Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی
دوره ۵ شماره ۳ پاییز ۱۳۸٦ , صفحات : ۱۳- ۱

ارتباط پلی مورفیسم (3'UTR(1484insG از ژن پروتئین تیروزین فسفاتاز ۱B با بیماری دیابت نوع۲ ، مقاومت به انسولین و چاقی در یک جمعیتی از تهران

عبـاس موسـی پـور: دانـشجوی دوره کارشناسـی ارشـد, گـروه بیوشـیمی بـالینی, دانـشکده علـوم پزشـکی، دانـشگاه تربیـت مـدرس، تهـران، ایـران
نویسنده رابط : ab_mspr@yahoo.com
دکتر محمد تقی خانی: استاد, گروه بیوشیمی بالینی, دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
دکتر رضا مشکانی: استادیار, گروه بیوشیمی بالینی, دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
دکتر شهره خاتمی: استادیار, بخش بیوشیمی ، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
سالار بختیاری: دانشجوی دوره دکتری, گروه بیوشیمی بالینی, دانشکده علوم پزشکی, دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
کریمه حقانی : دانشجوی دوره دکتری, گروه بیوشیمی , دانشکده علوم پایه, دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
دریافت : ۱۳۸۵/۲/۵ پذیرش : ۱۳۸٦/٤/۵

چکیده

زمینه و هدف: بیماری دیابت نوع۲ شایع ترین بیماری متابولیکی بوده که عوامل محیطی و ژنتیکی در بروز آن نقش دارند. علت این بیماری عدم کارایی ترشح و عمل انسولین می باشد ودر واقع چنین به نظر می رسد که دیابت نوع۲ آخرین مرحله سیر مقاومت به انسولین است. مقاومت به انسولین یک وضعیت پاتولوژیک است که سلول های هدف به ویژه سلول های بافت چربی و عضلانی نسبت به مقدار نرمال انسولین خون کاهش پاسخ دارند. در میان ژنهای کاندید، پروتئین تیروزین فسفاتاز- B1 (PTP1B) که مهار کننده مسیر سیگنالینگ انسولین و لپتین می باشد، یکی از ژنهای مهم میباشد. هدف این تحقیق بررسی ارتباط پلی مورفیسم (3'UTR(1484insG از ژن PTP1B با بیماری دیابت نوع۲،مقاومت به انسولین و فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با آن و چاقی می باشد.

روش کار : مطالعه بر روی ۲٦٤ فرد با گلوکز ناشتای نرمال و ۷۱ فرد مبتلا به دیابت نوع۲ ازیک جمعیت شهری تهران انجام شد، ابتدا اطلاعات تن سنجی و دموگرافیک کلیه داوطلبین گردآوری شده و سپس تست تحمل گلوکز با ۷۵گرم گلوکز خوراکی بر روی تمامی افراد غیردیابتی انجام پذیرفت . پس از اخذ نمونه و انجام آزمایشات بیوشیمیایی، بر اساس معیار سازمان بهداشت جهانی(WHO)، افراد غیر دیابتی و دیابتی نوع۲ شناسایی شدند. میزان مقاومت به انسولین بر اساس معیار HOMA-IR محاسبه گردید.. برای شناسایی این پلی مورفیسم((3'UTR(1484insG) تکنیک PCR-RFLP انجام شد

نتایج : در این مطالعه فراوانی اللی پلی مورفیسم 1484insG در بین افراد غیردیابتی و بیماران دیابتی نوع۲، به ترتیب ۳/۸٪ و ٦/۳٪ می باشد (p =۰/۱۹۲). در این تحقیق افراد غیر دیابتیک دارای این پلی مورفیسم مقادیر بالاتری را در مورد فاکتورهای شاخص توده بدنی (p =۰/۰۱)، کلسترول (p =۰/۰۷)، فشار خون دیاستولیک (p =۰/۰۰۲) و شاخص HOMA-IR(p =۰/۰٤) در مقایسه با افراد با الل طبیعی، نشان داده اند. شیوع مقاومت به انسولین (HOMA-IR>۲/۳۵۷) در افراد غیر دیابتی دارای این پلی مورفیسم، تفاوت معنی داری را در مقایسه با الل طبیعی نشان داد(۵۷/۲٪ و ۲٤/۸٪) (p < ۰/۰۵). در بیماران دیابتی نوع۲ دارای این پلی مورفیسم، تنها فاکتورهای انسولین (p =۰/۰۵٤) و شاخص عملکرد سلول های بتا(HOMA-B)(p=۰/۰٤) تفاوت معنی داری را در مقایسه با افراد دیابتی الل طبیعی نشان داده اند. فاکتورهای تری گلیسیرید، فشار خون سیستولیک، شاخص عملکرد سلولهای بتا ، کلسترول بد(LDL)، انسولین و گلوکز ناشتا و تست تحمل گلوکز تفاوت معنی داری را در بین دو گروه افراد غیر دیابتی نشان نداد. بررسی ها به تفکیک جنس در بین دو گروه افراد نیز تفاوت معنی داری را در شاخص توده بدنی (p =۰/۰۲۵)، فشار خون سیستولیک (p =۰/۰٤٦) و دور باسن (p =۰/۰۱۹) زنهای غیر دیابتی دارای این پلی مورفیسم در مقایسه با الل طبیعی نشان می دهد، در صورتی که این تفاوت در مردها فقط در مورد فشار خون سیستولیک، معنی دار می باشد(p =۰/۰۳۹) .

