View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by shahrekord university of medical scinces

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد/ دوره ۲۰، شماره ۲/ خرداد و تیر ۱۳۹۷/ ۱۱۸-۱۰۹

مقاله پژوهشی

استفاده از بیومارکرهای غیر ژنتیکی آنتی گد ۶۵، آنتی انسولین (II) و C-peptide در افتراق دیابت نوع MODY در جمعیتی از بیماران دیابتی استان اصفهان

اکرم سرمدی[۱]، محمد امین طباطبائی فر[۲]، فاطمه طباطبائی[۳]، آزاده قلی زاده[۴]، مرتضی هاشم زاده چالشتری[۵*]

[۱]دانشجو، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۲]بخش ژنتیک و بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۳]مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران؛ [۴]دانشجو، گروه آمار زیستی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران؛ [۵]مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده علوم پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۱۰

چکیده:

زمینه و هدف: **دیابت شیرین گروهی از اختلالات متابولیک در بدن است که با افزایش سطح قند خون همراه است. دیابت به سه گروه نوع یک (T1D)، نوع دو (T2D) و تک ژنی تقسیم می شود. دیابت بارز شده در بلوغ جوانان (MODY) نوعی دیابت تک ژنی می باشد که معمولاً با T1D یا T2D اشتباه گرفته می شود. هدف از این مطالعه، تشخیص MODY از طریق مارکرهای غیر ژنتیکی و تعیین فراوانی آن در جمعیت استان اصفهان است که این امر علاوه بر صرفه جویی در زمان و هزینه، در پیش آگهی و ارائه ی درمان مناسب، اهمیت دارد.**

روش بررسی: **در این مطالعه ی توصیفی- تحلیلی، ۲۰۸۵ بیمار دیابتی با طول دوره ی بیماری ۶-۲ سال، مورد بررسی قرار گرفتند و پس از بررسی علائم بالینی، در ۵۷ فرد دارای علائم MODY، سه مارکر C-peptide، آنتی گد ۶۵ و آنتی انسولین (II) با روش الایزا اندازه‌گیری و با افراد سالم، بیماران مبتلا به دیابت نوع یک و دو تأیید شده، مقایسه شد.**

یافته‌ها: **در این مطالعه ی توصیفی- تحلیلی از میان ۲۰۸۵ بیمار دیابتی، در ۵۰۰ نفر آن ها سن بروز بیماری کمتر از ۲۵ سال بود که از میان آن ها، ۵۷ بیمار مشکوک به MODY بودند و پس از بررسی سه مارکر بیوشیمیایی ذکر شده، ۴۱ بیمار برای آنتی گد ۶۵ و آنتی انسولین (II)، منفی و دارای سطح قابل‌تشخیص c-peptide بودند و تفاوت سطوح این سه مارکر در گروه مشکوک به MODY دارای تفاوت معنی دار (۰/۰۰۱ برای آنتی گد ۶۵، ۰/۰۱۷ برای آنتی انسولین ۲ و ۰/۰۰۹ برای C-peptide) بود.**

نتیجه‌گیری: **استفاده از بیومارکرهای غیر ژنتیکی اختصاصی، برای تشخیص MODY بسیار ارزشمند است و می توانند همراه با سایر ویژگی های بالینی، برای غربالگری طیف وسیعی از بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرند. درنهایت، فقط افراد مشکوک برای انجام تست های ژنتیکی، انتخاب می شوند.**

واژه‌های کلیدی: **MODY، آنتی گد ۶۵، آنتی انسولین (II)، C-peptide.**

مقدمه:

دیابت شیرین گروهی از اختلالات هتروژن است که در آن سطح قند خون افزایش می یابد و معمولاً درنتیجه‌ی ناکفایتی در ترشح انسولین توسط سلول های بتای پانکراس و یا نقص در عملکرد آن ایجاد می شود.

نویسنده مسئول: *شهرکرد- دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی- پژوهشکده علوم پایه سلامت- تلفن: ۰۹۱۳۶۴۶۳۴۸۶، E-mail: akramsarmadi@gmail.com*

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

معمولاً دیابت شیرین را به‌عنوان یک اختلال چندعاملی معرفی می کنند (۱). دیابت دارای چندین نوع است که دیابت نوع یک (T1D) و نوع دو (T2D) رایج ترین انواع آن هستند (۲). دیابت نوع A1 یک اختلال خود ایمنی است و در اثر تخریب سلول های بتا ایجاد می شود که در آن سطح چندین آنتی بادی مختلف علیه سلول های بتای پانکراس، افزایش می یابد. نتیجه ی بعدی آن تخریب کامل سلول های بتا و نقص کامل تولید انسولین است که نهایتاً فرد را نیازمند تزریق انسولین در مقادیر بهینه می کند (۳). یکی از مهم‌ترین عوامل موثر در بروز T1D، آنتی ژن لکوسیت انسانی (HLA) است که تیپ DR3/4 آن، یک همراهی بسیار قدرتمند در مستعد شدن افراد برای T1D دارد (۴). دیابت نوع دو (T2D)، با نقص نسبی تولید انسولین همراه است که نتیجه ی هم‌زمان ترشح ناکافی انسولین و مقاومت نسبی به انسولین هست (۶،۵). دیابت نوع یک و دو مجموعاً حدود ۹۵٪ بیماران دیابتی را تشکیل می دهند (۷).

