**ارتباط پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين با بيماري کبد چرب غيرالکلي**

رقيه احتشام\*[[1]](#footnote-1)، معصومه نژادعلي\*[[2]](#footnote-2)، مهدي هدايتي[[3]](#footnote-3)

تاريخ دريافت 08/08/1403 تاريخ پذيرش 24/09/1403

**چکيده**

**پيش‌زمينه و هدف:** بيماري کبد چرب غيرالکلي (NAFLD) شايع‌ترين بيماري کبدي و يک مشکل مهم بهداشت عمومي در سراسر جهان است. شيوع NAFLD به‌طور پيوسته در حال افزايش است که با عوارض جدي مانند سيروز و کارسينوم کبدي همراه است، همچنين با سندرم مقاومت به انسولين و بيماري‌هاي قلبي عروقي مرتبط است. در اين مطالعه، ارتباط پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين با NAFLD بررسي شده است.

**مواد و روش کار**: اين مطالعه مورد-شاهدي (نمونه‌گيري تصادفي) بر روي 150 شرکت‌کننده، شامل 75 شرکت‌کننده با بيماري‌هاي کبد چرب غيرالکلي به‌عنوان مورد و 75 شرکت‌کننده به‌عنوان گروه عادي انجام شد. شرکت‌کنندگان با سابقه مصرف الکل، اختلالات متابوليک و ساير بيماري‌هاي کبدي، از مطالعه حذف شدند. واسپين و انسولين سرم با کيت الايزا و ساير متغيرها به روش استاندارد اندازه‌گيري شدند. تعيين ژنوتيپ‌هاي rs2236242 با استفاده از واکنش زنجيره‌اي پليمراز تتراآرمز‍ انجام شد. تجزيه‌وتحليل آماري با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 20 انجام شد.

**يافته‌ها**: تفاوت معني‌داري در سطح واسپين در بيماران مبتلا به NAFLD نسبت به افراد سالم يافت نشد (05/0≤P). سطح هيچ‌يک از متغيرها در افراد سالم و بيماران براي ژنوتيپ‌هاي TA و TT تفاوت معني‌داري نداشت. بين پلي‌مورفيسم rs2236242 و مقاومت به انسولين ارتباط معني‌داري وجود نداشت. هيچ ارتباطي بين اين پلي‌مورفيسم و NAFLD يافت نشد (05/0≤P).

**بحث و نتيجه‌گيري**: يافته‌ها نشان مي‌دهد که بين پلي‌مورفيسم rs2236242 با سطوح واسپين، مقاومت به انسولين و بيماري کبد چرب غيرالکلي ارتباطي وجود ندارد. بااين‌حال، محدوديت‌هايي مانند حجم نمونه محدود و استفاده از سونوگرافي بر تعميم‌پذيري يافته‌ها تأثيرگذار است.

**کليدواژه‌ها:** واسپين، کبد چرب غيرالکلي، شاخص مقاومت به انسولين

**مجله مطالعات علوم پزشکي، دوره سي و پنجم، شماره هشتم، ص 661-652، آبان 1403**

**آدرس مکاتبه:** گروه زيست شناسي، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامي، اسلامشهر، ايران، تلفن:09123875493

ma\_nejadali@yahoo.com

**مقدمه**

بيماري کبد چرب غيرالکلي [[4]](#footnote-4)(NAFLD) يک مشکل مهم بهداشت عمومي در سراسر جهان است (1) که حدود يک‌سوم جمعيت جهان به آن مبتلا هستند. شيوع NAFLD در طول 3 دهه گذشته از 25 درصد به 38 درصد افزايش يافته است. آمريکاي لاتين، خاورميانه و شمال آفريقا بالاترين ميزان شيوع NAFLD را دارند اما جمعيت مبتلا در ساير مناطق جهان نيز به 25٪ تا 35 مي‌رسد (2). شيوع NAFLD به‌طور پيوسته در حال افزايش است و تقريباً 1 ميليارد نفر در سراسر جهان تحت تأثير آن قرار دارند، که اکثر افراد 40 تا 50 ساله مي‌باشند (3). پيش‌بيني مي‌شود که ميزان مرگ‌ومير آن تا سال 2030 در مناطق آسيا و اقيانوسيه بين 65 تا 100 درصد افزايش يابد (1). يافته‌ها نشان مي‌دهد که اين افزايش سريع بيماري کبد چرب غيرالکلي ناشي از همه‌گيري چاقي و ديابت نوع 2 است (2). بيماري کبد چرب غيرالکلي نتيجه عدم تعادل انرژي دريافتي و مصرف انرژي است. افزايش دريافت انرژي يا کاهش مصرف انرژي منجر به ذخيره ليپيد در نواحي مانند کبد مي‌شود. بيماري کبد چرب غيرالکلي طيفي از اختلالات را شامل مي‌شود از استئاتوز کبدي گرفته تا مجموعه‌اي از التهاب، فراتر از استئاتوز کبد، که استئاتوهپاتيت غيرالکلي (NASH) ناميده مي‌شود (1). بيماري کبد چرب غيرالکلي ممکن است منجر به بيماري مزمن کبدي با درجات مختلف فيبروز و سيروز شود (4،1). بيماري کبد چرب با اجزاي مختلف سندرم متابوليک نظير چاقي، ديابت نوع 2 و ديس ليپيدمي ارتباط دارد، ازاين‌رو سال 2020 نام آن از NAFLD به بيماري کبد چرب مرتبط با اختلال متابوليک (MAFLD) تغيير کرد (5).

آديپوکين‌ها پپتيدهايي هستند که توسط بافت چربي با عملکردهاي اتوکرين، پاراکرين و اندوکرين توليد مي‌شوند که به ايجاد استئاتوز ساده (SS)، استئاتوهپاتيت غيرالکلي (NASH) و حتي سيروز کمک مي‌کنند. واسپين آديپوکين جديدي است که با بسياري از بيماري‌هاي متابوليک مانند چاقي، ديابت و سندرم متابوليک ارتباط دارد و سطح آن با خطر بسياري از اختلالات عروقي و متابوليک همبستگي دارد و ممکن است به‌عنوان نشانگر زيستي براي MAFLD استفاده شود. بنابراين، مطالعات زيادي بر روي سطح واسپين و MAFLD متمرکز شده‌اند، اما به دليل يافته‌هاي متناقض هنوز نياز به بحث و بررسي بيشتر دارد (6).

