

مطالعه سطح سرمی آدیپونکتین در زنان دیابتی نوع II و ارتباط آن با پروتئین واکنشگر C و هموگلوبین گلیکته شده

دکتر محمدتقی گودرزی*، حسین باباحمدی رضائی**، دکتر منیژه کدخدائی***، دکتر شهرام حدادی نژاد****

دریافت: ۸۵/۵/۳، پذیرش: ۸۵/۸/۱

چکیده:

مقدمه و هدف: آدیپونکتین یکی از آدیپوسیتوکین ها می باشد و از بافت چربی ترشح می شود. اخیراً مشخص شده است که نقش مهمی در هیپرکلسمیا و مکانیسم های التهابی دارد. مکانیسم هایی که می توانند ارتباط بین آدیپونکتین و مقاومت انسولین را توضیح دهند، هنوز مبهم باقی مانده اند هدف از این مطالعه مقایسه میزان آدیپونکتین، CRP، HbA_{1c} در زنان دیابتی و سالم و تعیین ارتباط بین آدیپونکتین با CRP و HbA_{1c} در دو گروه مورد مطالعه بود.

روش کار: این مطالعه موردی شاهدهی برای ارزیابی غلظت آدیپونکتین در دو گروه از زنان دیابتی و سالم انجام شد. غلظت آدیپونکتین و CRP سرم با روش ELISA در زنان دیابتی (n=۲۸) و زنان سالم (n=۴۲) اندازه گیری گردید. با استفاده از ضریب همبستگی اسپیرمن ارتباط بین آنها مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج: بعد از تطبیق دادن سن و BMI در دو گروه میزان آدیپونکتین در زنان دیابتی کمتر از زنان سالم بود (۱/۴۲ ± ۷/۲۹ در مقابل ۱۰/۲۹ ± ۱/۹۳ μg/ml) و این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود (P<۰/۰۱). همچنین ارتباط معکوس و معنی داری بین آدیپونکتین با CRP (r=-0.43, p=0.022) و با HbA_{1c} (r=-0.47, p=0.032) مشاهده شد. نتیجه نهایی: اطلاعات بدست آمده از این مطالعه کاهش سطح سرمی آدیپونکتین را در افراد دیابتی نوع ۲ مشخص می کند. همچنین یافته ها بیانگر خصوصیات ضد دیابتی و ضد التهابی آدیپونکتین می باشد.

آدیپونکتین / پروتئین واکنشگر C / دیابت نوع II / هموگلوبین گلیکته

مقدمه:

یکی از آدیپوسیتوکین هایی است که اثرات متابولیکی مهمی دارد (۳).

آدیپونکتین از دو دومن ساختاری مجزا تشکیل شده است: دومن فیروزی که شبیه کلاژن است و دومن گلبولار که شبیه c1q کمپلمان می باشد (۴). آدیپونکتین به ابر خانواده کلاژن محلول متعلق است و دارای ساختمان یکسان با کلاژن X، VII، و فاکتور C1q کمپلمان (۵) و خانواده TNF است. هر دو خانواده C1q و TNF نقش مهمی در التهاب و سیستم ایمنی بازی می کنند. مطالعات اخیر

بافت چربی که بیش از ۱۰٪ وزن بدن را تشکیل می دهد در حال حاضر نه فقط به عنوان منبعی از ذخیره انرژی بلکه همچنین به عنوان یک بافت فعال اندوکراین در نظر گرفته می شود (۱). عملاً بافت چربی چندین سیتوکین کنشگر (proactive) تولید می کند که آدیپوسیتوکین ها نامیده می شوند (۲). آدیپونکتین همچنین به نام های Acrop30، AdipoQ و GBP-28 معروف است. آدیپونکتین که اخیراً شناسایی شده است

* استاد گروه بیوشیمی و تغذیه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان (mtgoodarzi@yahoo.com)

** کارشناس ارشد بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی همدان

*** استادیار گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اهواز

**** استادیار گروه داخلی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان

پیشنهاد می کنند که آدیپونکتین ممکن است دارای خصوصیات ضدالتهابی و ضدآتروژنتیکی باشد.

