): 397-402. [DOI: 10.1590/1678-4685-GMB-2017-0107] [PMID] [PMCID]

[22] Huong PT, Nguyen CTT, Nhung VT. The association between *FTO* polymorphisms and type 2 diabetes in Asian populations: A meta-analysis. Meta Gene. 2021; 30 (100958): 1-9. [DOI: 10.1016/j.mgene.2021.100958]

[23] Younus LA, A. Algenabi AH, S. Abdul-Zhara M, K. Hussein M. *FTO* gene polymorphisms (rs9939609 and rs17817449) as predictors of Type 2 Diabetes Mellitus in obese Iraqi population. Gene. 2017; 627: 79-84. [DOI: 10.1016/j.gene.2017.06.005] [PMID]

[24] Sabry HJ, Ibrahim ME, El Fadeel SA, El-Fallah AA. Study of *FTO* Gene Polymorphism Association with Type 2 Diabetes and Increasing BMI in Egyptian Patients. BJAS. 2020; 5(5): 67-74. [DOI: 10.21608/bjas.2020.136647]

[25] Khoshi A, Bajestani MK, Shakeri H, Goodarzi G, Azizi F. Association of Omentin rs2274907 and FTO rs9939609 gene polymorphisms with insulin resistance in Iranian individuals with newly diagnosed type 2 diabetes. Lipids Health Dise. 2019; 18(142): 1-10. [DOI: 10.1186/s12944-019-1085-5] [PMID] [PMCID]

[26] Sabarneh A, Ereqat S, Cauchi S, AbuShamma O, Mohammad Abdelhafez M, Murad Ibrahim M, et al. Common FTO rs9939609 variant and risk of type 2 diabetes in Palestine. BMC Med Gene. 2018; 19(1): 156. [DOI: 10.1186/s12881-018-0668-8] [PMID] [PMCID]

[27] Khan S, Verma AK, Khan V, Bhatt D, Rafat S, A. Alsahli M, et al. Role of *FTO* and *MC4R* Polymorphisms in Escalating Obesity and Their Indirect Association with Risk of T2D in Indian Population. Diabetes Ther. 2020; 11: 2145–2157. [DOI: 10.1007/s13300-020-00896-w] [PMID] [PMCID]

[28] Naaz K, Kumar A, Choudhury I. Assessment of *FTO* Gene Polymorphism and its Association with Type 2 Diabetes Mellitus in North Indian Populations. Ind J Clin Beachem. 2019; 34(4): 479–484. [DOI: 10.1007/s12291-018-0778-2] [PMID] [PMCID]

[29] Shaikh F, Tazeen shah T, Bazekh Madkhali NA, Gaber A, F. Alsanie W, et al. Frequency distribution and association of Fat-mass and obesity (*FTO*) gene SNP rs-9939609 variant with Diabetes Mellitus Type-II population of Hyderabad, Sindh, Pakistan. Saudi J Bio Sci.2021; 28: 4183–4190. [DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.06.001] [PMID] [PMCID]