واسپين يک مهارکننده سرين پروتئاز متعلق به گروه پروتئين‌هاي سرپين است که توسط Hida و همکاران در سال 2005 کشف شد (8) اين آديپوکين داراي 395 اسيدآمينه است (7) واسپين در بافت‌ها و اندام‌هاي مختلف ازجمله چربي زير جلدي، پوست، معده، ماهيچه‌هاي اسکلتي، پانکراس و کبد بيان مي‌شود (8). شواهد نشان داده‌اند که واسپين مقاومت به انسولين، چاقي، اختلالات متابوليک و استئاتوز کبدي را از طريق مکانيسم‌هاي اتوکرين و پاراکرين کاهش مي‌دهد و از پيشرفت آترواسکلروز جلوگيري مي‌کند و خطر بيماري قلبي عروقي را کاهش مي‌دهد (9). واسپين به‌عنوان يک مهارکننده سرين پروتئاز، فعاليت کاليکرئين از سرين پروتئازهاي تجزيه‌کننده انسولين در جزاير پانکراس را مهار مي‌کند که اين مهار ممکن است به‌طور بالقوه مدت گردش انسولين را طولاني کند (8). سرپين‌ها با مهار فاکتور نکروز تومور آلفا اثرات ضدالتهابي دارند. همچنين با کاهش تشکيل گونه‌هاي فعال اکسيژن (10) و استرس اکسيداتيو (11) از مرگ سلولي جلوگيري مي‌کنند (10)، علاوه بر اين، به نظر مي‌رسد واسپين متابوليسم ليپيد را تعديل مي‌کند و تزريق آن باعث کاهش سطح‌تري گليسيريد و اسيدهاي چرب آزاد مي‌شود (11). واسپين در جايگاه ژني و موقعيت کروموزومي q32.13 14 قرار دارد، (12) که از 6 اگزون و 5 اينترون تشکيل‌شده است (7). پلي‌مورفيسم rs2236242 در اينترون 4 ژن واسپين قرار دارد. شواهد نشان مي‌دهد جهش‌هاي ژنتيکي دليل اصلي تغييرات در سطوح سرمي واسپين است (13). هاشمي و همکاران نشان دادند پلي‌مورفيسم rs2236242 واسپين خطر ابتلا به سندرم متابوليک را به‌طور قابل‌توجهي کاهش مي‌دهد (14). اما در يک مطالعه متاآناليز ارتباطي بين rs2236242 و T2DM مشاهده نشد، اگرچه ارتباط معني‌دار بين اين پلي‌مورفيسم تک نوکلئوتيدي و کاهش خطر چاقي يافت شد در اين مطالعه فراواني آلل-A به‌طور قابل‌توجهي در گروه کنترل بالاتر بود (12) همچنين تفاوت معني‌دار در فراواني ژنوتيپ پلي‌مورفيسم rs2236242 بين افراد مبتلا به سرطان پاپيلاري و گواتر مولتي ندولار (13) و سرطان پستان نسبت به افراد سالم مشاهده شد (15). روش‌هاي درمان و غربالگري بيماري کبد چرب مرتبط با اختلال متابوليک در حال حاضر محدود است و ممکن است باعث آسيب به بيماران شود، درنتيجه محققان تلاش مي‌کنند تا تشخيص سريع بيماري و فرصت‌هايي براي مداخله زودهنگام ايجاد شود. بنابراين، کشف نشانگرهاي زيستي بيشتري که بتوانند وقوع و پيشرفت MAFLD را نشان دهند، بسيار موردتوجه است (6). مطالعه حاضر به بررسي ارتباط پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين با سطح واسپين سرمي، مقاومت به انسولين، و شيوع کبد چرب غيرالکلي پرداخته است.

**مواد و روش کار**

مطالعهمورد – شاهدي حاضر بر روي 150 داوطلب انجام شد که تعداد افراد بر اساس فرمول برآورد حجم نمونه، محاسبه شد. داوطلبان از مراجعه‌کنندگان به بيمارستان تأمين اجتماعي تاکستان و بيمارستان‌هاي اميرالمؤمنين و بوعلي تهران انتخاب شدند. در اين مطالعه 75 بيمار مبتلا به کبد چرب غيرالکلي انتخاب شدند که تشخيص کبد چرب غيرالکلي آنان با سونوگرافي انجام شد و از افرادي که نتيجه سونوگرافي آن‌ها عدم ابتلا به کبد چرب بود 75 نفر به‌عنوانگروه سالم شرکت داشتند. انتخاب افراد به‌صورت تصادفي مبتني بر دسترس بودن انجام شد. مطالعه حاضر بر اساس تفاهم‌نامه هلسينکي از بهمن‌ماه 1396 لغايت بهمن 1397 در پژوهشگاه غدد دانشگاه شهيد بهشتي انجام شد. کد اخلاق مطالعه IR.IAU.TMU.REC.1396.287 در دانشکده پزشکي دانشگاه آزاد اسلامي تهران تصويب شد. در پژوهش حاضر ابتدا اهداف طرح براي شرکت‌کنندگان توضيح داده شد. در تحقيق حاضر پرسشنامه‌اي تحت نظر و تائيد فوق تخصص کبد و گوارش طراحي شد که شامل اطلاعات شخصي، اصالت ايراني، رژيم غذايي، فعاليت ورزشي، سابقه بيماري و مصرف دارو و ساير اطلاعات بود. اين پرسشنامه توسط شرکت‌کنندگانزير نظر کارشناسان تکميل شد. در اين پژوهش افرادي که داراي سابقه مصرف داروي متابوليکي، مصرف الکل و مواد مخدر، بيماري حاد، حاملگي، بيماري کليوي، ساير بيماري‌هاي کبد، بيماري قلبي، سرطان، بيماري‌هاي ايمني، عفونت و فشارخون بالا و ساير بيماري‌هاي شناخته‌شده بودند از مطالعه حذف شدند.