مطالعاتی که در جمعیت Pima هندی صورت گرفته نشان داده است که افراد با سطح پایین تر آدیپونکتین در مقایسه با آنهایی که سطوح آدیپونکتین بالاتری دارند بیشتر احتمال گسترش دیابت نوع II را دارند (۶). اما رایان و همکارانش در سال ۲۰۰۳ در مطالعه ای که انجام دادند مشاهده کردند که میزان آدیپونکتین میان دو گروه دیابتی و کنترل تفاوت معنی داری ندارد (۷). در یک مطالعه ای که اوچی و همکارانش در سال ۲۰۰۳ انجام دادند ارتباط منفی معنی داری بین آدیپونکتین پلاسما و میزان hs-CRP مشاهده کردند ($r = -0.29$, $P < 0.01$). آنها با استفاده از quantitative Real time PCR نشان دادند که بافت چربی انسان mRNA CRP را بیان می کند و بطور جالب توجهی یافتند که ارتباط معکوسی بین میزان mRNA CRP و آدیپونکتین در بافت چربی انسان وجود دارد (۸).

همچنین اسپرانگر و همکارانش به منظور بررسی اینکه آیا غلظت آدیپونکتین در پلاسما بطور مستقل با ریسک دیابت نوع ۲ ارتباط دارد یا خیر، یک مطالعه موردی - شاهدهی را انجام دادند و مشاهده کردند که غلظت بالای آدیپونکتین با کاهش نسبی ریسک دیابت نوع ۲ مرتبط است (۹).

در مطالعه دیگری که توسط وینزر و همکارانش در سال ۲۰۰۴ انجام شد آنها به بررسی میزان آدیپونکتین در زنانی پرداختند که در هنگام حاملگی دچار دیابت حاملگی شده بودند و پس از تحقیقات خود متوجه شدند که زنان با دیابت حاملگی دارای میزان کمتری آدیپونکتین هستند (۱۰).

نشان داده شده است که گلوکوکورتیکوئیدها، هورمون های تیروئید، هورمون رشد و آنژیوتانسین II باعث اختلال تحمل گلوکز یا مقاومت به انسولین می شود. از میان این هورمونها فقط گلوکوکورتیکوئیدها باعث سرکوب ژن آدیپونکتین در آدیپوسیت ها می شوند (۱۱). آدیپونکتین دارای دو رسپتور (AdipoR1, AdipoR2) می باشد. AdipoR1 بر روی کروموزوم 1P36-q41 و AdipoR2-q41 بر روی کروموزوم 12P13.31 قرار دارد (۱۲).

باتوجه به مطالعات صورت گرفته هنوز مکانیسم هایی که بتوانند ارتباط بین آدیپونکتین و مقاومت به انسولین را

توضیح دهند مبهم باقی مانده اند.

این مطالعه به منظور بررسی ارتباط بین آدیپونکتین با CRP که یک پروتئین فاز حاد می باشد و HbA_{1c} که یک شاخص مهم وضعیت کنترل قند در بیماران دیابتی می باشد طراحی و انجام گردید.

روش کار:

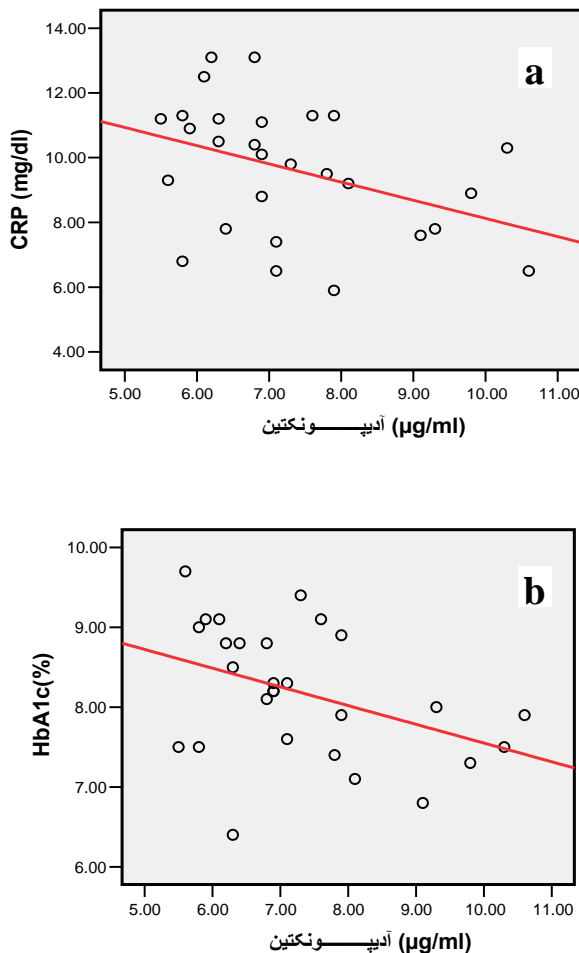
جامعه مورد مطالعه: در این مطالعه که بصورت موردی - شاهدهی انجام شده است تعداد ۲۸ نفر از زنان مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ معرفی شده از سوی پزشک متخصص که بیماری در آنها تأیید شده بود. بعنوان گروه مورد انتخاب شدند. دیابت در این افراد بعد از سن سی سالگی تشخیص داده شده بود و همه موارد در زمان نمونه برداری با قرص های خوراکی کاهش دهنده گلوکز خون تحت درمان بودند. این افراد بیماری سیستمیک دیگری نداشتند و داروی دیگری نیز مصرف نمی کردند. همچنین تعداد ۴۲ نفر از زنان سالم بعنوان گروه شاهد وارد مطالعه گردیدند. افراد مورد مطالعه مصرف دخانیات نداشتند.

