ارتباط پلی‌مورفیسم G894T ژن نیتریک‌اکسید سنتاز اندوتلیال با دیابت نوع دو و نفروپاتی دیابتی

عظیم ادیب‌منش،[1] نرگس محمد تقوایی،[2] مهرنوش ذاکرکیش،[3] حمید یاقوتی[1*]

۱- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۲- مرکز تحقیقات هایپرلیپیدمی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.
۳- گروه غدد درون‌ریز و متابولیسم، مرکز تحقیقات دیابت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران.

*نویسنده مسئول: اهواز، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات هایپرلیپیدمی.
تلفن: ۳۳۷۳۸۲۵۳-۰۶۱
E-mail: hmdyaghooti@gmail.com

چکیده

دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۰۲ ویرایش: ۱۳۹۸/۰۶/۱۰ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۰ آنلاین: ۱۳۹۸/۱۲/۲۸

زمینه و هدف: نیتریک‌اکساید به‌وسیله Endothelial nitric oxide synthase (eNOS) تولید می‌شود. اختلال در تولید نیتریک‌اکساید باعث ایجاد عوارض دیابت نوع دو می‌شود. مطالعه حاضر، اثر پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS را بر روی دیابت نوع دو و نفروپاتی دیابتی بررسی می‌کند.

روش بررسی: این مطالعه مورد-شاهدی از شهریور ۱۳۹۵ تا آذر ۱۳۹٦ در درمانگاه تخصصی دیابت بیمارستان گلستان شهر اهواز انجام شد. گروه شاهد بدون سابقه ابتلا به دیابت و بیماری‌های التهابی و متابولیکی بود. گروه مورد دیابت نوع دو پس از گذشت ۱۰ سال هیچگونه عوارض عروق کوچک را نشان نداد.گروه مورد نفروپاتی در دو نوبت مراجعه متوالی، آلبومین‌اوری غیرنرمال را نشان داد. معیار خروج افراد از مطالعه دارا بودن بیماری‌های خاص، انجام دیالیز و پیوند کلیه بود. ژنوتیپ پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS با استفاده از روش Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) تعیین گردید.

یافته‌ها: فراوانی بیشتر آلل جهش یافته T، ژنوتیپ هموزیگوت TT و سطوح بالاتر پارامترهای بیوشیمیایی (مانند نیتروژن اوره خون و قندخون ناشتا) در بیماران دیابتی در مقایسه با گروه شاهد مشاهده شد باوجود ارتباط معنادار بین پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS و دیابت نوع دو، رابطه معناداری با نفروپاتی دیابتی و دیابت نوع دو حاصل نشد. مقادیر نسبت شانس برای نفروپاتی دیابتی به‌میزان ۱/۱ (P=۰/۷٦) و ۰/۸ (P=۰/٦) به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه تاییدکننده ارتباط معنادار آلل T و ژنوتیپ TT پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS با استعداد به بیماری دیابت نوع دو و عدم ارتباط آن با نفروپاتی دیابتی بود.

کلمات کلیدی: پژوهش‌های مورد-شاهدی، نفروپاتی دیابتی، ژن‌ها، نیتریک‌اکساید سنتاز، پلی‌مورفیسم، دیابت نوع دو.

مقدمه

دیابت نوع دو به‌دلیل مقاومت به انسولین و افزایش سطح گلوکز خون در پی عدم ایجاد پاسخ مناسب به غلظت‌های غیرمعمول گلوکز و نقص در عملکرد سلول‌های بتا پانکراس رخ می‌دهد.[1] نفروپاتی دیابتی یکی از مهمترین عارضه‌های میکرووواسکولار دیابت نوع دو می‌باشد. پاتوفیزیولوژی نفروپاتی دیابتی به‌صورت افزایش فشارخون، آتروفی‌گلومرولی و میکروآلبومینوری به‌مدت بیش از یک سال بیان می‌شود.[2] شواهد محکم و قابل‌توجهی مربوط به نقص در عملکرد نیتریک‌اکساید سنتاز (NOS) و ارتباط آن با پیدایش علایم بالینی نفروپاتی دیابتی وجود دارد.[3و4] عملکردهای لایه اندوتلیال عروق به وسیله نیتریک‌اکساید (NO) کنترل می‌شود. NO اثر تحریکی توسط

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-03]

ترشح انسولین در سلول‌های بتا پانکراس و افزایش میزان کلسیم داخل سلول دارد.[۵] بیش‌ترین پلی‌مورفیسمی که در ژن eNOS در مطالعات بالینی مختلف مشاهده شده است، rs1799983 می‌باشد که بدین شرح است: یک جایگزینی 894G>T در اگزون ۷ که یک پلی‌مورفیسم تک‌نوکلئوتیدی است و منجر به تعویض Glu-Asp در کدون ۲۹۸ می‌شود.