در مقایسه با این دو نوع رایج دیابت، نوع دیگری از دیابت که فراوانی کمتری دارد نیز وجود دارد که تک ژنی می باشد. دیابت تک ژنی درنتیجه ی یک جهش ژنتیکی مشخص، در فقط یک ژن خاص ایجاد می شود. ژن جهش‌یافته در زیرگروه های مختلف دیابت تک ژنی متفاوت است ولی این ژن ها معمولاً در ارتباط با عملکرد سلول های بتا می باشد (۸). محصول این ژن ها، آنزیم های مهم در مسیر متابولیسم گلوکز (مانند گلوکوکیناز) و یا فاکتورهای مهم رونویسی برای ژن های کبدی می باشد (۷). هرچند که دیابت تک ژنی عامل ۵٪-۲٪ کل موارد بیماران مبتلا به دیابت است، ولی شناخت و تشخیص آن ها اهمیت زیادی در درمان و پیش‌آگهی افراد دارد (۸). دیابت تک ژنی دارای دو فرم اصلی دیابت نوزادی (NDM) و دیابت بارز شده در بلوغ جوانان (MODY) می باشد (۷).

دیابت بارز شده در بلوغ جوانان (MODY، نوعی از دیابت است که فراوانی آن ۵٪-۲٪ از کل جمعیت مبتلایان به دیابت را تشکیل می دهد (۸). برای اولین بار Robert Tattersall با اشاره به‌نوعی از دیابت که دارای علائم بالینی خفیف می باشد،MODY را توصیف کرد و اشاره کرد که سن بروز این نوع دیابت که متفاوت از T1D و T2D است، در سنین جوانی (اغلب قبل از ۲۵ سالگی) می باشد (۹). ویژگی های اختصاصی MODY که آن را از سایر انواع دیابت متمایز می کند، شامل: سن بروز در جوانی (معمولاً قبل از ۲۵ سالگی)، وجود سابقه ی خانوادگی مثبت برای دیابت در حداقل ۲ یا ۳ نسل و مشاهده ی الگوی توارثی غالب اتوزومی، غیر وابسته به انسولین یا نیاز کمتر به انسولین (کمتر از ۰/۵ واحد به ازاء وزن بدن در روز) و عدم مشاهده ی کتواسیدوز دیابتی می باشد (۱۱،۱۰).

بیشتر بیماران مبتلا به MODY (بیش از ۸۰٪ آن ها) معمولاً به اشتباه، در گروه T1D یا T2D دسته بندی می شوند که این امر موجب ارائه ی درمان نامناسب برای آن ها می شود (۱۲،۱۳). تاکنون ۱۳ زیرگروه مختلف MODY بر اساس نوع ژن جهش یافته معرفی شده است که در میان آن ها ۶ نوع اول دارای فراوانی بیشتری هستند که به ترتیب جهش در ژن های HNF4A، GCK، HNF1A، IPF، HNF1B و NEUROD1 باعث بروز آن ها می شود (۷). فراوانی زیرگروه های مختلف در جمعیت های مختلف، تفاوت دارد (۱۴). تنها راه برای تشخیص دقیق افراد مبتلا به MODY انجام آزمایش ژنتیک می باشد (۱۵). بااین‌حال هزینه ی بالای این آزمایش ها و عدم در دسترس بودن آن برای تمام افراد، نیاز به معرفی یک سری مارکر غیر ژنتیکی در دسترس و ارزان قیمت را آشکار می کند. با استفاده از چنین مارکرهایی می توان افراد مشکوک به MODY را در یک جمعیت بزرگ مبتلا به دیابت شناسایی کرد و سپس آزمایش ژنتیکی را فقط برای آن افراد انجام داد. مارکرهای بیوشیمیایی که در تشخیص MODY موثرند شامل:

آنتی‌بادی‌های جزایر پانکراس: تقریباً تمامی بیماران مبتلا به T1D دارای حداقل یک آنتی بادی افزایش‌یافته در پانکراس هستند که به‌محض بروز دیابت سطح آن در بدن به‌شدت بالا می رود (۱۶).

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

دو مورد از مهم‌ترین این آنتی بادی ها، آنتی گد ۶۵ (Anti GAD65 (glutamic acid decarboxylase)) و آنتی انسولین ۲ (IA-2) می باشند. بیماران مبتلا به MODY معمولاً سطح بالایی از این آنتی‌بادی‌ها ندارند (۱۷،۸). مطالعات اخیر نشان داده است که کمتر از ۱٪ این بیماران سطح بالایی از آنتی گد ۶۵ یا IA-2 دارند (۱۸). همچنین، حدود ۱۰٪ از بیمارانی که با تست های ژنتیکی تأیید شده که قطعاً مبتلا به MODY هستند، دارای سطح بالایی از Anti GAD65 هستند ولی هیچ یک از آن‌ها برای IA-2 مثبت نیستند (۱۹)؛ بنابراین اندازه گیری هم‌زمان این دو مارکر، معیار قدرتمندی برای تشخیص MODY می باشد که مثبت بودن هم‌زمان این دو آنتی بادی، تأیید می کند که با احتمال بالای ۹۵٪ دیابت از نوع T1D می باشد (۲۰).