معیار تشخیص دیابت: بر اساس معیار های مشخص شده سازمان بهداشت جهانی، تشخیص دیابت با مشاهده حداقل یکی از موارد زیر تأیید گردید: (۱) افزایش در گلوکز پلاسما در حالت ناشتا $FBS \geq 126$ mg/dl - ۲ قند خون اتفاقی ≥ 200 mg/dl همراه با علائم کلاسیک دیابت (تشنگی شدید، پرادراری، کاهش وزن، ..) (۳) عدم وجود علائم اما حداقل دو مورد افزایش گلوکز خون ≥ 200 mg/dl پس از مصرف ۷۵ میلی گرم گلوکز خوراکی در جریان تست تحمل گلوکز خوراکی که تکرار شده باشد.

تهیه نمونه: ۵ میلی لیتر نمونه خون صبحگاهی در شرایط ناشتا (۱۲ ساعت) گرفته شد. سپس ۲ میلی لیتر از آن را در لوله دیگری حاوی ضد انعقاد EDTA (۱/۵ میلی گرم در میلی لیتر) بود مخلوط گردید و در دمای $4^{\circ}C$ نگهداری شد و سرم از ۳ میلی لیتر دیگر آن جدا گردید و در $20^{\circ}C$ تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد.

اندازه گیری آدیپونکتین، HbA_{1c}، CRP: اندازه گیری میزان سرمی آدیپونکتین سرم به روش ELISA و با استفاده از کیت مربوط به شرکت (Czech Republic) Biovendor انجام گردید. همچنین برای اندازه گیری high sensitive- CRP سرم در دو گروه مورد مطالعه از روش ELISA و از کیت شرکت DRG (آلمان) استفاده

با توجه به نتایج بدست آمده از آنالیز همبستگی داده ها مشخص شده است که میزان آدیپونکتین سرم در هر دو گروه با میزان CRP و HbA_{1c} بطور معکوسی ارتباط دارد (شکل ۱) و این ارتباط از نظر آماری معنی دار بود.



شکل ۱: نمودارهای همبستگی میان آدیپونکتین با CRP (a) و HbA_{1c} (b) در زنان دیابتی

در این مطالعه به منظور بررسی توزیع زنان سالم و دیابتی از نظر میزان آدیپونکتین افراد مورد بررسی به سه گروه تقسیم شدند: غلظت آدیپونکتین در: گروه ۱ ۳-۶/۹، گروه ۲ ۷-۱۰/۹ و گروه ۳ ۱۱-۱۴/۹ µg/ml بود. بیشترین درصد زنان دیابتی در گروه یک قرار داشتند (۵۳/۶٪) در حالی که در این گروه کمترین درصد زنان سالم (۲/۴٪) قرار داشت. بیشترین درصد زنان سالم در گروه ۲ قرار داشتند (۶۴/۳٪). شکل ۲ نمودار توزیع زنان سالم و دیابتی را در سه گروه مذکور نشان می دهد.

گردید. میزان HbA_{1c} در افراد مورد مطالعه با روش کروماتوگرافی - اسپکتروفتومتری، و با کیت شرکت Biosystem (اسپانیا) سنجش گردید.