همچنین، این ژن دارای دو آلل (T و G) و سه ژنوتایپ (Glu-Glu) GG، (Glu-Asp) GT و (Asp-Asp) TT می‌باشد. وجود پلی‌مورفیسم G894T موجب کم شدن فعالیت NOS می‌شود و می‌تواند در ایجاد دیابت نوع دو و نفروپاتی دیابتی نقش داشته باشد.[۶] هدف مطالعه حاضر بررسی پلی‌مورفیسم G894T و اندازه‌گیری فاکتورهای کارکرد کلیه در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو بود.

روش بررسی

مطالعه حاضر از نوع مورد–شاهدی بود و بر روی ۱۹۸ فرد مراجعه‌کننده به بیمارستان و درمانگاه تخصصی گلستان شهر اهواز انجام شد (تابستان ۱۳۹۵ تا پاییز ۱۳۹۶). همه افراد ساکن شهر اهواز و از نژاد عرب بودند که به سه گروه تقسیم شده‌اند: گروه اول شامل ٦٦ بیمار مبتلا به نفروپاتی دیابتی، گروه دوم شامل ٦٦ بیمار مبتلا به دیابت نوع دو به مدت بیش از ۱۰ سال ولی بدون علایم نفروپاتی دیابتی (آلبومینوری کم‌تر از mg/d ۳۰ به‌همراه کارکرد طبیعی کلیه) و گروه سوم شامل ٦٦ فرد به‌عنوان گروه کنترل، بدون سابقه فردی یا خانوادگی ابتلا به دیابت می‌باشند.[۷] دیابت و نفروپاتی دیابتی براساس معیارهای سازمان بهداشت جهانی تشخیص داده شده‌اند.[۸] بیماران مبتلا پرفشاری، الکلیسم و دارای سابقه خانوادگی ابتلا به بیماری‌های کلیوی نیز مستثنی شده‌اند. متغیرهای مورد بررسی در این مطالعه شامل ژنوتایپ‌ها و آلل‌های پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS، سن، جنس، قومیت، سابقه دیابت، پیشرفت دیابت و نفروپاتی دیابتی و پارامترهای بیوشیمیایی (مانند نیتروژن اوره خون، تری‌گلیسرید و قندخون ناشتا) بود. همچنین رضایت‌نامه آگاهانه جهت همکاری در این مطالعه توسط خود افراد تکمیل شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تایید شده و منطبق بر اصول بیانیه هلسینکی بود.[۹]