پس از کسب رضايت، متغيرهاي قد، وزن، فشارخون با روش استاندارد اندازه‌گيري شد و نمايه توده بدني (m2 قد/ kg وزن) محاسبه گرديد. براي اندازه‌گيري پارامترهاي بيوشيميايي و تعيين ژنوتيپ، 10 ميلي‌ليتر خون از افراد شرکت‌کننده بعد از 14-12 ساعت ناشتايي گرفته شد که 5 ميلي‌ليتر براي تهيه DNA در لوله‌هاي حاوي EDTA ريخته شد و 5 ميلي‌ليتر براي تهيه سرم در لوله‌هاي فاقد ضد جمع‌آوري گرديد. لوله‌هاي فاقد ضد حدود نيم ساعت براي ايجاد لخته در دماي اتاق نگهداري شد سپس به مدت 15 دقيقه با سرعت rpm3000 سانتريفوژ شد گوکز، جهت جلوگيري از گليکوليز، به روش گلوکز اکسيداز اندازه‌گيري شد. باقيمانده سرم به پژوهشگاه غدد شهيد بهشتي منتقل شد و ساير پارامترهاي بيوشيميايي با کيت‌هاي تجاري شرکت پارس آزمون (تهران ايران) با روش‌هاي استاندارد دستگاه اتوآنالايزر سلکترا 2 ساخت هلند اندازه‌گيري شد. درصد ضرايب تغييرات درون و برون آزموني براي گلوکز 3/2درصد بود. CV% درون و برون آزموني آزمايش TC وتري گليسريد به ترتيب 8/0، 2/1درصد و 1/1، 6/1درصد بود و CV% درون و برون آزموني براي HDL-C 8/0 و 8/1درصد و براي آسپارتات آمينوترانسفراز 8/2 و 8/3درصد و آلانين آمينوترانسفراز 6/2 و 5/3درصد بود. سطح واسپين با استفاده از کيت الايزا شرکت ZellBio، آلمان ZB-10921-H9648)) و در 450 نانومتر و هورمون انسولين با کيت الايزا، مرکوديا (10-1113-01) اندازه‌گيري شد. اندازه‌گيري انسولين و واسپين با دستگاه الايزا ريدر (Tecan-اتريش) CV% درون آزموني انسولين 8/1درصد با حساسيت يک ميلي يونيت بر ليتر و CV% درون آزموني واسپين 3/6درصد با حساسيت 01/0 نانوگرم در ميلي‌ليتر بود. مقاومت به انسولين بر اساس فرمول 5/225/ (nmol/lit) گلوکز ناشتا سرم × (microunit/lit) انسولين ناشتا سرم HOMA= محاسبه گرديد. روش اندازه‌گيري پارامترهاي بيوشيميايي در مطالعات قبل آمده است (17،16). سنجش پروفايل قند و ليپيد و آنزيم‌هاي کبدي با کيت‌هاي پارس آزمون، اندازه‌گيري سطح واسپين با استفاده از کيت الايزا شرکت ZellBio، آلمان و اندازه‌گيري هورمون انسولين نيز با استفاده از کيت الايزا، مرکوديا انجام شد (16). مقاومت به انسولين بر اساس فرمول 5/22/ (nmol/lit) گلوکز ناشتا سرم × (microunit/lit) انسولين ناشتا سرم HOMA-IR=محاسبه گرديد (17). در مطالعه حاضر افراد در سه گروه ازنظر شاخص مقاومت به انسولين قرار گرفتند که شامل افراد حساس به   
انسولين (HOMA<2.42)، مقاوم به انسولين بينابيني   
(2/42≤ HOMA<3.59) و مقاوم به انسولين (HOMA≥3.59) بود (18). استخراج DNA با روش رسوب‌دهي نمک (Salting out) و تعيين ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم واسپين rs2236242 با استفاده از واکنش زنجيره‌اي پليمراز- تترا آرمز (T-ARMS-PCR) در پژوهشگاه غدد و متابوليسم دانشگاه شهيد بهشتي انجام شد (16). پرايمر‌هاي استفاده‌شده در جدول 1 آمده است (19). براي انجام واکنش TARMS-PCR، مخلوط 20 ميکروليتري آماده شد که شامل 10 ميکروليتر مسترميکس، 1 ميکروليتر DNA ژنومي با غلظت 100- 50 نانوگرم در ميکروليتر و 1 ميکروليتر پرايمرهاي فوروارد و ريورس داخلي، 0.8 ميکروليتر از پرايمرهاي فوروارد و ريورس خارجي (غلظت پرايمرها 10 پيکومول/ميکروليتر) و 5.4 ميکروليتر آب بود. برنامه تکثير اين قطعه ژني در دستگاه ترموسايکلر به شرح زير بود: دناتوراسيون اوليه به مدت 5 دقيقه در 95 درجه سانتي‌گراد، سپس 30 سيکل که هر چرخه شامل دناتوراسيون 95 درجه سانتي‌گراد به مدت 30 ثانيه، اتصال پرايمرها در 3/57 درجه سانتي‌گراد براي 30 ثانيه، تکثير در 72 درجه سانتي‌گراد به مدت 30 ثانيه، انجام شد سپس آخرين مرحله تکثير در دماي 72 درجه سانتي‌گراد به مدت 5 دقيقه انجام شد. براي تعيين ژنوتيپ الکروفورز محصول PCR روي ژل پلي آکريل آميد 8 درصد انجام شد.