نتیجه گیری : افرادی که ناقل (3'UTR(1484insG از ژن PTP1B هستند، افراد هیپرانسولینمیک می باشند و افزایش معنی داری در بعضی فاکتورهای بیوشیمیایی مرتبط با سندروم متابولیک نشان می دهند. نتایج این مطالعه شواهدی را فراهم می سازد که پلی مورفیسم (3'UTR(1484insG در جمعیت ایرانی با مقاومت به انسولین ارتباط دارد و احتمال دارد که در سوق دادن افراد به سمت بیماری دیابت نوع۲ و سندرم متابولیک نقش داشته باشد. جهت شناسایی نقش بیشتر این پلی مورفیسم، بررسی آن در یک جمعیت بزرگتر کمک شایان توجهی خواهد نمود.

واژگان کلیدی: مقاومت به انسولین،3UTR, شاخص برآوردی مقاومت به انسولین(HOMA-IR), پلی مورفیسم, پروتئین تیروزین فسفاتاز-۱

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

مقدمه

بیماری دیابت نوع۲ شایع ترین بیماری متابولیکی بوده که عوامل محیطی و ژنتیکی در بروز آن نقش دارند. این بیماری در واقع مرحله پایانی اختلال مزمن و پیشرونده ای است که ناشی از مقاومت به انسولین، کاهش عملکرد سلولهای بتا پانکراس و افزایش تولید گلوکز توسط کبد می باشد. در حال حاضر دیابت نوع۲ با افزایش قند خون بیش از میزان طبیعی و یا هنگام تظاهر عوارض بالینی دیابت تشخیص داده می شود. در حالی که به نظر می رسد این مرحله تنها نقطه انتهایی و قله کوه یخی است که مقاومت به انسولین و اختلالات متابولیک مربوطه پایه آن را تشکیل میدهند. مطالعات نشان داده است که مقاومت به انسولین یک دهه قبل از ظهور علائم بالینی دیابت نوع ۲ وجود دارد (Bloomgarden 2005; Hegele and Pollex 2005).

مقاومت به انسولین یک وضعیت پاتولوژیک است که سلول های هدف بویژه سلول های بافت چربی و عضلانی نسبت به مقدار نرمال انسولین خون کاهش پاسخ دارند. جهت برقراری هوموستاز قند خون، ترشح انسولین توسط سلول های بتا پانکراس، افزایش می یابد (Stocker et al. 2005; Kolovou et al. 2005). در اوایل بیماری ترشح مازاد انسولین از سلول های پانکراس قادر به کنترل قند خون بوده، به مرور زمان انسولین جبرانی برای کنترل قند خون کافی نبوده و این افراد به سمت نقص تحمل گلوکزIGT (Impair Glucose Tolerance) پیش رفته، و در نهایت با نقص سلولهای بتا دچار دیابت نوع T2DM۲ (Type 2 Diabetes Mellitus) می شوند(Harold et al. 2004 ; Haruhiko et al. 2003). تقریبا تمام افراد دیابتی و نه همه افراد IGT مقاوم به انسولین هستند. مقاومت به انسولین در پاتوژنسیته اختلالاتی از جمله: پرفشاری خون، دیس لیپیدمی، دیابت نوع۲ ، چاقی ، کبد چرب ، بیماریهای قلبی عروقی نقش دارد. به مجموعه این اختلالات سندروم متابولیک (سندروم مقاومت به انسولین) اطلاق می گردد (Kolovou et al. 2005; Kohler 2002 ; Michael et al. 2004).

با وجودی که تلاشهای گسترده ای در جهت شناسایی علت مقاومت به انسولین صورت گرفته است، مکانیسم مولکولی آن هنوز به طور کامل و دقیق شناسایی نشده است. عواملی از جمله؛ آنتاگونیستهای انسولین، تولید انسولین غیرطبیعی از سلولهای بتا پانکراس، فاکتورهایی مانند FFA (Free Fatty Acid) و TNF- α (Tumor Necrosis Factor-alpha) (از طریق مسیر سیگنالینگ) و نقص رسپتور و سوبستراهای رسپتور انسولین؛ در ایجاد مقاومت به انسولین دخیل می باشند ولی در سطح مولکولی مقاومت به انسولین بیشتر از طریق نقص در مسیر انتقال پیام انسولین رخ می دهد که ناشی از موتاسیونها و تغییرات پس از ترجمه ژنهای دخیل می باشد. موتاسیونهای مختلفی در رسپتور انسولین، ترانسپورترهای گلوکز، پروتئین های مسیر سیگنالینگ انسولین شناسایی شده اند، اما به دلیل نادر بودن در پاتوژنز مقاومت به انسولین و دیابت نوع۲، نقش اساسی ندارند. یکی از مهمترین عوامل ایجاد مقاومت به انسولین؛ نقص عملکردی انسولین در مسیر بعد از اتصال به رسپتور و در واقع نقص عملکرد فاکتورهای مولکولی داخل سلول می باشد که مسیرهای پیغام رسانی در جهت فعالیتهای طبیعی متابولیکی انسولین را دچار اختلال می کند. در این راستا یکی از مهمترین فاکتورها کینازها و پروتئین فسفاتازها می باشند. پروتئین فسفاتازها با دفسفریلاسیون رسپتورها در داخل سلول عملکرد طبیعی مسیر پیغام رسانی را تحت تاثیر قرار می دهند. یکی از مهمترین فسفاتازهایی که در سلول های هدف انسولینی وجود دارد، پروتئین فسفاتاز-1B (PTP1B) می باشد (Anderson et al. 2004; Andrea et al. 2005).