مقادیر شاخص توده بدنی پس از اندازه‌گیری وزن و قد محاسبه شد. قندخون ناشتا، نیتروژن اوره خون، کراتینین و آلبومین ادرار با استفاده از آنالایزر بیوشیمیایی (BT-300 Urine Analyzer, Changchun Better Biological Technology Co., China) و کیت‌های سنجش پارس آزمون و شناسایی ژنوتیپ‌های G894T ژن eNOS با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به‌روش هضم آنزیمی Polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) انجام شد. در این روش از آنزیم محدود کننده Ban II (TaKaRa Bio Inc., Otsu, Japan) و پرایمر مستقیم ′5 TCC CTG AGG GCA TGA GGC T-′3 و پرایمر غیرمستقیم ′5 TGA GGG TCA CAC AGG TTC CT-′3 استفاده شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از SPSS software, version 18 (IBM SPSS, Armonk, NY, USA) انجام شد. داده‌ها به‌صورت میانگین±انحراف‌استاندارد برای متغیرهای پیوسته در هر گروه ارایه شده‌اند. متغیرهای پیوسته برای گروه‌های بیمار و شاهد با استفاده از Independent t test و Mann-Whitney U test مقایسه شده‌اند. ژنوتیپ‌ها و فراوانی آلل در گروه‌ها با استفاده از Chi-square test مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفته‌اند. مقادیر نسبت شانس با فاصله اطمینان ۹۵٪ برای ارتباط بین متغیرهای ژنتیکی با دیابت و نفروپاتی دیابتی محاسبه شد. مقدار P<۰/۰۵ به لحاظ آماری معناداری لحاظ گردید.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر بین بیماران دیابتی (با و بدون نفروپاتی) و گروه شاهد از لحاظ پارامترهایی مانند شاخص توده بدنی، قندخون ناشتا، کراتینین و آلبومینوری تفاوت معناداری مشاهده شد. با بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها و فراوانی آلل‌ها با استفاده از Chi-square test مشخص شد که در هر دو گروه دیابتی در مقایسه با افراد سالم تفاوت معناداری وجود دارد (P≤۰/۰۵، جدول ۱). فراوانی آلل نادر T در گروه دیابتی به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود (٤٣/٦٪ در مقابل ٢٦/٥٪) (جدول ۲). مقادیر نسبت شانس برای ژنوتیپ هموزیگوت TT در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم ۳/۱ (P=۰/۰۱۲) و پس از تعدیل براساس سن، جنس و شاخص توده بدنی برابر با ۱/٦ (P=۰/۰۱) به‌دست آمد. همچنین نسبت شانس بالایی برای

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-03]

ژنوتیپ‌های TT/GT در مقابل ژنوتیپ هموزیگوت GG پس از تعدیل برای متغیرهای زمینه‌ای برای دیابت به میزان ۲/۷ به‌دست آمد (P=۰/۰۰۲).

برای تجزیه و تحلیل ارتباط پلی‌مورفیسم T/G rs1799983 با نفروپاتی دیابتی، توزیع ژنوتیپ و فراوانی آلل در زیر گروه‌های بیماران دیابتی با و بدون نفروپاتی بررسی شد. همانطور که

جدول ۱: ویژگی‌های دموگرافیک و سطوح پارامترهای بیوشیمیایی جمعیت‌های مورد مطالعه

متغیر	کنترل	دیابتی	P*
تعداد	٦٦	۱۳۲	–
مرد/زن	۳۸/۲۸	۵۳/۷۹	–
سن	۵۲±۸	۵۵±۸	۰/۱٤
مدت بیماری (سال)	–	۱۲±٤	–
نفروپاتی دیابتی، تعداد (٪)		٦٦(۵۰)	–
شاخص توده بدنی (kg/m^2)	۲٦/۹±٤/٦	۲۸/۷±٤/۹	۰/۰۱۵
قندخون ناشتا (mg/dl)	۸۷/۹±۷/۵	۲۲۷/۸±٦۹/۳	<۰/۰۰۱
قندخون گلیکوزیله (mmol)	٤/۸±۰/۵(۲۹±۵/۵)	۷/۹±۱/۲(٦۳±۱۳/۱)	<۰/۰۰۱
تری‌گلیسرید (mg/dl)	۱۷٤±٦۷	۱۸۲±۷۱	۰/۵۵۳
سرعت فیلتراسیون گلومرولی اندوتلیال (میلی‌لیتر، دقیقه/۱/۷۳ مترمربع)	۷۹/۵±۱٦/۸	۵۵/٤±۳۱/۹	<۰/۰۰۱
نیتروژن اوره خون (mg/dl)	۱۳/۲±۲/۳	۲۷±۱۷/۵	<۰/۰۰۱
کراتینین (mg/dl)	۰/۸۳±۰/۱۵	۱/۷۹±۱/۳۸	<۰/۰۰۱
آلبومینوری (mg/dl)	٦±۲	۲۲۵±۲٤٤	<۰/۰۰۱

تمام داده‌ها به‌صورت میانگین± انحراف‌معیار بیان شده‌اند. * آزمون آماری: Independent-samples t-test، P<۰/۰۵ معنادار در نظر گرفته شد.