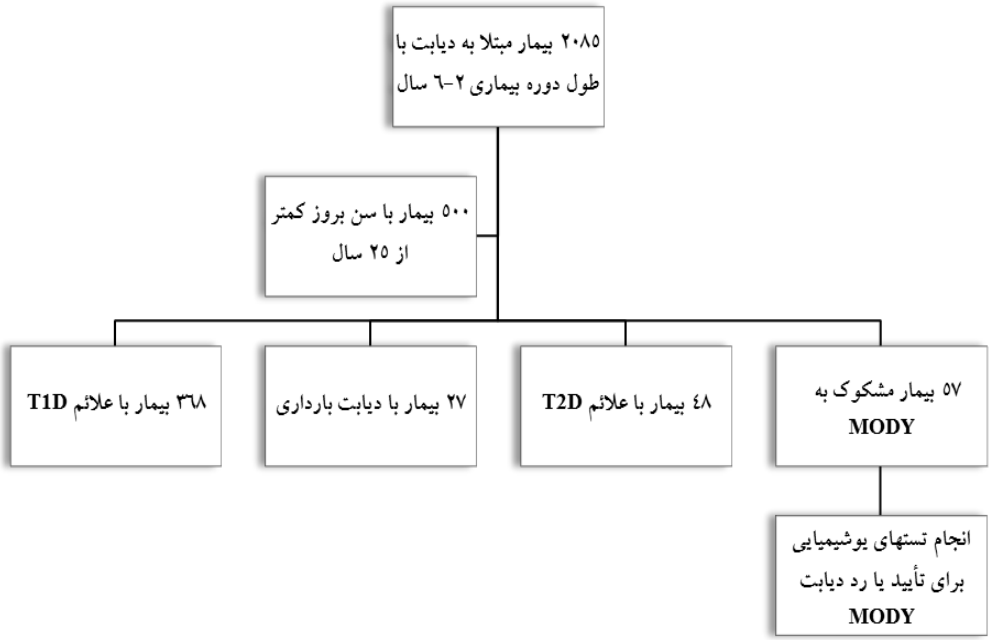
C-Peptide: یک پپتید ۳۱ آمینواسیدی است که متصل‌کننده‌ی دو زنجیره A و B انسولین به یکدیگر است و در طی مراحل پردازش انسولین از آن جدا می شود و سطح آن نمایانگر میزان سلول های بتای فعال در پانکراس است (۲۱،۲۲)؛ بنابراین در بیماران مبتلا به T1D، سطح C-peptide غیرقابل اندازه‌گیری است درحالی‌که در بیماران مبتلا به MODY سطوح قابل اندازه‌گیری از C-peptide وجود دارد. علاوه بر این سطوح C-peptide در بیماران مبتلا به T2D به میزان قابل‌توجهی افزایش می یابد (۲۳). هدف از این مطالعه که برای اولین بار در استان اصفهان انجام‌شده است، معرفی این مارکرها جهت شناسایی بیماران مبتلا به MODY و بررسی میزان اختصاصت این مارکرها می باشد. با استفاده از این مارکرها می توان با صرف هزینه ای کمتر، بیماران مبتلا به MODY را از سایر انواع دیابت متمایز کرد و فراوانی این بیماران را در جمعیت مورد مطالعه تعیین کرد. در صورت معنی دار بودن نتایج این مطالعه، می توان یک دستورالعمل جامع برای غربالگری بیماران مبتلا به دیابت با هدف تشخیص صحیح نوع دیابت در آن ها ارائه داد که در آن، ابتدا بیماران بر اساس علائم بالینی و سپس مارکرهای غیر ژنتیکی از هم متمایز شوند. درنهایت در صورت نیاز، در موارد مشکوک آزمایش ژنتیک انجام شود.

روش بررسی:

در این مطالعه ی توصیفی- تحلیلی که حاصل طرح پژوهشی مصوب دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و با کد اخلاق IR.Skums.REC.1394.196 و با هدف تمایز بیماران مبتلا به MODY انجام گرفت، بیماران مبتلا به دیابت مراجعه‌کننده به یکی از مراکز غدد استان اصفهان، با رعایت تمام موازین اخلاقی مورد بررسی قرار گرفتند. برای شناسایی بیماران مشکوک به MODY در ابتدا پرونده ی کل بیماران مراجعه‌کننده به مرکز درمانی که مدت دیابت آن‌ها بین ۶-۲ سال بود و مجموعاً تعداد آن ها ۲۰۸۵ بیمار با انواع مختلف دیابت بود، مورد بررسی قرار گرفت. در میان آن ها سن بروز دیابت در ۵۰۰ بیمار قبل از ۲۵ سالگی بود که در مورد سابقه ی دیابت در خانواده ی آن ها، شیوه ی درمان و همچنین برخی دیگر از ویژگی های بالینی مانند شاخص توده ی بدنی (BMI) و عوارض ناشی از دیابت از آن ها سوال شد. با بررسی موارد ذکرشده، بدون شک بسیاری از این بیماران مبتلا به T1D بودند.

این بیماران به‌محض ابتلا به دیابت، دچار کتواسیدوز دیابتی شده بودند و کاملاً وابسته به انسولین بودند. تعداد این بیماران ۳۶۸ مورد بود که به‌علاوه‌ی زنان مبتلا به دیابت بارداری (GDM) که پس از زایمان دیابت آن‌ها بهبودیافته بود، مجموعاً ۳۹۵ نفر از این ۵۰۰ بیمار از ادامه ی مطالعه حذف شدند؛ بنابراین ۱۰۵ بیمار باقی ماند که از میان آن‌ها ۴۸ بیمار با وزن زیاد، دارای هایپرگلایسمی ملایم و بدون پیش‌روندگی حاد و دارای سابقه ی خانوادگی مثبت برای T2D بودند. این گروه نیز از ادامه ی مطالعه خارج شدند و تعداد ۵۷ بیمار باقی ماندند که معیارهای قوی (بروز دیابت در سنین جوانی در حداقل ۳ نسل متوالی، عدم مشاهده ی کتواسیدوز دیابتی و نیاز محدود به انسولین) برای دیابت MODY داشتند.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018



تصویر شماره ۱: دیاگرام مربوط به بیماران بررسی شده در مطالعه

تشخیص افتراقی اولیه برای بیماران، سن بروز دیابت در آن‌ها بود؛ پس‌ازآن، سایر علائم بالینی در تمام بیماران با سن بروز کمتر از ۲۵ سال بررسی شد و درنهایت فقط بیماران مشکوک به MODY، برای ادامه ی مطالعه انتخاب شدند.