روش های آماری: جهت آنالیز آماری از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۳ استفاده شد. نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. همچنین برای مقایسه دو گروه با یکدیگر نیز از آزمون t نمونه های مستقل استفاده گردید. نتایج با مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان نتایج معنی دار تلقی گردیدند. همچنین برای بررسی ارتباط بین فاکتورها از ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده شد.

نتایج:

نتایج بدست آمده از مقادیر آدیپونکتین، hs-CRP، HbA_{1c} و سن در دو گروه مورد مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. دو گروه از نظر وزن و BMI و سن با یکدیگر همسان سازی شدند. مقدار آدیپونکتین سرم در زنان دیابتی کاهش معنی داری نسبت به زنان سالم نشان داد (۷/۲۹ \pm ۱/۴۲) در مقابل (۱۰/۲۹ \pm ۱/۹۳) (P < ۰/۰۱). میزان HbA_{1c} و hs-CRP در زنان دیابتی بیشتر از زنان سالم بود (P < ۰/۰۱).

جدول ۱: نتایج مربوط به فاکتورهای اندازه گیری شده در دو گروه زنان دیابتی و زنان سالم

ارزش P	زنان دیابتی	زنان سالم	
< ۰/۰۱	۷/۲۹ \pm ۱/۴۲	۱۰/۲۹ \pm ۱/۹۳ *	آدیپونکتین (µg/ml)
< ۰/۰۱	۹/۶۵ \pm ۲/۰۲	۳/۲۰ \pm ۱/۶۰	CRP (mg/dl)
< ۰/۰۱	۷/۹۷ \pm ۰/۸۱۳	۵/۰۰ \pm ۰/۶۴۴	HbA _{1c} (درصد)
۰/۱۳۷	۲۶/۵ \pm ۱/۹	۲۶/۸ \pm ۲/۱	BMI (kg/m ²)
۰/۰۷۲	۵۹/۵ \pm ۶/۷	۵۴/۱۶ \pm ۸	سن (سال)
۰/۴۶	۶۷ \pm ۹/۳	۶۵/۸ \pm ۶	وزن (کیلوگرم)
--	۲۸	۴۲	تعداد

* نتایج بصورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده اند

برای بررسی ارتباط بین فاکتورهای مورد بررسی با آدیپونکتین از ضریب همبستگی اسپیرمن استفاده گردید. که نتایج این آنالیز آماری در جدول ۲ آمده است.

جدول ۲: ضریب همبستگی غلظت آدیپونکتین سرم با مقادیر HbA_{1c} و CRP

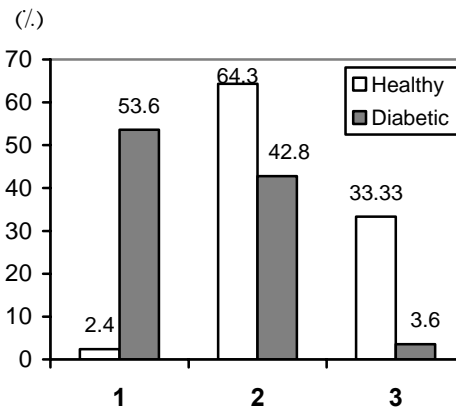
	زنان سالم		زنان دیابتی	
	ارزش P	r	ارزش P	r
HbA _{1c}	۰/۰۰۳	-۰/۴۵۱	۰/۰۳۲	-۰/۴۰۷
CRP	۰/۰۰	-۰/۸۳۰	۰/۰۲۲	-۰/۴۳۱

تمرکز داشتند نشان دادند که سطوح سرمی آدیپونکتین به موازات پیشرفت مقاومت به انسولین کاهش می یابد و بنابراین مقدم بر گسترش دیابت است (۱۸). در واقع کاهش سطوح آدیپونکتین یک ریسک فاکتور مستقل از سن و جنس برای گسترش دیابت نوع II می باشد.

لیندسی و همکارانش در سال ۲۰۰۲ گزارش کردند که کاهش میزان آدیپونکتین سرم یک ریسک فاکتور برای گسترش دیابت مستقل از سن، FBS و قند ۲ ساعته می باشد. مطالعه آنها بصورت یک مطالعه موردی شاهدهی (n=۷۰ در هر گروه) در میان جمعیت Pima هندی صورت گرفت. جمعیت Pima هندی مستعد به چاقی و مشهور به دارا بودن میزان بالای شیوع دیابت نوع II هستند (۶).