جدول ۲: فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های ژن eNOS در گروه‌های کنترل و دیابتی

eNOS rs1799983T/G polymorphism	دیابت بدون نفروپاتی	نفروپاتی دیابتی	OR (CI٪۹۵)	P	Adjusted OR*(CI٪۹۵)	P
TT(٪)	۱۳(۱۹/۷)	۱۷(۲۵/۸)	۱/۱(۰/۲–۵/۹)	۰/۷٦	۱/۱(۰/۱–۷/۸)	۰/٦
TG(٪)	۳۱(٤۷)	۲٤(۳٦/٤)	۰/۷(۰/۱–۳/۵)	۰/۳٤	۰/۷(۰/۱–۳/۷)	۰/٤٦
GG(٪)	۲۲(۳۳/۳)	۲۵(۳۷/۹)	۱/۰(Ref)		۱/۰(Ref)	
غالب						
TT(٪)	۱۳(۱۹/۷)	۱۷(۲۵/۸)	۱/٤(۰/۳–٦/۲)	۰/٤	۱/٤٦(۰/۳–٦/۵)	۰/٤
GG+TG(٪)	۵۳(۸۰/۳)	٤۹(۷٤/۲)	۱/۰(Ref)		۱/۰(Ref)	
مغلوب						
TT+TG(٪)	٤٤(٦٦/۷)	٤۱(٦۲/۱)	۰/۸(۰/۱–٤/۷)	۰/٦	۰/۸۷(۰/۱–٤/۸)	۰/۷
GG(٪)	۲۲(۳۳/۳)	۲۵(۳۷/۹)	۱/۰(Ref)		۱/۰(Ref)	
آلل						
T(٪)	۵۷(٤۳/۲)	۵۸(٤۳/۹)				
G(٪)	۷۵(۵٦/۸)	۷٤(۵٦/۱)				

* مقادیر نسبت شانس تعدیل شده براساس متغیرهای سن، جنس و شاخص توده بدنی با آزمون Logistic regression، P<۰/۰۵ سطح معناداری در نظر گرفته شد.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-03]

جدول ۳: فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌های ژن eNOS بین بیماران دیابتی با و بدون نفروپاتی

eNOS rs1799983T/G polymorphism	کنترل	دیابتی	OR (CI٪۹۵)	P	Adjusted OR*(CI٪۹۵)	P
TT(٪)	۸(۱۲/۱)	۳۰(۲۲/۷)	۳/۱(۱/۷–۳/۶)	۰/۰۱۲	۱/۶۸(۲–۱۶–۱/۹۹)	۰/۰۱
TG(٪)	۱۹(۲۸/۸)	۵۵(۴۰/۷)	۲/۴(۱/۴–۲/۷)	۰/۰۱۱	۲/۴(۱/۴–۱۹/۸۷)	۰/۰۱۴
GG(٪)	۳۹(۵۹/۱	۴۷(۳۵/۶)	۱/۰(Ref)		۱/۰(Ref)	
غالب						
TT(٪)	۸(۱۲/۱)	۳۰(۲۲/۷)	۲/۱(۰/۴–۹۲/۶۹)	۰/۰۷۹	۲/۳(۰/۵–۹۵/۵۵)	۰/۰۶۴
GG+TG(٪)	۵۸(۸۷/۹)	۱۰۲(۷۷/۳)	۱/۰(Ref)		۱/۰(Ref)	
مغلوب						
TT+TG(٪)	۲۷(۴۰/۹)	۸۵(۶۴/۴)	۲/۶(۱/۴–۴/۸)	۰/۰۰۲	۲/۷(۱/۵–۴/۱)	۰/۰۰۲
GG(٪)	۳۹(۵۹/۱)	۴۷(۳۵/۶)	۱/۰(Ref)		۱/۰(Ref)	
آلل						
T(٪)	۳۵(۲۶/۵)	۱۱۵(۴۳/۶)				
G(٪)	۹۷(۷۳/۵)	۱۴۹(۵۶/۴)				

* مقادیر نسبت شانس تعدیل شده براساس متغیرهای سن، جنس و شاخص توده بدنی با آزمون Logistic regression، P<۰/۰۵ سطح معناداری در نظر گرفته شد.