**جدول (1):** پرايمرهاي استفاده‌شده در واکنش زنجيره‌اي پليمراز- تترا آرمز براي تعيين ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242

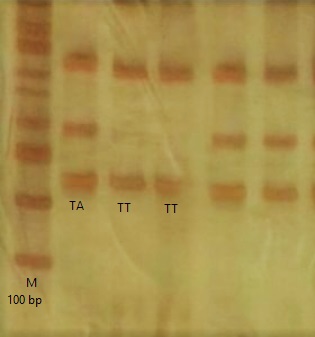
|  |  |
| --- | --- |
| پرايمر فوروارد خارجي | AAGACGCCGCTTCTGTGCACT |
| پرايمر ريورس خارجي | CACAGGGACCCAGGATAACTTGC |
| پرايمر فوروارد داخلي | GGAGGCAGACCAGGCACTAGAA |
| پرايمر ريورس داخلي | ACCATCTCTCTGGCTTCAGGCTTC |

تجزيه‌وتحليل آماري با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه 20 انجام شد. متغيرهاي کمي به‌صورت انحراف معيار±ميانگين و متغيرهاي کيفي به‌صورت درصد بيان شد. وضعيت نرمال بودن متغيرهاي کمي با آزمون کولموگروف اسميرنوف بررسي شد. متغيرهاي با توزيع نرمال با استفاده از آزمون‌هاي تي مستقل و آنووا و متغيرهاي چوله با استفاده از آزمون من ويتني و کراسکال واليس و متغيرهاي کيفي با استفاده از آزمون کاي دو بررسي شد. آزمون رگرسيون لجستيک براي تخمين نسبت شانس (OR) ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242 با NAFLD استفاده شد. سطح معني‌داري مقدار P-value<0.05 در نظر گرفته شد.

**يافته‌ها**

نتايج حاصل از واکنش زنجيره‌اي پليمراز- تترا آرمز براي تعيين ژنوتيپ پلي‌مورفيسم rs2236242 در شکل 1 آمده است. ستون M مربوط به مارکر با لدر bp 100 است، در اين ژل باند کنترل با طول bp374، آلل T با طول bp174 و آلل A با bp 248 نشان داده شده است. ژنوتيپ TT داراي دو باند با طول‌هاي bp374 و bp174 و ژنوتيپ TA با سه باند با طول‌هاي bp374، bp174 و bp248 و ژنوتيپ AA با دو باند با طول‌هاي bp374 و bp248 مشخص شده است که ژنوتيپ AA در مطالعه حاضر يافت نشد.

پژوهش حاضر بر روي 150 داوطلب انجام شد که 75 فرد شرکت‌کننده مبتلا به کبد چرب غيرالکلي و 75 نفر سالم بودند. در افراد موردمطالعه متغيرهاي باليني و تن‌سنجي اندازه‌گيري شد که يافته‌ها در جدول 2 آمده است. نتايج نشان داد سطح واسپين بين افراد بيمار و سالم تفاوت معني‌دار ندارد. سطح سرمي تري‌گليسريد، انسولين، مقاومت به انسولين، AST، ALT و نمايه توده بدني در افراد بيمار بالاتر و سطح HDL-C پايين‌تر از افراد سالم بود. تفاوتي در سطح کلسترول، قند خون ناشتا و LDL-C بين گروه سالم و بيمار يافت نشد. پارامترها با 05/0> p-value قابل استناد است.

**شکل (1):** ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242 با استفاده از واکنش زنجيره‌اي پليمراز –تترا آرمز

**جدول (2):** ويژگي‌هاي افراد موردبررسي به تفکيک وجود يا عدم وجود بيماري کبد چرب

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **متغير کمي** | | **کبد چرب (75n=)** | **سالم (75n=)** | **P-value** |
| جنسيت (مرد/ زن) | 42/33 | | 29/46 | \*041/0 |
| سن (سال) | 7/9±4/44 | | 5/8±4/35 | \*001/0< |
| BMI(کيلوگرم بر مترمربع) | 6/4±8/28 | | 9/2±6/23 | \*001/0< |
| HDL(ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | 7/12±3/35 | | 1/13±8/48 | \*001/0< |
| LDL(ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | 9/30±8/93 | | 6/22±1/89 | 267/0 |
| کلسترول (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | 5/43±3/170 | | 25±7/165 | 414/0 |
| تري‌گليسريد (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | 42±3/115 | | 2/23±3/104 | \*001/0< |
| قند ناشتا (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | 8/13±1/92 | | 0/8±1/92 | 983/0 |
| انسولين (ميلي يونيت بر ليتر) | 2/34±0/23 | | 7/11±8/11 | \*003/0< |
| واسپين (نانوگرم بر ميلي‌ليتر) | 1/12±3/14 | | 5/11±8/22 | 268/0 |
| AST (IU/ L) | 2/8±5/26 | | 5/4±8/16 | \*001/0< |
| ALT (IU/ L) | 9/16±1/35 | | 0/8±1/18 | \*001/0< |

براي مقايسه ميانگين داده‌هاي نرمال از t مستقل و داده‌هاي غير نرمال از آزمون من ويتني استفاده شد.

\*سطح معني‌داري (05/0> p) در نظر گرفته شد.

متغيرهاي بيوشيميايي براي افراد سالم و بيمار به تفکيک ژنوتيپ‌ها موردبررسي قرار گرفت، در مطالعه حاضر ژنوتيپ AA يافت نشد. نتايج نشان داد سطح واسپين بين حاملين ژنوتيپ TT و TA تفاوت دارد اما معني‌دار نيست (073/0=P-value)، در ساير متغيرها بين حاملين ژنوتيپ‌هاي rs2236242 در افراد سالم اختلاف معني‌دار مشاهده نشد. در افراد بيمار تفاوت در سطح کلسترول بين حاملين ژنوتيپ TT و TA يافت شد که معني‌دار نبود (05/0=P-value). در ساير متغيرها تفاوت معني‌دار بين ژنوتيپ‌هاي rs2236242 در افراد بيمار يافت نشد (جدول 3).