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

PTP1B (Protein Tyrosine Phosphatase-1b) اولین فسفاتازی بود که از جفت استخراج و خالص گردید (Andrea et al. 2005). از زمان شناسایی آن، این ژن یک کاندید برای تنظیم مسیر پیغام رسانی انسولین بوده و مطالعات نشاندهنده این حقیقت بود که پروتئین تیروزین فسفاتاز۱B به عنوان اصلی ترین فسفاتاز تنظیم کننده مسیر انتقال پیام انسولین می باشد. ژن این پروتئین در محل کروموزوم ۱۳،۲و۱۳،۱q۲۰ و در نزدیکی مارکرهای دیابت و چاقی قرار دارد و مطالعات انجام شده، افزایش بیان این ژن در سلولهای بافت چربی و بافت ماهیچه ای افراد چاق و مقاوم به انسولین را نشان می دهد (Forsell et al. 2000; Hanson et al. 1998). در مطالعه ای که بر روی موشهای فاقد ژن PTP1B انجام شده بود (PTP1B+/- و PTP1B-/-)؛ مقاومت به افزایش وزن در مقابل رژیم پرچربی و همچنین حساسیت به انسولین، در این موشها مشاهده می شد. درحالی که موشهای با ژنوتیپ طبیعی (PTP1B+/+) افزایش وزن و مقاومت به انسولین را نشان داده اند (Goldstein et al. 2001; Forsell et al. 2000). همچنین مطالعات اخیر بر روی سل لاین هیپوتالاموسی (GT1-7)، نقش PTP1B را در تنظیم منفی انسولین و لپتین به اثبات رسانده است (Ukkola et al. 2002).

از زمان شناسایی PTP1B و نقش آن به عنوان تنظیم کننده منفی مسیر سیگنالینگ انسولین، اهمیت تغییرات در پاتوژنسیته مقاومت به انسولین و دیابت نوع۲، مورد توجه ویژه ای قرار گرفت. مطالعات ژنتیکی متعددی بر روی این ژن انجام گرفت؛ پلی مورفیسم (981C-T) از اگزون ۸ PTP1B در کدون ۳۰۳ مورد مطالعه قرار گرفت. این پلی مورفیسم در افرادی با گلوکز ناشتای نرمال در ایالتی از کانادا مشاهده شد و بررسی فاکتورهای بیوشیمیایی در این افراد، نقش حفاظتی این پلی مورفیسم را در ابتلا به دیابت و اختلال تحمل گلوکز نشان داد (Mok et al. 2002). پلی مورفیسم[(P387L)CCA-CTA] در اگزون های ۸ و۹ این ژن نیز تغییراتی را در پارامترهای تری گلسیرید، apoB و Lpa افراد دارای این پلی مورفیسم، نشان داد (Echwald et al. 2002.). همچنین مطالعه ای که Di Paola در سال ۲۰۰۲ بر روی این ژن انجام داد، پلی مورفیسمی را در ناحیه 3'UTR(1984insG) (Untranslated region) شناسایی کرد که افزایش بیان ژن PTP1B را در پی داشته است؛ همچنین افراد دارای این پلی مورفیسم تغییر افزایشی در مقادیر بعضی از فاکتورهای مرتبط با سندرم مقاومت به انسولین، چاقی و همچنین سطح بیشتر mRNA را نشان می دادند (Paolo et al. 2002). این پلی مورفیسم در مطالعه دیگری بر روی افراد دیابتیک نوع۱ مبتلا به نفروپاتی نیز مورد بررسی قرار گرفت (Marruccle et al. 2003). همچنین بررسی این پلی مورفیسم در جمعیت ها و نژاد های مختلف نتایج متفاوتی را در مورد فراوانی اللی و تغییرات مرتبط با سندرم مقاومت به انسولین و دیابت نشان داده است (Spencer et al. 2005; Jennifer et al. 2006; Dahlman et al. 2004).

با توجه به اهمیت این پلی مورفیسم و افزایش پایداریmRNA ژن PTP1B و ارتباط آن با فاکتورهای سندرم مقاومت به انسولین و از طرف دیگر با توجه به شیوع روزافزون بیماری دیابت نوع۲، مقاومت به انسولین، چاقی و بیماریهای قلبی عروقی در ایران، ژنوتیپینگ و بررسی ارتباط این پلی مورفیسم با فاکتورهای ذکر شده ، مورد هدف قرار گرفت.

روش کار

این تحقیق یک مطالعه شاهد- موردی می باشد، در این تحقیق بر طبق روش نمونه گیری تصادفی، تعداد۳۳۵ نفر انتخاب شده اند که نمونه ها بر حسب

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

تفکیک؛۷۱ مورد دیابتیک (از بیمارستان شریعتی) و ۲٦٤مورد غیردیابتیک با قند ناشتای نرمال(از انستیتو پاستور ایران) می باشند. لازم به ذکر است که برای برآورد حجم نمونه از فرمول $n = z^2_{(1-\alpha)} p(1-p)/d^2$ استفاده شده است (محاسبه تعداد نمونه از روی فراوانی و درصد خطای مشخص که با ضریب خطای ۰/۰۳ درصد و فراوانی ۸٪ (مربوط به پلی مورفیسم مورد نظر درآخرین بررسی انجام شده درآن جمعیت) و با اطمینان ۹۵٪، تعداد نمونه ۳۲۷ نفر می باشد که از بین مراجعین ۸۰-۲۰ ساله انتخاب شده اند.