در جدول ۳ نشان داده شده است، فراوانی ژنوتیپ TT و آلل نادر T در بیماران مبتلا به نفروپاتی نسبت به گروه دیابتی فاقد نفروپاتی بیش‌تر بود ولی این تفاوت به لحاظ آماری معنادار نبود (P=۰/۷۶). نسبت شانس برای ژنوتیپ هموزیگوت TT در بیماران دیابتی با نفروپاتی در مقایسه با بیماران دیابتی بدون نفروپاتی (پیش و پس از تعدیل برای سن، جنس، شاخص توده بدنی) به‌ترتیب ۱/۱ (P=۰/۷۶) و ۱/۱ (P=۰/۶) به‌دست آمد. نسبت شانس برای ژنوتیپ TT/GT نسبت به ژنوتیپ هموزیگوت GG نیز برای نفروپاتی دیابتی معنادار نبود (P=۰/۷). به‌منظور ارزیابی این پلی‌مورفیسم با کارکرد کلیه در کل افراد دیابتی نیز نسبت شانس برای ژنوتیپ هموزیگوت TT در ایجاد کاهش Epidermal growth factor receptor (EGFR) به زیر ۶۰ ml/min در گروه‌های دیابتی محاسبه گردید که با توجه به OR=۰/۸ ارتباط معناداری بین آن‌ها به‌دست نیامد.

بحث

در مطالعه حاضر نشان داده شد که اختلاف معناداری در آلل‌ها و ژنوتیپ‌های ژن eNOS بین گروه‌های کنترل و دیابتی (با و بدون نفروپاتی) وجود دارد. در تایید نتیجه به‌دست آمده، Shin، Bessa و همکارانشان با بررسی پلی‌مورفیسم این ژن، به‌ترتیب در جمعیت‌های کره‌ای و مصری نشان داده‌اند که فراوانی آلل T و ژنوتیپ GT در بیماران دیابتی نسبت به گروه کنترل بیش‌تر است و این دو عامل ممکن است باعث پیشرفت دیابت نوع دو به سمت ایجاد مرحله نهایی نارسایی کلیوی شوند.[۱۰و۱۱] مکانیسمی که باعث ایجاد ارتباط بین پلی‌مورفیسم این ژن و دیابت نوع دو می‌گردد به این صورت بیان می‌شود که NO در غلظت‌های میکرومولار از طریق مسیر تنظیمی اپی‌نفرین سبب تحریک ترشح انسولین می‌شود که همراه با کاهش برگشت‌پذیر پتانسیل غشایی میتوکندری و افزایش کلسیم سیتوزولی می‌باشد. شلاته‌کردن کلسیم داخل سلولی از تحریک ترشح انسولین به‌وسیله NO جلوگیری می‌کند، در نتیجه باعث غیرفعال شدن میتوکندری و تحریک ترشح انسولین می‌شود. در نتیجه نقص در تولید NO می‌تواند روند ترشح انسولین را دچار اختلال سازد.[۱۲] در این مطالعه تفاوت معناداری در فراوانی ژنوتیپ و آلل خطر در پلی‌مورفیسم G894T بین بیماران دیابتی با و بدون نفروپاتی مشاهده نشد. که ممکن است مربوط به عدم هماهنگی ژنوتایپ‌ها و آلل‌ها با جمعیت و نژادهای متفاوت باشد. همسو با این نتیجه، Makuc، Rippin و همکارانشان نتوانستند ارتباط بین پلی‌مورفیسم ژن eNOS و نفروپاتی دیابتی را در جمعیت قفقازی نشان دهند و نتایج آن‌ها

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-03]