**جدول (3):** توزيع فراواني افراد بيمار بررسي در هر ژنوتيپ rs2236242 در گروه بيمار و شاهد

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **متغير کمي** | | **TT** | **TA** | **P-value** |
| سن  (سال) | شاهد | 2/8±4/33 | 6/7±6/39 | 003/0 |
| بيمار | 67/9±2/43 | 8/9±8/45 | 267/0 |
| نمايه توده بدني  (کيلوگرم بر مترمربع) | شاهد | 1/3±7/23 | 9/2±6/23 | 913/0 |
| بيمار | 2/5±9/28 | 3/4±1/29 | 929/0 |
| HDL  (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | شاهد | 9/11±1/47 | 6/10±7/48 | 591/0 |
| بيمار | 3/12±8/35 | 9/13±2/35 | 823/0 |
| LDL  (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | شاهد | 1/25±1/91 | 8/17±9/85 | 380/0 |
| بيمار | 2/32±5/92 | 2/30±4/96 | 600/0 |
| کلسترول  (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | شاهد | 4/26±7/163 | 9/23±1/169 | 404/0 |
| بيمار | 5/47±2/161 | 7/37±7/181 | 050/0 |
| تري گليسريد  (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | شاهد | (7/120-2/63) 77 | (124-68) 91 | 462/0 |
| بيمار | (5/177-96) 111 | (2/196-103) 134 | 236/0 |
| قند ناشتا  (ميلي‌گرم بر دسي ليتر) | شاهد | 6/6±0/92 | 3/10±7/90 | 576/0 |
| بيمار | 1/12±4/92 | 7/16±38/90 | 585/0 |
| انسولين  (ميلي يونيت بر ليتر) | شاهد | (0/14-5/5) 22/9 | (60/14-2/6) 4/9 | 832/0 |
| بيمار | (2/22-3/6) 4/12 | (3/19-4/7) 9/12 | 545/0 |
| واسپين  (نانوگرم بر ميلي‌ليتر) | شاهد | (8/1-50/0) 0/1 | (9/1-1/1) 6/1 | 073/0 |
| بيمار | (6/1-0/1) 43/1 | (7/1-0/1) 5/1 | 610/0 |
| AST (IU/ L) | شاهد | 9/3±7/16 | 7/5±0/17 | 773/0 |
| بيمار | 2/8±6/25 | 3/8±3/27 | 381/0 |
| ALT (IU/ L) | شاهد | 8/7±5/18 | 5/8±4/17 | 574/0 |
|  | بيمار | 9/16±3/35 | 9/16±1/34 | 781/0 |

**جدول (4):** تحليل رگرسيوني ژنوتيپ‌ها در افراد سالم و مبتلا به کبد چرب غيرالکلي

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **rs2236242** | **طبقه** | **بيمار** | **سالم** | **P-value** | **OR (95%CI)** |
| Unadjusted |  |  |  |  |  |
|  | TT | (2/56)41 | (3/69)52 | 099/0 | (11/1-29/0) 57/0 |
|  | TA | (8/43)32 | (7/30)23 | 099/0 | (46/3-90/0) 76/1 |
| Adjusted |  |  |  |  |  |
|  | TT | (2/56)41 | (3/69)52 | 905/0 | (67/2-42/0) 06/1 |
|  | TA | (8/43)32 | (7/30)23 | 905/0 | (39/2-37/0) 94/0 |

تعديل‌شده براي سن و نمايه توده بدني

جدول 4 نشان مي‌دهد تعداد افراد بيمار حامل ژنوتيپ TA بيشتر از افراد سالم است. اما اين اختلاف معني‌دار نيست. همچنين جدول نشان مي‌دهد که تعداد افراد سالم با ژنوتيپ TT بيشتر از افراد بيمار است که اختلاف معني‌دار نيست.

جدول 5 نشان مي‌دهد که تفاوت معني‌دار در توزيع ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين، در افراد حساس به انسولين (HOMA<2.42)، مقاوم به انسولين بينابيني (2/42≤ HOMA<3.59) و مقاوم به انسولين (HOMA≥3.59) وجود ندارد و اين پلي‌مورفيسم با مقاومت به انسولين ارتباط ندارد.

**جدول (5):** توزيع ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم در گروه‌هاي HOMA

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| ژنوتيپ | مقاوم به انسولين  HOMA≥3.59 | مقاوم به انسولين بينابيني  2/42≤ HOMA<3.59 | حساس به انسولين  HOMA<2.42 | P-value |
| TT | (1/56)23 | (9/67)19 | (4/65)51 | 519/0 |
| TA | (9/43)18 | (1/32)9 | (6/34)27 |  |