داده های مورد نظر از طریق دعوت تمام افراد متقاضی جهت مصاحبه و معاینه به محل مذکور(انستیتو پاستور ایران و بیمارستان شریعتی) به روش زیر بدست آمد؛ مصاحبه در بخش پذیرش به صورت خصوصی و با روش چهره به چهره انجام شد، مصاحبه با استفاده از پرسشنامه از پیش آزمون شده صورت گرفته است. البته لازم به یادآوری است که آگاهی و تایید تحقیق (رضایت نامه) بررسی بیوشیمیایی و ژنتیکی از نمونه های افراد مذکور نیز مورد سوال قرار گرفت. همچنین اطلاعات مربوط به پیشینه پزشکی، مصرف داروها و فشار خون نیز مورد سوال قرار گرفت. وزن با حداقل پوشش و بدون کفش با استفاده از یک ترازوی دیجیتال با دقت ۱۰۰ گرم اندازه گیری شد. قد افراد با استفاده از متر نواری و در وضعیت ایستاده و بدون کفش، اندازه گیری شد. نمایه توده بدنی Body Mass Index (BMI) از رابطه وزن (به کیلوگرم) بر مجذور قد(به متر مربع) محاسبه گردید. دور کمر در باریکترین ناحیه آن در حالتی ارزیابی شد که فرد در انتهای بازدم طبیعی خود قرار داشت. جهت اندازه گیری دورکمر و دور باسن با استفاده از یک متر نواری غیرقابل ارتجاع بدون تحمیل هر گونه فشاری به بدن فرد با دقت۰/۱ سانتی مترصورت گرفت. از تقسیم دور کمر به دور باسن (Waist Hip Ratio (WHR محاسبه شد.

چاقی بر مبنای سازمان بهداشت جهانی به صورت BMI >۳۰ تعریف شد، همچنین برای فاکتور دور کمر؛ حد مرزی cm ۱۰۲ ≤ در مردان و cm ۸۸≤ در زنان استفاده شد. نسبت دور کمر به دور باسن بزرگتر یا مساوی ۰/۹ در مردان و بزرگتر یا مساوی ۰/۸ در زنان به عنوان حد مرزی برای تعریف چاقی در نظر گرفته شد. جهت اندازه گیری فشار خون، از یک فشارسنج جیوه ای استاندارد که اندازه بازوبند آن بسته به دور بازوی افراد متغیر بود استفاده شد. میانگین دو اندازه گیری محاسبه وبه عنوان فشار خون نهایی افراد در نظر گرفته شد. پر فشاری خون، طبق معیار سازمان جهانی بهداشت سیستولیک ≤ mmHg ۱٤۰یا دیاستولیک ≤ mmHg ۹۰ یا مصرف داروهای پایین آورنده فشار خون تعریف شد (Arthure et al. 1999).

تست تحمل گلوکز: این تست در افراد غیردیابتی، با استفاده از ۷۵ گرم گلوکز خوراکی و نمونه گیری ۰و۱۲۰ دقیقه انجام پذیرفت. مطابق با معیار سازمان بهداشت جهانی در افرادی که سطح گلوکز خون دو ساعته بیش از mg/dl ۲۰۰ (mmol/l۱۱/۱) و قند ناشتا بیشتر از mg/dl ۱۲٦ باشد به احتمال زیاد فرد مذکور مبتلا به دیابت می باشد. و نقص تحمل گلوکز به مواردی اطلاق می شود که قند خون دو ساعت پس از مصرف گلوکز (۷۵گرم) mg/dl ۱۹۹-۱٤۰ (mmol/l ۱۱/۱- ۷/۸) و قند ناشتا کمتر از mg/dl ۱۲٦باشد. افراد نرمال نیز با شاخصه گلوکز ناشتایی کمتر از ۱۲٦ میلی گرم بر دسی لیتر و گلوکز دو ساعته کمتر از ۱٤۰ میلی گرم بر دسی لیتر (mmol/l ۷/۸>) مشخص می شوند(Expert Committee 1997).

اندازه گیری بیوشیمیایی: نمونه های خون برای جداسازی سرم و پلاسما به مدت ۵ دقیقه با سرعت

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. آنالیز تست ها با دستگاه RA۱۰۰۰ انجام گرفت. آزمون کلسترول تام و تری گلسیرید به ترتیب باروش کالریمتری آنزیمی با کلسترول استراز، کلسترول اکسیداز و گلیسرول فسفات اکسیداز با استفاده از کیتهای شرکت پارس آزمون انجام گرفت. اندازه گیری HDL-C سرم پس از رسوب محلول آپولیپوپروتئین ها با اسید فسفو تنگستنیک صورت گرفت. LDL-C با استفاده از فرمول فریدوالد محاسبه شد(در صورتی که TG کمتر ازmg/dl ٤٠٠ باشد). به منظور کنترل کیفی هر کدام از تستهای بیوشیمیایی، از کنترل استاندارد تجاری قابل دسترس استفاده شد. دقت و صحت این کنترلها ما بین هر ۲۰ نمونه داوطلبین مورد ارزیابی قرار گرفت. برآورد گلوکز ناشتا به طریق رنگ سنجی آنزیمی با روش گلوکز اکسیداز صورت پذیرفت. برای ارزیابی گلوکز فرد در سه ماه گذشته، HbA1c یا هموگلوبین گلیکوزیله با روش HPLC اندازه گیری شد. اندازه گیری فاکتورهای هورمونی انسولین وC-پپتید به روش رادیوایمنواسی (RIA, IRMA)؛ تمایل ترکیبی آنتی ژن و آنتی بادی، انجام شد که با واسطه دستگاه شمارنده اشعه گاما (Gamma counter) ودر نهایت با توجه به استانداردها و کالیبراتورها و ردیاب(Tracer)، اندازه این دو هورمون نشاندار شده در هر نمونه قابل برآورد می باشد. در این تحقیق مقاومت به انسولین از روی معیار(HOMA) Homeostasis Model Assessment Index، برآورد شد:

HOMA-IR= FBI (microUI/l). FBS (mmol/l)/22/5. این رابطه تحت عنوان شاخص HOMA-IR مطرح می باشد و در واقع بر اساس گلوکز و انسولین ناشتا برآورد می شود. البته مقدار این رابطه با توجه به مقدار گلوکز و انسولین می تواند متغیر باشد، بنابراین در هر جمعیتی می تواند مقادیر متفاوتی را نشان دهد و معیار استانداردی برای تمام جمعیت ها وجود ندارد و بسته به سلامت جامعه و مطابق مطالعات گذشته، صدکهای ۸۰ یا ۹۰ افرادی با گلوکز ناشتای نرمال به عنوان حدمرزی مقاومت به انسولین در افراد در نظر گرفته می شود. (البته در این مطالعه صدک ۹۰ انتخاب شد (HOMA-IR=۲/۳۷٦))؛ با این شاخص، افراد مقاوم به انسولین دیابتیک و نرمال و همچنین افراد حساس به انسولین نیز مشخص می شوند. شاخص عملکرد سلولهای بتا (BCF) که به معیار HOMA-B معروف است، نیز از طریق فرمول زیر محاسبه شد: HOMA-B:20FBI(microUI/l)/FBS(m mol/l)-3/5 (Matthews et al. 1985).

مطالعات ژنتیکی: جهت مطالعات ژنتیکی، نمونه DNA از لکوسیتهای خون با استفاده از کیت تخلیص DNA پستانداران از شرکت دارویی Roche برای استخراج DNA استفاده شد. برای بررسی پلی مورفیسم 3'UTR(1484insG) از روش PCR-RFLP استفاده شد. ۱۰۰ نانوگرم از DNA ژنومی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی(F;5'CATGAGGCGACAGCACTG.3') (R; 5'CTTCCATTCCCAGTACTACCTG3') با روش PCR تکثیر شدند. محصول PCR قطعه ای به طول ٦٣٧bp (در الل طبیعی) و ٦٣٨bp (در صورت وجود 1484insG) می باشد. سپس محصولات PCR با روش هضم آنزیمی مورد بررسی قرار گرفتند(RFLP)؛ بدین صورت که ۱۵ میکرولیتر از محصول PCR همراه با ۱۰U از آنزیم (CFR42I) SacII در شرایط ۳۷ درجه به مدت ۳ ساعت مجاور شدند. سپس این محصولات با استفاده از ژل آگارز ۳/۵٪ مورد آنالیز قرار گرفتند. هضم آنزیمی زمانی اتفاق می افتد که باز گوانین در توالی مورد برش این آنزیم وجود داشته باشد. در افراد هتروزیگوت چهار قطعه ٢٤bp، ١٦٦، ٤٤٨، ٤٧٢؛ ولی در افراد هموزیگوت قطعات bp ٢٤، ١٦٦، ٤٤٨ بعد از هضم آنزیمی مشاهده می شود. همچنین الل طبیعی بعد از هضم آنزیمی نیز دو قطعه bp ١٦٦ و ٤٧٢ را نشان می دهد (شکل۱).

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

آنالیز داده ها: برای تجزیه و تحلیل داده های تحقیق از نرم افزار آماری SPSS (Version 11) استفاده شده است. در بخش آمار توصیفی، به کمک شاخص ها و آماره های؛ میانگین، انحراف استاندارد، فراوانی داده ها به توصیف داده ها پرداخته و در بخش آمار استنباطی برای برآورد تفاوت پارامترهای بیوشیمیایی و فاکتورهای دموگرافیک در بین ژنوتیپهای مختلف از آزمون اختلاف میانگینها (t- تست) در گروههای مختلف جمعیت مورد مطالعه، استفاده شده است. آنالیز رگرسیون لجستیک برای محاسبه ORsو حدود اطمینان ۹۵ درصد با تعدیل برای سن وجنس مورد استفاده قرار گرفت. برای مقایسه گروهها در زمانی که ما سن و جنس را برای مقادیر متغیرهای دیگر تعدیل نمودیم؛ ANOVA نیز مورد استفاده قرارگرفت.

نتایج

فراوانی ژنوتیپی 1484insG/wt (I/D) در افراد غیردیابتی ۷/۶٪ (n=۲۱) و در افراد دیابتیک حاضر در این مطالعه ۱۲/۷٪ (n=۹) بوده است (p = ۰/۱۹۲). در این بررسی هیچ مورد هموزیگوتی مشاهده نشد. همچنین فراوانی اللی این پلی مورفیسم در افراد غیردیابتیک و مبتلایان به دیابت نوع۲ به ترتیب ۳/۸٪ و ۶/۳٪ بوده است (جدول۱). البته فراوانی اللی در این مطالعه در مقایسه با مطالعات مشابه پایین می باشد. به دلیل اینکه مقاومت به انسولین ، دیابت نوع ۲ و مقادیر گلوکز و انسولین و فاکتورهای متابولیکی، تحت تاثیر سن، جنس قرار می گیرند؛ بنابراین در آزمون های مقایسه ای، مقادیر این متغیرها برای فاکتورهای سن و جنس تعدیل شده اند. بررسی تفاوت فراوانی اللی بین بیماران دیابتیک نوع ۲ و افراد غیردیابتی نشاندهنده عدم وجود ارتباط معنی دار بین دو گروه ذکر شده می باشد[p = ۰/۲۰۵ و(۰/۲۰۵-۱/۴۰۵) ۰/۵۸۷ OR].