نشان‌دهنده وجود عوامل مختلف تاثیرگذار بر این ارتباط است.[۱۳و۱۴] پلی‌مورفیسم G894T ایجاد شده در ژن eNOS از طریق دو مکانیسم عملکرد و فعالیت پروتیین نیتریک‌اکساید را تحت تاثیر قرار می‌دهد. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی G894T از طریق کنترل توزیع داخل سلولی و تعامل با پردازشگر پروتیین تجزیه‌کننده نیتریک‌اکساید، فعالیت eNOS را تنظیم می‌کند.[۱۵] مکانیسم دوم مربوط به وجود واریانت Asp298 (موجود در ناحیه کدکننده) که تولید قطعات پروتیینی پروتئولیتیک با تمایل برش متفاوت را تحریک می‌کند در نتیجه می‌تواند جهت ایجاد برش پروتئولیتیک مورد هدف قرار بگیرد.[۱۶] فراوانی آلل T در افراد غیردیابتی در مطالعه حاضر ۲۶/۵٪ بود، درحالی‌که به‌ترتیب در جمعیت‌های کره‌ای، عربستان و تونس ۳۹٪، ۳۲/۵٪ و ۳۲٪ بود. در این مطالعه، فراوانی آلل T در بیماران مبتلا به دیابت، ۴۹/۶٪ بود درحالی‌که میزان آن به‌ترتیب ۳۱٪، ۳۸/۷۵٪ و ۳۵٪ در جمعیت کره‌ای، عربستان و تونسی بود.[۷و۱۰و۱۱] نتایج این مطالعه تاییدکننده ارتباط معنادار آلل T و ژنوتیپ TT پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS با استعداد به بیماری دیابت نوع دو بود ولی ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم و کارکرد کلیه و نیز نفروپاتی دیابتی مشاهده نگردید. اگرچه اثر عملکردی NOS3 در نفروپاتی دیابتی توسط همه مطالعات تایید نشده است، نتایج مطالعه حاضر از این فرضیه پشتیبانی می‌کند که تغییر در عملکرد NOS احتمال ایجاد دیابت نوع دو را در افراد افزایش می‌دهد. با این حال مطالعات بیشتر بر روی جمعیت‌های متنوع‌تر و بزرگ‌تر جهت تقویت این فرضیه نیاز است. همچنین به‌منظور بررسی مسیر اثر پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS بهتر است سطح بیان این ژن در سلول‌های کلیوی مورد ارزیابی قرار بگیرد.

نتایج این مطالعه تاییدکننده ارتباط معنادار آلل T و ژنوتیپ TT پلی‌مورفیسم G894T ژن eNOS با استعداد به بیماری دیابت نوع دو بود ولی ارتباطی بین این پلی‌مورفیسم و کارکرد کلیه و نیز نفروپاتی دیابتی مشاهده نگردید.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم G894T ژن نیتریک‌اکسیدستاز اندوتلیال با دیابت نوع دو و نفروپاتی دیابتی" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۷ با کد مصوب شماره HLRC-9608 و کد اخلاق IR.AJUMS.REC.1396.223 می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز اجرا شده است.

References

1. Zheng Y, Ley SH, Hu FB. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nat Rev Endocrinol* 2018;14(2):88-98.
2. Schrijvers BF, De Vriese AS, Flyvbjerg A. From hyperglycemia to diabetic kidney disease: the role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. *Endocr Rev* 2004;25(6):971-1010.
3. Persson PB. Nitric oxide in the kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2002;283(5):R1005-7.
4. Prabhakar SS. Role of nitric oxide in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2004;24(4):333-44.
5. Rahman FU, Park DR, Joe Y, Jang KY, Chung HT, Kim UH. Critical roles of carbon monoxide and nitric oxide in Ca2+ signaling for insulin secretion in pancreatic islets. *Antioxid Redox Signal* 2019;30(4):560-76.
6. Zmijewski P, Cięszczyk P, Ahmetov II, Gronek P, Lulińska-Kuklik E, Dornowski M, et al. The NOS3 G894T (rs1799983) and-786T/C (rs2070744) polymorphisms are associated with elite swimmer status. *Biol Sport* 2018;35(4):313-9.
7. Mackawy AM, Khan AA, Badawy Mel-S. Association of the endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with the risk of diabetic nephropathy in Qassim region, Saudi Arabia-A pilot study. *Meta Gene* 2014;2:392-402.
8. Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet Med* 1998;15(7):539-53.
9. Schuklenk U. Helsinki Declaration revisions. *Issues Med Ethics* 2001;9(1):29.
10. Shin Shin Y, Baek SH, Chang KY, Park CW, Yang CW, Jin DC, et al. Relations between eNOS Glu298Asp polymorphism and progression of diabetic nephropathy. *Diabetes Res Clin Pract* 2004;65(3):257-65.
11. El-Din Bessa SS, Hamdy SM. Impact of nitric oxide synthase Glu298Asp polymorphism on the development of end-stage renal disease in type 2 diabetic Egyptian patients. *Ren Fail* 2011;33(9):878-84.
12. Laffranchi R, Gogvadze V, Richter C, Spinas GA. Nitric oxide (nitrogen monoxide, NO) stimulates insulin secretion by inducing calcium release from mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 1995;217(2):584-91.
13. Makuc J, Petrovic D. No association between NOS2 and NOS3 polymorphisms and diabetic nephropathy in type 2 diabetics. *Central Europ J Biol* 2012;7(3):404-10.
14. Rippin JD, Patel A, Belyaev ND, Gill GV, Barnett AH, Bain SC. Nitric oxide synthase gene polymorphisms and diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2003;46(3):426-8.
15. Brouet A, Sonveaux P, Dessy C, Balligand JL, Feron O. Hsp90 ensures the transition from the early Ca2+-dependent to the late phosphorylation-dependent activation of the endothelial nitric-oxide synthase in vascular endothelial growth factor-exposed endothelial cells. *J Biol Chem* 2001;276(35):32663-9.
16. Tesauro M, Thompson WC, Rogliani P, Qi L, Chaudhary PP, Moss J. Intracellular processing of endothelial nitric oxide synthase isoforms associated with differences in severity of cardiopulmonary diseases: cleavage of proteins with aspartate vs. glutamate at position 298. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(6):2832-5.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-03]