انجام تست های بیوشیمیایی به روش الایزا: بر اساس مطالعات قبلی و با بررسی مارکرهای غیر ژنتیکی مختلف، اندازه گیری هم‌زمان دو اتوآنتی بادی پانکراس یعنی آنتی گد ۶۵ و آنتی انسولین (II) و همچنین C-peptide با قدرت تشخیص بالای ۹۵٪ معیار مناسبی برای تمایز انواع مختلف دیابت می باشد (۲۰،۱۸)؛ بنابراین، سطح این سه مارکر در ۵۷ بیمار مشکوک به MODY و همچنین ۴۰ بیمار قطعاً مبتلا به T1D، ۴۰ بیمار قطعاً مبتلا به T2D و ۴۰ فرد سالم غیر دیابتی اندازه‌گیری شد. روش اندازه‌گیری این مارکرها، الایزا (ELISA) بود که در هر کیت مطابق با دستورالعمل خاص آن انجام گرفت. مقادیر هر یک از این مارکرها، برای هر گروه از جمعیت مورد بررسی، طبق دستورالعمل کیت های مورد استفاده، در جدول شماره ۱ آمده است. سرم بیماران از زمان نمونه‌گیری تا انجام تست در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جدول شماره ۱: مشخصات کیت های مورد استفاده و مقادیر مارکرهای مورد بررسی، طبق دستورالعمل کیت

مارکر بیوشیمیایی	آنتی گد ٦٥	آنتی انسولین (II)	C-peptide
کیت مورد استفاده / گروه	EUROIMMUNE (آلمان) Catalog # D-23560	MYBioSource (آمریکا) Catalog # MBS494685-ORG520	NOVATEC (آلمان) Catalog # KA1259
T1D	>۱۰IU/ml	>۰/۰۲nmol/L	۰/۰ng/ml
T2D	<۱۰IU/ml	<۰/۰۲nmol/L	>۲/۲ng/ml
MODY	<۱۰IU/ml	<۰/۰۲nmol/L	۱/۲-۲ng/ml
سالم غیر دیابتی	<۱۰IU/ml	<۰/۰۲nmol/L	۱/۲-۲ng/ml

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

تمامی اطلاعات حاصل از نتایج تست های بیوشیمیایی، توسط برنامه های آماری استاندارد SPSS, version2 (Inc, Chicago, IL, USA) مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا نرمال بودن داده ها در هر گروه با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov بررسی شد و به دلیل غیر نرمال بودن آن‌ها، برای اندازه‌گیری P در هر گروه از این داده های غیر پارامتریک، از آزمون Kruskal Wallis استفاده شد. همچنین برای مقایسه ی گروه ها به‌صورت زوجی (دوتا دوتا) از آزمون تعقیبی Dunn-Bonferroni استفاده شد.

یافته‌ها:

ابتدا نتایج حاصل از ۳ تست انجام شده برای بیماران مشکوک به MODY بررسی شد. از میان ۵۷ بیمار مشکوک به MODY، سطح دو آنتی بادی بررسی شده در ۴۱ فرد منفی و C-peptide بالای صفر اندازه‌گیری شد که این ویژگی ها تأییدکننده‌ی این است که این افراد مبتلا به MODY بودند، ولی در ۱۶ فرد دیگر، آنتی بادی ها مثبت و سطح C-peptide برابر با صفر اندازه‌گیری شد، بنابراین این افراد مبتلا به T1D بودند. برای تأیید این نحوه ی گروه بندی، مقادیر مربوط به مارکرهای اندازه گیری شده در این گروه ۴۱ نفری از بیماران MODY با نتایج مربوط به ۳ گروه دیگر، یعنی بیماران مبتلا به T1D، T2D و افراد سالم غیر دیابتی بررسی و مقایسه شد. تمام اطلاعات حاصل از نتایج اندازه‌گیری ۳ مارکر و مقایسه ی نتایج آن ها در ۴ گروه مورد مطالعه در جدول شماره ۲ ذکر شده است.

جدول شماره ۲: نتایج مربوط به‌اندازه گیری مارکرها و مقایسه ی آن‌ها در ٤ گروه مورد مطالعه

گروه	تعداد موارد	میانگین ± انحراف معیار Anti-GAD65	میانگین ± انحراف معیار Anti-Insulin(II)	میانگین ± انحراف معیار C-peptide
T1D	٤٠	۹٤۹/٥±۱۰۰/۷۳	۱/۲۹±۰/۰۰٦۹	۰/۰٤±۰/۰۷٥۱
T2D	٤٠	۱۸/۷۸±٦۰/۹۸۳	۰/۰۰٥±۰/۰۰٤٦	۹/۳۹۷±٦/۱۳۳۸
سالم غیر دیابتی	٤٠	۸/۰۲±۱/٥۹۲٦	۰/۰۰۹±۰/۰۰۱٦	۳/٤٦۰±۰/٤۳۹٦
مشکوک به MODY	٤۱	٥/٤٦٤±۲/۱٦۰۳	۰/۰٦۷±۰/۱۲٤	۱/۱٤۲±۰/۳۲٦۳
P مقایسه ی متغیر نسبت به همه ی گروه ها		**P=۰/۰۰۱***	**P=۰/۰۱۷***	**P=۰/۰۰۹***