داده های تن سنجی و بیوشیمیایی، بیماران دیابتیک و افراد غیردیابتی در جدول ۲ نشان داده شده است. در افراد غیردیابتی دارای این پلی مورفیسم، مقادیر BMI (p =۰/۰۱۲)(۵/۴۵ ± ۲۸/۴۸ در مقابل ۴/۲۶± ۲۵/۹۱) فشار خون دیاستولیک (p =۰/۰۰۲) (۸/۲۴ ± ۸۲/۵۷ در مقابل ۹/۱۴ ± ۷۷/۳۱) و شاخص مقاومت به انسولین (p =۰/۰۴۱) (۰/۷۵۹ ± ۲/۴۱۷ در مقابل ۰/۸۴۹ ± ۲/۰۲) ، به طور معنی داری مقادیر بالاتری از پارامترهای ذکر شده را در مقایسه با الل طبیعی نشان می دهند. در حالی که این تفاوت در مورد کلسترول (p =۰/۰۷) و LDL (p =۰/۱۹۲) و همچنین گلوکز، انسولین، تری گلسیرید و فشار خون سیستولیک؛ معنی دار نمی باشد. در بیماران دیابتیک نوع ۲ تنها مقادیر عملکرد سلول های بتا (p =۰/۰۴۱) در افراد دارای این پلی مورفیسم به طور معنی داری مقدار پایین تری را نسبت به الل طبیعی نشان داده اند (۱۲/۳ ± ۲۰/۵۴ در مقابل ۱۵/۴ ± ۴۵/۹۷). فراوانی اللیک این پلی مورفیسم در زنان بیشتر از مردان است (۵/۵٪ در جنس مونث در مقابل ۲/۳۵٪ جنس مذکر؛ p=۰/۰۴۹) و مقایسه فاکتورهای بیوشیمیایی و دموگرافیک به تفکیک جنس در افراد غیر دیابتیک تفاوت معنی داری را در شاخص توده بدنی (p=۰/۰۲۵)، فشار خون سیستولیک (p =۰/۰۴۶) و دور باسن (p =۰/۰۱۹) زنهای حاضر در این مطالعه در مقایسه با الل طبیعی نشان داد ؛ همچنین این تفاوت در مورد فشار خون دیاستولیک معنی دار نمی باشد (p =۰/۰۷۳). در صورتی که مرد های غیر دیابتی دارای پلی مورفیسم حاضر دراین مطالعه فقط در مورد فشار خون سیستولیک تفاوت معنی داری را در مقایسه با الل طبیعی، نشان دادند (p =۰/۰۳۹).

شیوع مقاومت به انسولین از روی برآورد شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-ir)(صدک ۹۰ از مقدار برآوردی آن در افراد نرمال؛۲/۳۷۶) محاسبه شد (۲۷/۳٪). افراد دارای این تغییر ژنتیکی نسبت به

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

افرادی با الل طبیعی، مقاومت بیشتری به انسولین از خود نشان دادند؛ ۵۷/۲٪ از افراد غیردیابتیک دارای این پلی مورفیسم مقاوم به انسولین و ۲٤/۸٪ از افراد با الل طبیعی در این ژن ،مقاوم به انسولین بودند.

همچنین مقایسه ای که بر اساس شاخص توده بدنی در افراد غیر دیابتیک و به تفکیک پلی مورفیسم انجام شد نشان دهنده این حقیقت بودکه افراد دارای این پلی مورفیسم که شاخص توده بدنی بزرگتر از ۲۵ (BMI >۲۵) داشتند، تفاوت معنی داری در مقادیر فشار خون دیاستولیک (p=۰/۰۲۸) کلسترول(p=۰/۰۳۲)، HDL (p =۰/۰۲۳) وLDL (p=۰/۰۲٦) در مقایسه با افراد دارای اضافه وزن و چاق الل طبیعی، نشان دادند .

بحث

بیش از دو دهه، مکانیسم های پایه و فیزیولوژی فعالیت انسولین و اهمیت ویژه مقاومت به انسولین در پاتوژنز اختلالات بالینی در انسان شناخته شده است. تاکنون بیش از ۲۰۰ ژن کاندید و موتاسیونها و پلی مورفیسمهای آنها در نقش عملکردی انسولین و اختلالات متعاقب آن شناسایی شده اند؛ ولی به دلیل نتایج مختلف از تغییر ژنتیکی واحد در جمعیت های مختلف؛ نمی توان یک تغییر ژنتیکی را به صورت مارکر برای مقاومت به انسولین تعریف کرد (Barroso 2005; Arthur et al. 1999). با توجه به موتاسیونها و ژنهای ذکر شده، یکی از مهمترین عوامل ایجاد مقاومت به انسولین، نقص عملکردی انسولین در مسیر بعد از اتصال به رسپتور، و در واقع نقص عملکرد فاکتورهای مولکولی داخل سلول می باشد. یکی از این فاکتورها پروتئین تیروزین فسفاتاز-B۱ (PTP1B) می باشدو به نظر می رسد یکی از کاندیداهای مهم دخیل درمسیر پیغام رسانی انسولین باشد (Anderson et al. 2004; Jenniker et al. 2003).