**بحث و نتيجه گيري**

شيوع NAFLD به‌سرعت در حال افزايش است. NAFLD مي‌تواند باعث ايجاد سيروز، کارسينوم کبدي، بيماري قلبي عروقي و ديابت نوع 2 شود (3). اما هنوز هيچ روش مؤثري براي تشخيص زودهنگام آن وجود ندارد (6). در مطالعه حاضر تفاوتي در سطح واسپين بين افراد سالم و بيماران مبتلا به NAFLD مشاهده نشد، همچنين اختلاف معني‌داري در سطح واسپين بين ژنوتيپ‌هاي TT, TA پلي‌مورفيسم rs2236242 در افراد سالم و بيمار يافت نشد. ارتباط پلي‌مورفيسم rs2236242 با کبد چرب و مقاومت به انسولين بررسي شد که تفاوت معني‌داري مشاهده نشد. در مطالعه متاآناليز Zhu و همکاران (900 بيمار مبتلا به کبد چرب و 669 فرد سالم)، مشابه نتايج ما هيچ ارتباط معني‌داري بين سطوح سرمي واسپين با بيماري کبد چرب غيرالکلي يافت نشد (6). همچنين در مطالعه مورد-شاهدي، منتظري فر و همکاران که بر روي 41 بيمار مبتلا به NAFLD و 41 داوطلب سالم در کلينيک بيماران سرپايي بيمارستان امام علي زاهدان انجام شد ارتباطي بين سطوح سرمي واسپين کبد چرب يافت نشد (20). برخلاف نتايج ما در مطالعات Byoumy و Yusuf Yilmaz و همکاران سطح سرمي واسپين در بيماران مبتلا به NAFLD به‌طور قابل‌توجهي بالاتر از گروه کنترل بود (22، 21) که اين محققان واسپين را مناسب‌ترين بيومارکر غيرتهاجمي در پيش‌بيني محتواي چربي داخل کبدي در افراد مبتلا به NAFLD گزارش کردند (21). مطالعاتي که در افراد چاق و بيماران ديابتي (23) و افراد مبتلا به سندرم تخمدان پلي کيستيک (PCOS) انجام شد سطح سرمي واسپين بيشتري در افراد بيمار در مقايسه با افراد سالم مشاهده شد (24). اما لين و همکاران تفاوت معني‌داري را در سطح واسپين بين بيماران غير چاق مبتلا به PCOS و گروه سالم غير چاق مشاهده نکردند (25). در مطالعه حاضر ارتباطي بين سطح واسپين و ژنوتيپ‌ها پلي‌مورفيسم rs2236242 در ژن واسپين يافت نشد که اين نتايج با تحقيق Alnory و همکاران مطابقت دارد (27). اما برخلاف نتايج ما ارتباط معني‌داري بين ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242 با سطح واسپين در مطالعه Abdehamid و همکاران در جمعيت مصر يافت نشد (28). محققان يکي از علل اصلي نتايج متفاوت پژوهش‌ها بر روي واسپين و کبد چرب غيرالکلي را سابقه بيماري و مصرف دارو (26) روش‌هاي اندازه‌گيري استفاده‌شده در مطالعات مختلف و کيت‌هاي آزمايشي استفاده‌شده از توليدکنندگان مختلف، شرکت داوطلبان با درجات مختلف کبد چرب غير الکي (خفيف، متوسط و شديد)، تعداد متفاوت افراد در زيرگروه‌هاي NAFLD، جنسيت، BMI (6)، قوميت‌هاي مختلف گروه‌هاي موردمطالعه، حجم و سايز جمعيت موردمطالعه گزارش کردند (27).

Kempf و همکاران ارتباط پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين و ديابت نوع 2 را بررسي کردند. نتايج تحقيقات آن‌ها نشان داد ژنوتيپ AA پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين در مقايسه با ژنوتيپ TT خطر ابتلا به ديابت نوع 2 را افزايش مي‌دهد. در اين مطالعه خطر ابتلا به ديابت نوع 2 در بيماراني که براي آلل A پلي‌مورفيسم rs2236242 هموزيگوت بودند، 2.33 برابر افزايش يافته بود (29). نتايج به‌دست‌آمده توسط عبدالغني و همکاران. نقش محافظتي واسپين را در چاقي نشان داده است. آنان گزارش کردند آلل A پلي‌مورفيسم واسپين rs2236242 نقش محافظتي در برابر چاقي و ديابت دارد (30). در بيماران مبتلا به سرطان پستان فراواني ژنوتيپ TA پلي‌مورفيسم rs2236242 در بيماران مبتلا به سرطان پستان بيشتر از **TT** بود و ارتباط معني‌داري بين بروز سرطان پستان با ژنوتيپ TA يافت شد (15). در يک مطالعه متاآناليز ارتباطي بين rs2236242 و T2DM يافت نشد، اما فراواني آلل A به‌طور قابل‌توجهي در گروه کنترل چاقي بيشتر بود و نتايج نشان داد اين پلي‌مورفيسم تک نوکلئوتيدي (SNP) موجب کاهش خطر چاقي مي‌شود (12). در مطالعه کهن و همکاران **ژنوتيپ TT در پلي‌مورفيسم**rs2236242**ژن واسپين با افزايش استعداد اضافه‌وزن و چاقي در زنان همراه بود و ارتباط معني‌داري بين پلي‌مورفيسم**rs2236242**در ژن واسپين، با اضافه‌وزن و چاقي در زنان ايراني مشاهده شد (19).** در تحقيق ترکي و همکاران ژنوتيپ‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين با سطح واسپين ارتباط نداشت. اما فراواني ژنوتيپ‌ها و آلل‌هاي پلي‌مورفيسم rs2236242 در گروه‌هاي PTC و MNG نسبت به گروه کنترل تفاوت معني‌دار داشت و پلي‌مورفيسم rs2236242 به‌عنوان يک نشانگر سرطان تيروئيد پاپيلاري شناخته شد و آلل A نقش محافظتي در برابر PTC و MNG نشان داد (13). همچنين در جمعيت زاهدان، پلي‌مورفيسم rs2236242 واسپين نقش محافظتي در برابر MeS نشان داد (14). پژوهش حاضر اطلاعات جديدي را در ارتباط با پلي‌مورفيسم rs2236242 واسپين با بيماري کبد چرب کبد غيرالکلي ارائه کرده است، اما محدوديت‌هايي در پژوهش حاضر وجود داشته ازجمله تعداد کم افراد موردبررسي در پژوهش حاضر، محدوديت مالي، عدم انجام بيوپسي و شناسايي افراد مبتلا با استفاده سونوگرافي که بر تعميم نتايج مطالعه تأثيرگذار است. بنابراين، پيشنهاد مي‌شود مطالعات بيشتر و با حجم نمونه بيشتر براي روشن شدن ارتباط اين آديپوکين و پلي‌مورفيسم rs2236242 ژن واسپين با NAFLD براي شناسايي و رديابي درمان کبد چرب غيرالکلي انجام شود.

**تشکر و قدرداني:**

بدين‌وسيله مراتب سپاس و قدرداني خود را از متخصصين کبد و گوارش بيمارستان بوعلي براي جمع‌آوري نمونه‌ها و از کارشناسان عزيز پژوهشگاه غدد دانشگاه شهيد بهشتي جهت بررسي پارامترهاي بيوشيميايي و ژنتيکي اعلام مي‌نمايم.

**حمايت مالي تحقيق:**

ندارد.

**تضاد منافع:**

نويسندگان اين مقاله اعلام مي‌دارند که هيچ تضاد منافع مرتبط با نگارش و انتشار اين مقاله ندارند.