در این جدول نتایج بررسی هر ۳ مارکر در هر ٤ گروه به‌صورت **میانگین ± انحراف معیار** *آورده شده است و علامت * به معنی، معنی داری می‌باشد.*

میزان P در گروه مشکوک به MODY با گروه بیماران مبتلا به T1D، برای هر ۳ مارکر، کمتر از ۰/۰۵ اندازه‌گیری شد که نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی‌دار در این دو گروه بود. مقایسه ی میزان P در گروه مشکوک به MODY با گروه بیماران مبتلا به T2D، برای دو مارکر آنتی انسولین (II) و C-peptide به‌صورت عدم معنی دار و برای مارکر آنتی گد ۶۵ معنی دار بود. همچنین مقایسه ی میزان P در گروه بیماران مشکوک به MODY با گروه افراد سالم، نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی دار برای مارکر C-peptide بود، درحالی‌که برای دو مارکر آنتی گد و آنتی انسولین تفاوت معنی داری مشاهده نشد. جدول شماره ۳ اطلاعات مربوط به مقایسه ی میزان P به‌صورت زوجی، در گروه بیماران مشکوک به MODY با سایر گروه ها را نشان می دهد.

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

جدول شماره ۳: مقایسه ی میزان P هر ۳ مارکر در گروه مشکوک به MODY با سایر گروه ها

مارکر بیوشیمیایی / گروه مورد مقایسه	آنتی گد ٦٥	آنتی انسولین (II)	C-peptide
T1D	٭<۰/۰۰۱	٭۰/۰۰۵	٭<۰/۰۰۱
T2D	٭۰/۰۰۵	۰/۰٦۳	۰/۰۵۹
سالم غیر دیابتی	۰/۰۵۲	۰/۰٦	٭<۰/۰۰۱

٭: نشان‌دهنده‌ی تفاوت معنی دار می باشد.

بنابراین تست های بیوشیمیایی می توانند بیماران مبتلا به MODY را به نحو صحیحی از بیماران مبتلا به T1D متمایز کنند. در این مطالعه از میان ۲۰۸۵ فرد دیابتی بررسی شده، در غربالگری اولیه و با توجه به معیارهای بالینی معرفی‌شده، ۵۷ مورد مشکوک به MODY بودند که پس از انجام آزمایشات بیوشیمیایی، مجموعاً ۴۱ مورد مبتلا به MODY تشخیص داده شدند که این تعداد ۱/۹۶٪ جمعیت کل می باشد که تمام این بیماران در گروه بیماران مبتلا به T1D قرار گرفته بودند.

بحث:

این مطالعه که در یک جمعیت بزرگ از بیماران دیابتی در استان اصفهان، با هدف تعیین نوع دقیق دیابت در آن ها و تشخیص بیماران مبتلا به MODY انجام شد. فراوانی MODY در مقالات مختلف ۵٪-۲٪ جمعیت کل افراد دیابتی اشاره‌شده است (۲۴). نتایج این مطالعه که حاصل اندازه گیری ۳ مارکر بیوشیمیایی مهم در تشخیص دیابت نوع MODY، شامل آنتی گد ۶۵، آنتی انسولین ۲ و C-peptide بود و طبق مطالعات، اندازه گیری هم‌زمان این ۳ مارکر با احتمال بالای ۹۵٪ موارد مبتلا به MODY را از سایر انواع دیابت متمایز می کند به این صورت ارزیابی شد (۲۰-۲۳،۱۷).

از میان جمعیت ۲۰۸۵ نفری مبتلا به دیابت، با احتمال بالای ۹۵٪، تعداد ۴۱ نفر از آن ها مبتلا به MODY هستند که این افراد ۱/۹۶٪ جمعیت را تشکیل می دهد (۴۱/۲۰۸۵)، بنابراین نتایج این مطالعه با آنچه تاکنون در مطالعات دیگر گزارش‌شده است، همخوانی دارد. در مطالعه ای که توسط Siddiqui و همکاران انجام شد، گزارش‌شده است که حدود ۱۰٪ بیمارانی که به‌عنوان T1D تشخیص داده می شوند، درواقع مبتلا به MODY هستند (۸). در جمعیت مورد مطالعه، ۵۰۰ فرد دارای سن بروز کمتر از ۲۵ سال بودند که از میان آن ها، ۲۷ مورد زنان مبتلا به دیابت بارداری بودند. از میان ۴۷۳ مورد باقیمانده، ۴۱۲ نفر درمان کاملاً وابسته به انسولین داشتند و بنابراین T1D معرفی‌شده بودند. پس از بررسی علائم بالینی، ۳۶۸ مورد قطعاً مبتلا به T1D بودند و نهایتاً پس از انجام آزمایشات بیوشیمیایی، ۴۱ نفر آن ها مبتلا به MODY بودند که برابر است با ۹/۹۵٪ جمعیتی که T1D معرفی‌شده بودند (۴۱/۴۱۲)، بنابراین این مقدار نیز با مطالعات قبلی در توافق است.