PTP1B، پروتئینی است که نقش تنظیمی در مسیر پیغام رسانی انسولین دارد و در مطالعاتی که برای توضیح بیشتراین مسئله انجام یافته است، حاکی از آن است که PTP1B در محیط in vitro گیرنده انسولین را دفسفریله می کند (Andrea et al. 2005; Jenniker et al. 2003). اهمیت عملکرد این آنزیم منتهی به تحقیقات بیشتر محققان برای شناخت تغییرات ژنتیکی در ژن PTP1B شد. الشبلی (Elchebly) و همکاران موشهای فاقد ژن PTP1B ایجاد کردند که نسبت به فسفوریلاسیون تیروزین سوبسترای رسپتور های انسولین (IR و IRS-1) افزایش حساسیت داشته و به چاقی مقاوم بودند (Elchebly 1999). هم در مطالعات Transfection و هم در حیوانات Transgenic به خوبی نشان داده شده است که PTP1B ، گیرنده لپتین همراه با JAK-2 را دفسفریله می کند (Neil et al. 2004; Michael et al. 2004; Andea et al. 2005).

Echwaldl و همکارانش یک تغییر P387L را در این ژن شناسایی کرد ند که در ۲/٦٪ از بیماران دیابتی و ۱/۱٪ از افراد غیر دیابتی در جمعیتی از کشور دانمارک قابل مشاهده بود و بررسی آزمایشگاهی برروی این ژن در این افراد، نقص فسفریلاسیون سرین در پروتئین PTP1B را نشان داد (Echwald et al. 2002). همچنین مطالعه ای که Mok و همکارانش در جمعیتی از Oji-Cree کانادا انجام دادند، پلی مورفیسم 981C-T (با فراوانی اللی ۵٪) را در cDNA ژن PTP1B شناسایی کردند، این پلی مورفیسم با نقص تحمل گلوکز و دیابت نوع ۲ مرتبط بود (Mok et al. 2002). در سال ۲۰۰۲ Di Paolo و همکارانش پلی مورفیسمی(ورود گوانین) را با فراوانی اللیک تقریبا ۷٪ در ناحیه 3'UTR و در موقعیت ۱٤۸٤ (1484insG) ازcDNA ژن PTP1B شناسایی کردندکه باعث افزایش پایداری mRNA این ژن و افزایش بیان آن می شد. این پلی مورفیسم

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

در جمعیت مورد مطالعه (جمعیتی با قند ناشتای نرمال از سیسیل ایتالیا) و در مردها با مقاومت به انسولین، (p=۰/۰۰۶)، تری گلیسیرید (p=۰/۰۰۰۲) و نسبت کلسترول کل به کلسترول HDL (p=۰/۰۲۵) و در زنها با افزایش فشار خون (p=۰/۰۱) مرتبط بود. همچنین بررسی این پلی مورفیسم در جمعیتی از دانمارک و سوئد که بر روی بیماران دیابتیک نوع ۲ و افراد غیر دیابتیک انجام شد عدم ارتباط این پلی مورفیسم را با بیماری دیابت نوع ۲ نشان داد و تفاوت معنی داری در شاخص توده بدنی وسطوح گلوکز و انسولین ناشتا افراد غیر دیابتیک ناقل این پلی مورفیسم در مقایسه با الل طبیعی مشاهده نشد (Dahlman et al. 2004; Jennifer et al. 2006). در مطالعه دیگری که توسط Spencer-jones در سال ۲۰۰٤ برروی این پلی مورفیسم در ۲۷۷۷ زن غیردیابتی انجام شد، موید این حقیقت بود که زنهای ناقل این پلی مورفیسم به طور معنی دار افزایشی در سطح تری گلیسیرید خود در مقایسه با الل طبیعی دارا می باشند (p=۰/۰۲۹) (Spencer et al. 2005).

بنابر این ، باتوجه به نقش PTP1-B در مقاومت به انسولین و چاقی و همچنین افزایش شیوع چاقی(۲۵٪) ، بیماری های قلبی عروقی و شیوع بالای دیابت در بخش قابل توجهی از جامعه ما که نشانگر شدت و اهمیت این عوامل خطر ساز می باشد (King et al. 1998 ؛ عزیزی ۱۳۸۰). شناسایی هر چه زودتر افرادی که به لحاظ ژنتیکی مستعد به مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ هستند، می تواند در آگاهی دادن به افراد از لحاظ تغییر نوع زندگی ، رژیم غذایی و تاخیر و حتی عدم ظهور این اختلالات مزمن، موثر باشد. بنابراین مطالعه حاضر در راستای تحقق گفته های فوق، انجام پذیرفت.