از نقاط قوت این مطالعه بررسی دو گروه زنان دیابتی و سالم در دو گروه مستقل بود که قبلاً کمتر مشاهده شده و دیگر اینکه این مطالعه بر روی افرادی صورت گرفته است که میزان شیوع دیابت نوع II در آنها تقریباً با بعضی نقاط دیگر ایران برابر می باشد بنا براین نتایج آن می تواند حداقل به این مناطق قابل تعمیم باشد، برخلاف مطالعه ای که برای افراد Pima هندی صورت گرفته بود که میزان شیوع به دیابت نوع II در آنها دارای دامنه بسیار بالائی بود. ولی به هر حال حجم کم نمونه مورد مطالعه از محدودیت های این تحقیق بود. در مورد شیوع دیابت نوع ۲ در ایران آمار متفاوتی ارائه شده است، شاید یکی از منابع معتبر در این زمینه مطالعه عزیزی و همکاران در سال ۲۰۰۳ باشد، در این مطالعه فراوانی دیابت نوع ۲ را در استان های کردستان، خراسان، زنجان، کرمانشاه و همدان به ترتیب ۱/۳، ۱/۳، ۲، ۲/۲، و ۲/۶ درصد گزارش نموده اند (۱۹).

در رابطه با سطح سرمی آدیپونکتین در زنان سالم توجه به این نکته ضروری است که مطالعه ای که این موضوع را در ایران مشخص نموده باشد مشاهده نگردید هم چنین شرکت سازنده کیت دامنه نرمال برای این فاکتور معرفی ننموده است. در مطالعه ما میانگین غلظت سرمی آدیپونکتین در زنان دیابتی $7/29 \pm 1/42 \mu\text{g/ml}$ تعیین گردید، که این مقدار تقریباً مشابه با مقادیر گزارش شده در کشور های دیگر است. برای مثال در مطالعه Kim و همکاران بر روی زنان دیابتی نوع ۲ کره ای مقدار $5/9 \pm 2/3 \mu\text{g/ml}$ گزارش گردیده است (۲۰). وجود



شکل ۲: نمودار فراوانی زنان دیابتی و سالم در سه گروه براساس میزان آدیپونکتین سرم

بحث:

نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان آدیپونکتین سرم در زنان دیابتی با زنان سالم تفاوت معنی داری دارد و همچنین آدیپونکتین با میزان CRP و HbA_{1c} ارتباط معکوسی دارد. برخلاف نتیجه گیری ما رایان و همکارانش در سال ۲۰۰۳ گزارش دادند که میزان آدیپونکتین در دو گروه دیابتی و شاهد تفاوت معنی داری ندارد (۷). شواهد بدست آمده از مطالعات حیوانی و انسانی نشان می دهد که آدیپونکتین نقش مهمی در پاتوفیزیولوژی مقاومت به انسولین، دیابت (۶، ۱۳، ۱۴)، متابولیسم لیپید و التهاب دارد و بنابراین کاهش آن بعنوان یک عامل خطر برای بیماری های قلبی عروقی می باشد (۱۵).

نتایج بدست آمده از مطالعه ما نشان می دهد که آدیپونکتین و CRP که یک مارکر التهابی است به طور معکوسی با هم ارتباط دارند به این معنی که آدیپونکتین دارای خاصیت ضد التهابی است. مطالعات صورت گرفته نشان داده است که خاصیت ضد التهابی آدیپونکتین بواسطه ی کنترل قند و لیپیدهای خون صورت نمی گیرد بلکه ممکن است دارای خاصیت ضد التهابی بصورت مستقیم و مستقل باشد (۱۶). البته ممکن است که خاصیت ضد التهابی آدیپونکتین بطور غیر مستقیم از طریق قند خون که بر روی غلظت های سیتوکین در گردش خون اثر داشته باشد اعمال شود (۱۷). پژوهشگران در سال ۲۰۰۳ مشاهده کردند که افراد با علائم التهاب غلظت کمتری از آدیپونکتین را دارا می باشند (۶).