**ملاحظات اخلاقي:**

اين مطالعه داراي کد اخلاق از دانشکده پزشکي دانشگاه آزاد اسلامي تهران به شماره IR.IAU.TMU.REC.1396.287 است.

1. Kounatidis D, Vallianou NG, Geladari E, Panoilia MP, Daskou A, Stratigou T, et al. NAFLD in the 21st Century: Current Knowledge Regarding Its Pathogenesis, Diagnosis and Therapeutics. Biomedicines 2024; 12(4):826 https://doi.org/10.3390/biomedicines12040826
2. Younossi ZM, Golabi P, Paik JM, Henry A, Van Dongen C, Henry L. The global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic steatohepatitis (NASH): a systematic review. Hepatology 2023; 77(4):1335-47 https://doi.org/10.1097/HEP.0000000000000004
3. Habibullah M, Jemmieh K, Ouda A, Haider MZ, Malki MI, Elzouki AN. Metabolic-associated fatty liver disease: A selective review of pathogenesis, diagnostic approaches, and therapeutic strategies. Front Med 2024; 11:1291501 https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1291501
4. Genua I, Cusi K. Pharmacological approaches to nonalcoholic fatty liver disease: current and future therapies. Diabetes Spectr 2024; 37(1):48-58 https://doi.org/10.2337/dsi23-0012
5. Matsubayashi Y, Fujihara K, Yamada-Harada M, Mitsuma Y, Sato T, Yaguchi Y, et al. Impact of metabolic syndrome and metabolic dysfunction-associated fatty liver disease on cardiovascular risk by the presence or absence of type 2 diabetes and according to sex. Cardiovasc Diabetol 2022; 21(1):90 https://doi.org/10.1186/s12933-022-01518-4
6. Zhu Y, Ke Y, Hu Y, Wu K, Liu S, Hu J. Association of circulating vaspin levels and patients with metabolic-associated fatty liver disease: a systematic review and meta-analysis. Lipids Health Dis 2022; 21(1):57 https://doi.org/10.1186/s12944-022-01658-2
7. Esteghamati A, Noshad S, Mousavizadeh M, Zandieh A, Nakhjavani M. Association of Vaspin with Metabolic Syndrome: The Pivotal Role of Insulin Resistance. Diabetes Metab J 2014; 38:143-9 https://doi.org/10.4093/dmj.2014.38.2.143
8. Jakubek-Kipa K, Galiniak S, Mazur A. Progranulin and Vaspin as Potential Novel Markers in the Etiology of Type 1 Diabetes in Children. Medicina 2024; 60(7):1165 https://doi.org/10.3390/medicina60071165
9. Rui H, Yu H, Zou D, Chi K, Xu P, Song X, et al. Vaspin alleviates pathological cardiac hypertrophy by regulating autophagy-dependent myocardial senescence. Emerg Crit Care Med 2024; 4(1):4-15 https://doi.org/10.1097/EC9.0000000000000097
10. Shilpa A, Prasanna JS. A comparative evaluation of adipokine VASPIN in female obese and non-obese subjects with periodontitis and health. J Oral Res Rev 2024; 16(1):21-7 https://doi.org/10.4103/jorr.jorr\_34\_23
11. Pilarski Ł, Pelczyńska M, Koperska A, Seraszek-Jaros A, Szulińska M, Bogdański P. Association of serum vaspin concentration with metabolic disorders in obese individuals. Biomolecules 2023; 13(3):508 https://doi.org/10.3390/biom13030508
12. Zain SM, Pung YF, Mohamed R. Association of vaspin rs2236242 with type 2 diabetes mellitus and obesity: a meta-analysis of case-control studies. J Diabetes Metab Disord 2023; 22(1):237-43 https://doi.org/10.1007/s40200-022-01119-8
13. Torki S, Nezhadali M, Hedayati M, Karimi H, Razavi SA, Najd Hassan Bonab L. The role of rs2236242 at SERPINA12 gene and vaspin level on papillary thyroid carcinoma. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids 2024:1-12 https://doi.org/10.1080/15257770.2024.2354427
14. Hashemi M, Rezaei H, Eskandari-Nasab E, Zakeri Z, Taheri M. Association between chemerin rs17173608 and vaspin rs2236242 gene polymorphisms and the metabolic syndrome, a preliminary report. Gene 2012; 510(2):113-7 https://doi.org/10.1016/j.gene.2012.08.048
15. Asal DM, Mesbah NM, Abo-Elmatty DM, Fathy H, Abdel-Hamed AR. Association of vaspin rs2236242 and Val109Asp omentin genes polymorphism and their serum levels with increased risk of breast cancer. Meta Gene 2022; 31:101016 https://doi.org/10.1016/j.mgene.2022.101016
16. Hosseini M, Nezhadali M, Hedayati M. Association of vaspin rs2236242 gene polymorphism with serum vaspin level, insulin resistance and diabetes in an Iranian diabetic/pre-diabetic population. J Med Biochem 2021; 40(1):33 https://doi.org/10.5937/jomb0-24671
17. Ehtesham R, Hedayati M. Correlation of vaspin levels with anthropometric and biochemical parameters in patients with Non-alcoholic fatty liver disease in an Iranian population. Yafteh 2021; 23(3)
18. Bahar A, Azizi F. Insulin Resistance and Cell Function in Patients E with Chronic Hepatitis and Impaired Glucose Tolerance. Int J Endocrinol Metab 2007; 4: 125-33
19. Zarei A, Kohan L, Fallahi S. Association of vaspin rs2236242 gene polymorphism with overweight and obesity in Iranian women. Iran J Endocrinol Metab 2014; 16(1):20-5
20. Montazerifar F, Bakhshipour ARR, Karajibani M, Torki Z, Dashipour AR. Serum omentin-1, vaspin, and apelin levels and central obesity in patients with nonalcoholic fatty liver disease. J Res Med Sci 2017; 22: 70 https://doi.org/10.4103/jrms.JRMS\_788\_16
21. Byoumy EM, Sayed MM, El-Rahman SA, Al-Nakib SA, Salama MM, Mohamed MG. Relationship of serum vaspin, nafld fibrosis score to ultrasonographic detection and quantification of steatosis in nonalcoholic fatty liver disease patients. QJM 2021; 114(Supplement\_1):hcab100-22 https://doi.org/10.1093/qjmed/hcab100.122
22. Yilmaz Y, Kurt R, Gurdal A, Alahdab YO, Yonal O, Senates E, et al. Circulating vaspin levels and epicardial adipose tissue thickness are associated with impaired coronary flow reserve in patients with nonalcoholic fatty liver disease. Atherosclerosis 2011; 217(1):125-9 https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2011.03.026
23. Feng R, Li Y, Wang C, Luo C, Liu L, Chuo F, et al. Higher vaspin levels in subjects with obesity and type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis. Diabetes Res Clin Pract 2014; 106:88-94 https://doi.org/10.1016/j.diabres.2014.07.026
24. Mehrabani S, Arab A, Karimi E, Nouri M, Mansourian M. Blood circulating levels of Adipokines in polycystic ovary syndrome patients: a systematic review and Meta-analysis. Reprod Sci 2021; 28:3032-50 https://doi.org/10.1007/s43032-021-00709-w
25. Lin K, Sun X, Wang X, Wang H, Chen X. Circulating Adipokine levels in nonobese women with polycystic ovary syndrome and in nonobese control women: a systematic review and Meta-analysis. Front Endocrinol 2020; 11:537809 https://doi.org/10.3389/fendo.2020.537809
26. Fenga RN, Wang C, Sun CH, Guo FC, Zhao C, Li Y. Vaspin in newly and previously diagnosed Chinese type 2 diabetic females: a case-control study. Asian Biomed 2011; 5 (4): 525-9 https://doi.org/10.5372/1905-7415.0504.069
27. Alnory A, Gad H, Hegazy G, Shaker O. The association of vaspin rs2236242 and leptin rs7799039 polymorphism with metabolic syndrome in Egyptian women. Turk J Med Sci 2016; 46(5): 1335-40 https://doi.org/10.3906/sag-1502-138
28. Abdelhamid AM, Zaafan MA. Association of chemerin rs17173608 and vaspin rs2236242 polymorphisms with type two diabetes mellitus and its impact on their corresponding serum levels in Egyptian population. Ideas 2019; 15(3): 1-6 https://doi.org/10.26717/BJSTR.2019.15.002694
29. Kempf K, Rose B, Illig T, Rathmann W, Strassburger K, Thorand B, et al. Vaspin (SERPINA12) genotypes and risk of type 2 diabetes: results from the MONICA/KORA studies. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2010; 118(03): 184-9 https://doi.org/10.1055/s-2008-1081499
30. Abdel Ghany SM, Sayed AA, El-deek SEM, Elbadre HM, Dahpy MA, Saleh MA, et al. Obesity risk prediction among women of Upper Egypt: the impact of serum vaspin and vaspin rs2236242 gene polymorphism. Gene 2017; 626: 140-8 https://doi.org/10.1016/j.gene.2017.05.007