در تعریف MODY معمولاً اصطلاح "غیر وابسته به انسولین" به‌کار برده می شود (۲۵). ولی بیماران مبتلا به MODY درواقع نیاز به انسولین کمی دارند (کمتر از ۰/۵ واحد به ازاء وزن بدن در روز)؛ بنابراین با شناسایی دقیق این بیماران می تواند از استفاده ی نامناسب از انسولین برای آن‌ها جلوگیری کرد (۲۶). زیرگروه دوم MODY (GCK-MODY) دارای سطوح ملایمی از هایپرگلایسمی هستند و معمولاً نیازی به دریافت انسولین ندارند؛ درحالی‌که سایر زیرگروه های MODY معمولاً چند سال پس از آغاز دیابت نیاز به دریافت مقادیر کم تا متوسط انسولین به‌صورت روزانه دارند (۲۷). از میان ۴۱ بیمار مبتلا به MODY در جمعیت مورد مطالعه،

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

۳۲ مورد وابسته به انسولین و با میانگین مصرف ۰/۷–۰/۵ واحد انسولین به ازاء کیلوگرم وزن بدن در روز بود.

یک اهمیت تشخیص بیماران مبتلا به MODY شیوه ی متفاوت درمان بهینه ی این بیماران با سایر انواع دیابت است. داروهای مورد استفاده برای کاهش قند خون در بیماران دیابتی دارای تنوع گسترده‌ای می باشد ولی شایع‌ترین آن‌ها شامل متفورمین و گلی کلازید می باشد (۲۸). تحقیقات مختلف نشان داده است که در انواع مختلف دیابت، اثرات داروهای مختلف، متفاوت می باشد. Gardner و Tai گزارش کردند که دو داروی متفورمین و گلی کلازید در بیماران مبتلا به T2D اثر مشابهی دارند، درحالی‌که گلی کلازید در بیماران مبتلا به MODY دارای تأثیر ۴ برابری نسبت به بیماران مبتلا به T2D می باشد. علاوه براین در بیماران مبتلا به MODY3 پاسخ به گلی کلازید، ۵ برابر موثرتر از متفورمین می باشد؛ بنابراین شناخت دقیق بیماران در بهبود شیوه ی درمانی آن‌ها بسیار موثر است (۱۰)؛ بنابراین، درصورتی‌که زیر گروه دقیق MODY نیز در این بیماران تشخیص داده شود، ممکن است در برخی از آن ها بتوان مصرف انسولین را قطع و از داروهای خوراکی استفاده کرد و یا نوع داروی مصرفی را بر اساس نوع بیماری، تغییر داد.

مهم‌ترین جنبه ی شناخت بیماران مبتلا به MODY این است که با توجه به الگوی توارث این بیماری که به‌صورت اتوزومی غالب است، احتمال انتقال بیماری به فرزند یک فرد مبتلا به MODY برابر با ۵۰٪ است (۱۰). این در حالی است که احتمال انتقال T1D از والد مبتلا به فرزند حدود ۸٪–۵٪ است (۲۹)؛ بنابراین، عدم‌تشخیص صحیح بیماران مبتلا به MODY سبب غفلت از احتمال بالای انتقال بیماری به فرزندان می شود. همچنین، انواع مختلف دیابت دارای عوارض متفاوتی در بیماران می باشند. برای مثال در MODY4 که ناشی از جهش در ژن IPF-1 می باشد، بدکاری پیش‌رونده‌ی پانکراس شایع است و در صورت هتروزیگوت بودن هر دو والد برای یک جهش (که معمولاً در ازدواج های فامیلی دیده می شود) فرزند هموزیگوت آن‌ها از دیابت نوزادی پایدار و ناکارآمدی پانکراس رنج خواهد برد (۳۰). در بیماران مبتلا به MODY5 که در اثر جهش در ژن HNF-1b ایجاد می شود، کیست های کلیوی همراه با دیابت (RCAD-Renal Cyst And Diabetes syndrome)، آنومالی واژن و بدشکلی در ساختار رحم و فعالیت نامناسب پانکراس دیده می شود؛ بنابراین، در صورت مشخص شدن جهش عامل بیماری در ژن خاص، می توان از طریق انجام تشخیص قبل از لانه گزینی (PGD) یا تشخیص قبل از تولد (PND)، از تولد فرزند مبتلا به دیابت، در خانواده هایی که والدین حامل جهش بیماری زا هستند، جلوگیری کرد (۳۱).

نتیجه‌گیری:

بیشتر بیماران مبتلا به MODY معمولاً به‌اشتباه به‌عنوان T1D یا T2D طبقه‌بندی می شوند. تمایز بیماران مبتلا به MODY از بیماران T2D با بررسی دقیق علائم بالینی تا حدودی امکان پذیر است. بهترین و قابل اعتمادترین راه برای تشخیص این بیماران انجام تست های ژنتیکی مناسب و یافتن جهش عامل بیماری در ژن های شناسایی‌شده است؛ ولی با توجه به اینکه تست های ژنتیکی پرهزینه است و انجام آن ها برای تمام بیماران مقدور نمی باشد، مارکرهای غیر ژنتیکی، می توانند در تشخیص بیماران مبتلا به MODY بسیار موثر باشند. این بیومارکرها شامل اتوآنتی بادی های پانکراس (مانند آنتی گد ۶۵ و آنتی انسولین ۲) و C-Peptide می باشند که با احتمال بالای ۹۵٪ می توانند موارد مبتلا به MODY را از مبتلایان به T1D متمایز کنند؛ بنابراین در یک جمعیت بزرگ از بیماران دیابتی می توان پس از تشخیص افتراقی آن‌ها از طریق تست های غیر ژنتیکی، فقط تعداد کمتری را برای انجام آزمایش ژنتیک تأییدکننده، کاندید کرد که این امر علاوه بر ارائه ی درمان مناسب به بیماران، سبب کاهش هزینه و صرفه‌جویی در زمان خواهد شد. در صورت انجام آزمایش ژنتیک و تعیین دقیق ژن دچار جهش شده، می توان از طریق انجام تشخیص های قبل از

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

تولد در افراد نسل بعد، از ابتلای آن ها به این بیماری جلوگیری کرد.