TUMJ Tehran University Medical Journal, March 2020; Vol. 77, No. 12: 729-734 Original Article

Association of endothelial nitric oxide synthase gene G894T polymorphism with type two diabetes and diabetic nephropathy

Azim Adibmanesh M.Sc.[1]
Narges Mohammad Taghvaei Ph.D.[2]
Mehrnoosh Zakerkish M.D.[3]
Hamid Yaghooti Ph.D.[1*]

1- Department of Medical Laboratory Scinces, School of Allied Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
2- Hyperlipidemia Research Center, School of Allied Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
3- Department of Endocrinology and Metabolism, Diabetes Research Center, School of Medicine, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.

[*] Corresponding author: Hyperlipidemia Research Center, School of Allied Medical Sciences, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran.
Tel: +98-61-33738253
E-mail: hmdyaghooti@gmail.com

Abstract

Received: 24 Aug. 2019 Revised: 01 Sep. 2019 Accepted: 10 Mar. 2020 Available online: 18 Mar. 2020

Background: Nitric oxide (NO) produced by endothelial NO synthase (eNOS) mediates a large range of processes, and abnormality in the production of NO has been implicated in diabetic complications including diabetic nephropathy (DN). G894T polymorphism in the eNOS gene has been shown to decreased activity the NO levels of plasma. The association between eNOS Glu298Asp gene polymorphism and DN risk is still controversial. The present study investigated the effect of eNOS gene G894T polymorphism on susceptibility to type 2 diabetes (T2D) and DN and measures of kidney function in a population with and without diabetes.

Methods: This case-control study was carried out at the diabetes specialist clinic of Golestan Hospital of Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Iran, from September 2016 to December 2017. The study comprised 132 patients with T2D (with and without nephropathy). They were compared to 66 normal subjects. The subjects were genotyped for the eNOS G894T polymorphism by the polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) method. Blood glucose, HbA1c, BUN, creatinine and urinary albumin were evaluated by a biochemistry analyzer.

Results: Higher prevalence of the mutant T allele and homozygous TT genotypes and biochemical parameters) like FBS, TG, and BUN) were seen in T2D patients compared to healthy subjects. For T2DM, the odds ratios (ORs) for the TT genotype and the T allele carrier were 3.1 (P=0.0001) and 2.6 (P=0.0001), respectively. In contrast to the significant association between the eNOS G894T polymorphism and T2D, we could not find a significant correlation to the DN. For DN, the ORs for the TT genotype and the T allele carrier were 1.1 (P=0.76) and 0.8 (P=0.6). For decreased epidermal growth factor receptor (EGFR) below 60 ml/min/ 1.73 m^2 in diabetic patients, the OR for TT was 0.8 (P=0.7).

Conclusion: Our results confirm that the risk of T allele and TT genotype of the eNOS G894T polymorphism were significantly associated with T2D, The TT genotype of this polymorphism also conferred the risk of developing T2D, but they were not correlated with DN and decreased eGFR.

Keywords: case-control studies, diabetic nephropathies, genes, nitric oxide synthase, polymorphism, type 2 diabetes.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2025-04-03]