Association of vaspin rs2236242 gene polymorphism with non-alcoholic fatty liver disease

Roghayeh Ehtesham\*1, Masoumeh Nezhadali\*[[5]](#footnote-5), [[6]](#footnote-6)

***Received: 29 October, 2024; Accepted: 14 December, 2024***

Abstract

***Background & Aims:*** Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is the most common liver disease and a major public health problem worldwide. NAFLD has been steadily increasing in prevalence and is associated with serious complications such as cirrhosis and hepatocellular carcinoma, It is also linked to insulin resistance syndrome and cardiovascular diseases. In this study, the association of vaspin rs2236242 gene polymorphism with NAFLD is investigated.

***Materials & Methods:*** The case-control study (random sampling) was conducted on 150 participants, includes 75 participants with non-alcoholic fatty liver diseases as cases and 75 participants as normal group. Participants with a history of alcohol consumption, metabolic disorders or other liver diseases were excluded from the study. The serum vaspin and insulin were measured by ELISA kit and other variables by standard method. Determining the genotypes of rs2236242 was done using the tetra arms polymerase chain reaction. Statistical analysis was performed using SPSS software version 20.

***Results:*** There was no significant difference in vaspin levels in the patients with NAFLD compared with healthy individuals (p ≥0.05). The levels of any of the variables in healthy individuals and patients for GG, AG, and AA genotypes were not significantly different. There was no a significant relationship between rs2236242polymorphism and insulin resistance. No association was found between this polymorphism and NAFLD (p ≥0.05).

***Conclusion*:** The findings showed that there is no relationship between rs2236242 polymorphism with vaspin levels, insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease. However, limitations such as the limited sample size and the use of ultrasound affect the generalizability of the findings.

***Keywords:*** vaspin, Non-alcoholic fatty liver, Insulin resistance index

***Address***: Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran

***Tel***: +989123875493

***Email:*** ma\_nejadali@yahoo.com

SOURCE: STUD MED SCI 2024: 35(8): 661 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License](http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

1. 1 گروه زيست شناسي، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامي، اسلامشهر، ايران (نويسنده مسئول) [↑](#footnote-ref-1)
2. 2 گروه زيست شناسي، واحد اسلامشهر، دانشگاه آزاد اسلامي، اسلامشهر، ايران (نويسنده مسئول) [↑](#footnote-ref-2)
3. 3 مرکز تحقيقات سلولي و مولکولي غدد درون ريز، پژوهشکده علوم غدد درون ريزو متابوليسم، دانشگاه علوم پزشکي شهيد بهشتي، تهران [↑](#footnote-ref-3)
4. Non-alcoholic fatty liver disease [↑](#footnote-ref-4)
5. *1 Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran(Corresponding Author)*

   *1 Department of Biology, Islamshahr Branch, Islamic Azad University, Islamshahr, Iran(Corresponding Author)* [↑](#footnote-ref-5)
6. Cellular and Molecular Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran. [↑](#footnote-ref-6)