تشکر و قدردانی:

نتایج این مطالعه حاصل طرح با کد ۱۳۹۴-۰۱-۷۰-۲۵۹۶ است که در تاریخ ۹۵/۷/۲۸ به تصویب رسید، می باشد. از مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، پژوهشکده علوم پایه سلامت و کمیته تحقیقات دانشجویی دانشگاه که در زمینه‌ی تأمین هزینه ی مالی این طرح همکاری لازم را انجام دادند، تشکر می کنم. همچنین از مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در راستای معرفی بیماران و ارائه ی مشاوره ی بالینی توسط متخصصین محترم این مرکز نهایت تشکر را دارم.

منابع:

1. Nasri H, Shirzad H, Baradaran A, Rafieian-Kopaei M. Antioxidant plants and diabetes mellitus. J Res Med Sci. 2015; 20(5): 491-502.
2. American Diabetes A. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care. 2014; 37 Suppl 1: S81-90.
3. Aathira R, Jain V. Advances in management of type 1 diabetes mellitus. World J Diabetes. 2014; 5(5): 689-96.
4. Atkinson MA, Eisenbarth GS. Type 1 diabetes: New perspectives on disease pathogenesis and treatment. Lancet. 2001; 358(9277): 221-9.
5. Lois K, Kumar S. Obesity and diabetes. J Endocrinol Diabetes. 2009; 56: 38-42.
6. Tangvarasittichai S. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. World J Diabetes. 2015; 6(3): 456-80.
7. Nair VV, Chapla A, Arulappan N, Thomas N. Molecular diagnosis of maturity onset diabetes of the young in India. Indian J Endocrinol Metab. 2013; 17(3): 430-41.
8. Siddiqui K, Musambil M, Nazir N. Maturity onset diabetes of the young (MODY)-history, first case reports and recent advances. Gene. 2015; 555(1): 66-71.
9. Fajans SS, Bell GI. MODY. Diabetes care. 2011; 34(8): 1878-84.
10. Gardner DS, Tai ES. Clinical features and treatment of maturity onset diabetes of the young (MODY). Diabetes Metab Syndr Obes. 2012; 5: 101-8.
11. Glaser B. Maturity Onset Diabetes of the Young (MODY). N Engl J Med. 2014; 66(21): 65-9.
12. Gloyn AL, Faber JH, Malmodin D, Thanabalasingham G, Lam F, Ueland PM, et al. Metabolic profiling in Maturity-onset diabetes of the young (MODY) and young onset type 2 diabetes fails to detect robust urinary biomarkers. PloS one. 2012; 7(7): e40962.
13. Hattersley A, Bruining J, Shield J, Njolstad P, Donaghue KC. The diagnosis and management of monogenic diabetes in children and adolescents. Pediatr Diabetes. 2009; 10(12): 33-42.
14. Ellard S, Colclough K. Mutations in the genes encoding the transcription factors hepatocyte nuclear factor 1 alpha (HNF1A) and 4 alpha (HNF4A) in maturity-onset diabetes of the young. Hum Mutat. 2006; 27(9): 854-69.
15. Stein SA, Maloney KL, Pollin TI. Genetic Counseling for Diabetes Mellitus. Curr Genet Med Rep. 2014; 2(2): 56-67.
16. Braghi S, Bonifacio E, Secchi A, Di Carlo V, Pozza G, Bosi E. Modulation of humoral islet autoimmunity by pancreas allotransplantation influences allograft outcome in patients with type 1 diabetes. Diabetes. 2000; 49(2): 218-24.
17. Palmer JP, Fleming GA, Greenbaum CJ, Herold KC, Jansa LD, Kolb H, et al. C-peptide is the appropriate outcome measure for type 1 diabetes clinical trials to preserve beta-cell function: report of an ADA workshop, 21-22 October 2001. Diabetes. 2004; 53(1): 250-64.
18. Palmer JP, Asplin CM, Clemons P, Lyen K, Tatpati O, Raghu PK, et al. Insulin antibodies in insulin-dependent diabetics before insulin treatment. Science. 1983; 222(4630): 1337-9.
19. Flint A, Arslanian S. Treatment of type 2 diabetes in youth. Diabetes care. 2011; 34(2): S177-83.
20. Pihoker C, Gilliam LK, Ellard S, Dabelea D, Davis C, Dolan LM, et al. Prevalence, characteristics and clinical diagnosis of maturity onset diabetes of the young due to mutations in