هوتا و همکارانش در سال ۲۰۰۱ که بر روی سطوح آدیپونکتین سرم در طول پیشرفت دیابت در میمون رزوس

9. Spranger J, Kroke A, Mohlig, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, et al. Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *Lancet* 361:226-28, 2003.
10. Winzer H, Wagner S. Plasma adiponectin, insulin sensitivity, and subclinical inflammation in women with prior gestational diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2004; 27: 1721-1727.
11. Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Hormonal regulation of adiponectin gene expression in 3T3-L1 adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290:1084-9.
12. Arita Y, Kihara S, Ouchi N. Adipocyte-derived plasma protein adiponectin act as a platelet growth factor-induced common postreceptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation* 2002; 150:2893-8.
13. Kubota N, Terauchi Y, Yamauchi T, Kubota T, Moroi M, Matsui J. Disruption of adiponectin causes insulin resistance and neointimal formation. *J Bio Chem* 2002;227: 25863-25866.
14. Yamauchi T, Kamon J, Waki H, Terauchi Y, Kubota N, Hara K, et al. The fat derived hormone adiponectin reverses insulin resistance associated with both lipoatrophy and obesity. *Nat Med* 2001; 7: 941-946.
15. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, Ouchi N, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitor and function of macrophages. *Blood* 2000; 96: 1723-1732.
16. Mantzoros C, Li T, Manson J, Meigs J, Hu F. Circulating adiponectin levels are associated with better glycemic control, more favorable lipid profile and reduced inflammation in women with type 2 diabetes. *J Clin Endocrin Metab* 2005; 372: 1-22.
17. Morohoshi M, Fujisawa K, Uchimura I, Numano F. Glucose-dependent interleukin 6 and tumor necrosis factor production by human peripheral blood monocytes in vitro. *Diabetes* 1996; 45:954-959.
18. Hotta K, Funahashi T, Bodkin NL, Ortmeier HK, Arita Y, Hensen BC, Matsuzawa Y. Circulating concentration of adipocyte protein adiponectin are decreased in parallel with reduced insulin sensitivity during the progression to type 2 diabetes in rhesus monkey. *Diabetes* 2001; 50: 1126-1133.
19. Azizi F, Gouya MM, Vazirian P. Screening for type 2 diabetes in the Iranian national program: a preliminary report. *La Revue de Sante de la Mediterranee Orientale* 2003; 9(5/6):1122-27.

تفاوت در کیت های مورد استفاده و احتمالاً تاثیر نژاد را باید در نظر داشت.

نتیجه نهایی:

بطور خلاصه اینکه کاهش میزان آدیپونکتین می تواند بعنوان یک ریسک فاکتور برای دیابت نوع دو باشد و ارتباط معکوس آن با CRP می تواند نشانگر خاصیت ضد التهابی آدیپونکتین باشد.

سپاسگزاری:

از همکاران محترم گروه بیوشیمی، مدیریت و کارشناسان مرکز تحقیقات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی همدان و آقای علی اکبر نویدی عباسپور تشکر و قدردانی می گردد.

منابع:

1. Havel PJ. Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: leptin, acylation stimulating protein, and adiponectin. *Curr Opin Lipidol* 2002;13:51-59.
2. Funahashi T, Nakamura T, Shimomura I, et al. Role of adipocytokines on the pathogenesis of atherosclerosis in visceral obesity. *Intern Med* 1999; 38:202-206.
3. Maeda K, Okubo K, Shimomura I, Funahashi T, Matsuzawa Y, Matsubara K. cDNA cloning and expression of a novel adipose specific collagen-like factor, apM1 (Adipose most abundant Gene transcript 1). *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 221: 286-289.
4. Saito K, Tobe T, Minoshima S. Organization of the gene for gelatin-binding protein (GBP28). *Gene* 1999; 229:67-73.
5. Nakano Y, Tobe T, Choi-Miura NH, Mazda T, Tomita M. Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. *J biochem (Tokyo)* 1996; 120:803-812.
6. Lindsay Rs, Funahashi T, Hanson RL, Matsuzawa Y, Tanaka S, Tataranni PA, Knowler WC, Krakoff J. Adiponectin and development of type 2 diabetes in Pima Indian population. *Lancet Res Let* 2002;360:57-58.
7. Ryan AS, Berman DM, Nicklas BJ, Sinha MS, Gingerich RL, Meneilly GS, Egan JM, Elahi D. Plasma adiponectin and leptin levels, body composition, and glucose utilization in adult women with wide ranges of age and obesity. *Diabetes Care* 2003; 26:2383-2388.
8. Ouchi N, Kihara S. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. 2003; 107: 671-674

20. Kim MJ, Yoo KH, Park HS. Plasma adiponectin and Insulin resistance in Korean

type 2 diabetes mellitus. Yonsei Medical Journal 2005; 46(1):42-50