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018

HNF1A, HNF4A, and glucokinase: Results from the search for Diabetes in Youth. J Clin Endocrinol Metab. 2013; 98(10): 4055-62.
21. Grunberger G, Sima AA. The C-peptide signaling. Exp Diabesity Res. 2004; 5(1): 25-36.
22. Couri CE, Oliveira MC, Stracieri AB, Moraes DA, Pieroni F, Barros GM, et al. C-peptide levels and insulin independence following autologous nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. Jama. 2009; 301(15): 1573-9.
23. Szepietowska B, Szelachowska M, Gorska M, Stepien A, Kinalska I. [Clinical, biochemical and immunological characteristic of diabetes type I, LADA, diabetes type II, and MODY patients]. Pol Arch Med Wewn. 2002; 108(6): 1177-84.
24. Furuzawa GK, Giuffrida FM, Oliveira CS, Chacra AR, Dib SA, Reis AF. Low prevalence of MODY2 and MODY3 mutations in Brazilian individuals with clinical MODY phenotype. Diabetes Res Clin Pract. 2008; 81(3): e12-4.
25. Vionnet N, Stoffel M, Takeda J, Yasuda K, Bell GI, Zouali H, et al. Nonsense mutation in the glucokinase gene causes early-onset non-insulin-dependent diabetes mellitus. Nature. 1992; 356(6371): 721-2.
26. Forlani G, Zucchini S, Di Rocco A, Di Luzio R, Scipione M, Marasco E, et al. Double heterozygous mutations involving both HNF1A/MODY3 and HNF4A/MODY1 genes: A case report. Diabetes Care. 2010; 33(11): 2336-8.
27. Capuano M, Garcia-Herrero CM, Tinto N, Carluccio C, Capobianco V, Coto I, et al. Glucokinase (GCK) mutations and their characterization in MODY2 children of southern Italy. PloS one. 2012; 7(6): e38906.
28. Erem C, Ozbas HM, Nuhoglu I, Deger O, Civan N, Ersoz HO. Comparison of effects of gliclazide, metformin and pioglitazone monotherapies on glycemic control and cardiovascular risk factors in patients with newly diagnosed uncontrolled type 2 diabetes mellitus. Exp Clin Endocrinol Diabetes. 2014; 122(5): 295-302.
29. Parikka V, Nanto-Salonen K, Saarinen M, Simell T, Ilonen J, Hyoty H, et al. Early seroconversion and rapidly increasing autoantibody concentrations predict prepubertal manifestation of type 1 diabetes in children at genetic risk. Diabetologia. 2012; 55(7): 1926-36.
30. Pearson ER, Badman MK, Lockwood CR, Clark PM, Ellard S, Bingham C, et al. Contrasting diabetes phenotypes associated with hepatocyte nuclear factor-1alpha and -1beta mutations. Diabetes care. 2004; 27(5): 1102-7.
31. Nakayama M, Nozu K, Goto Y, Kamei K, Ito S, Sato H, et al. HNF1B alterations associated with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. Pediatr Nephrol. 2010; 25(6): 1073-9.

Journal of Shahrekord University of Medical Sciences
(J Shahrekord Univ Med Sci) 2018; 20(2): 109-118.

Original article

Use of non-genetic biomarkers including anti-GAD65, anti-Insulin (II) and C-peptide in differentiating MODY type diabetes in a population of diabetic patients in Isfahan province

Sarmadi A[1], Tabatabiefar MA[2], Tabatabaei F[3], Gholizade A[4], Hashemzade Chaleshtori M[5*]
[1]Student, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [2]Genetics and Molecular Biology Dept., Isfahan University Of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran; [3]Isfahan Endocrine and Metabolism Reaserch Center, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, I.R. Iran; [4]Student, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran; [5]Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran.

Received: 25/July/2017 Accepted: 1/Nov/2017

Background and aims: Diabetes mellitus is a group of metabolic disorders in the body, accompanied with increasing blood sugar levels. Diabetes is classified into 3 groups: Type 1 (T1DM), Type 2 (T2DM) and monogenic diabetes. Maturity-onset diabetes of the young (MODY) is a monogenic diabetes that is frequently mistaken for T1D or T2D. The aim of this study was to diagnose MODY using non-genetic biomarkers and determine its frequency in the population of Isfahan province. This, in addition to saving time and cost, is important for prognosis and appropriate treatment.

Methods: In this analytical descriptive study 2085 diabetic patients with a 2-6 years of disease were examined and after assessing the clinical symptoms, in 57 cases with clinical symptoms for MODY, three markers (C-peptide, anti-GAD65 and anti-insulin (II)) were measured by ELISA method and compared with healthy cases and confirmed T1D and T2D patients.

Results: In this analytical descriptive study, among 2085 diabetic patients, in 500 cases of them, the incidence of the disease was before the age of 25 years of old and after measuring 3 mentioned biochemical markers, 41 cases were negative for anti-GAD65 and anti-Insulin and had detectable C-peptide level and the differences in the levels of these three markers in suspected MODY group were meaningful ($P<0.001$ for anti-GAD65, $P<0.017$ for anti-Insulin (II) and $P<0.009$ for C-peptide).

Conclusion: The use of proprietary non-genetic biomarkers is very valuable for MODY detection and could be used alongside other clinical features to screen a large number of patients with diabetes. Ultimately, only suspect cases must be selected for genetic tests.

Keywords: **MODY, Anti-GAD65, Anti Insulin (II), C-peptide.**

Cite this article as: Sarmadi A, Tabatabiefar MA, Tabatabaei F, Gholizade A, Hashemzade Chaleshtori M. Use of non-genetic biomarkers including anti-GAD65, anti-Insulin (II) and C-peptide in differentiating MODY type diabetes in a population of diabetic patients in Isfahan province. J Shahrekord Univ Med Sci. 2018; 20(2): 109-118.

[*]**Corresponding author:**
Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, I.R. Iran. Tel: 00989136463486, E-mail: akramsarmadi@gmail.com

Downloaded from journal.skums.ac.ir at 10:04 +0430 on Wednesday June 27th 2018