فراوانی اللی این پلی مورفیسم در مطالعه حاضر در افراد غیر دیابتیک و بیماران دیابتیک به ترتیب ۳/۷٪ و ٦/۳٪ می باشد (در مقایسه با فراوانی های ۷/۷ ٪ و ٦/۹٪ و ۸/۳٪ این پلی مورفیسم در افراد غیر دیابتیک، و فراوانی اللیک ٦/۹٪ و ٦/۷٪ در افراد دیابتیک نوع ۲؛ در مطالعات مشابه (Spencer et al. 2005; Jennifer et al 2006; Dahlman et al. 2004; Neil et al. 2004). بررسی تفاوت فراوانی ژنوتیپی واللی بین بیماران دیابتی و افراد غیر دیابتی، ارتباط معنی داری را بین دو گروه نشان نداد. همچنین بررسی های مقایسه ای نشان داد که افراد غیردیابتیک دارای این پلی مورفیسم در مقایسه با الل طبیعی حساسیت کمتری به انسولین داشتند و مقادیرشاخص توده بدنی، فشار خون دیاستولیک تفاوت معنی داری را در مقایسه با الل طبیعی نشان دادند. بررسی پلی مورفیسم 1484insG بر روی بیماران دیابتی نوع ۲ تنها تفاوت معنی دار را در مقدار شاخص عملکرد سلولهای بتا نشان داد و مقادیر شاخص توده بدنی، کلسترول، گلوکز و انسولین ناشتا، شاخص مقاومت به انسولین، کلسترول LDL، فشار خون سیستولیک و دیاستولیک و تری گلسیرید، تفاوت معنی داری را در دو گروه نشان نداد. در صورتی که بررسی این پلی مورفیسم توسط Spencer بر روی ۲۷۷۷ زن غیر دیابتی، افزایش معنی دار را تنها در مقادیر تری گلیسیرید افراد دارای این پلی مورفیسم در مقایسه با الل طبیعی نشان داد (Spencer et al. 2005)، همچنین مطالعه دیگری که Jenifer و Dahlman بر روی افراد غیر دیابتیک و مبتلایان به دیابت نوع۲ از جمعیت سوئد انجام دادند، تفاوت معنی داری در مورد مقادیر فاکتورهای مرتبط با سندرم مقاومت به انسولین در بین افراد غیر دیابتیک و دیابتیک دارای این پلی مورفیسم در مقایسه با الل طبیعی مشاهده نکردند (Dahlman et al.2004;Jennifer et al. 2006)

در مطالعه حاضر، مقایسه پلی مورفیسم به تفکیک جنس در افراد غیر دیابتیک تفاوت معنی داری را در شاخص توده بدنی ، فشار خون سیستولیک و دور باسن در بین زنها نشان می دهد در صورتی که این تفاوت در مردها فقط در مورد فشار خون

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

سیستولیک می باشد. در همین راستا، مقایسه Di Paola بر روی افراد غیردیابتیک به تفکیک جنس ؛به طور معنی دار مقادیر بالاتری از پارامتر های شاخص مقاومت به انسولین و تری گلسیرید را در مردها و افزایش فشار خون را در زنهای دارای این پلی مورفیسم در مقایسه به الل طبیعی نشان داد. فراوانی الل و ژنوتیپی این پلی مورفیسم و مقایسه مقادیر متابولیکی و تن سنجی در بین گروههای مورد بررسی این مطالعه با برخی از مطالعات مشابه مطابقتی ندارد و این نتایج متفاوت را می توان به تغییرات نژادی، تعداد نمونه و هتروژنیسیته بودن جمعیت ها نسبت داد.

نتایج مطالعه ما به این نکته اشاره دارد که پلی مورفیسم 1484insG با مقاومت به انسولین، تغییرات فشار خون و شاخص توده بدنی، در افراد غیر دیابتیک مرتبط می باشد و تغییرات فاکتورهای مرتبط با سندرم مقاومت به انسولین در افراد مونث دارای این پلی مورفیسم در مقایسه با افراد مونث الل طبیعی، خیلی بیشتر از مقایسه آنها در جنس مذکر می باشد. در این مطالعه، تغییرات معنی داری در فاکتور های متابولیک و تن سنجی در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ حامل این پلی مورفیسم در مقایسه با الل طبیعی مشاهده نشده است.

با توجه به تاثیر این پلی مورفیسم بر عوامل خطر بیماریهایی چون؛ چاقی، پرفشاری خون، بیماریهای قلبی عروقی و سکته های قلبی و مغزی، در نهایت با شناسایی ناقلین های 1484insG، ممکن است در شناسایی افراد مقاوم به انسولین دارای افزایش بیان ژن PTP1B کمک نماید.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه شواهدی را فراهم می سازد که پلی مورفیسم 3'UTR(1484insG) در جمعیت ایرانی با مقاومت به انسولین ارتباط دارد و احتمال دارد که در سوق دادن افراد به سمت بیماری دیابت نوع۲ و سندرم متابولیک نقش داشته باشد . البته, جهت شناسایی نقش بیشتر این پلی مورفیسم، بررسی آن در یک جمعیت بزرگتر کمک شایان توجهی خواهد نمود.

چنین مطالعاتی به صورت شناسایی افرادی که می توانند از مهار کننده های PTP1B استفاده کنند و همچنین یک ابزار درمانی برای چاقی و مقاومت به انسولین ، نیز میتواند مطرح باشد. بنابراین با شناسایی موتاسیونها و پلی مورفیسم هایی که افزایش بیان این آنزیم را باعث می شوند و در ادامه با غربالگری افراد و شناسایی افراد ناقل و همچنین با آگاهی دادن این افراد و به کارگیری روند مناسب زندگی ، می توان در جهت جلوگیری ازپیشرفت و گسترش خطرات مرتبط با آن از جمله دیابت، چاقی فشار خون و بیماری قلبی عروقی، گام موثری برداشت.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با همکاری دانشگاه تربیت مدرس و بخش بیوشیمی انستیتو پاستور به انجام رسیده است، جا دارد که از زحمات کلیه اساتید و کارکنان این مراکز که در مراحل مختلف یاریگر ما بوده اند، سپاسگزاری کنیم.

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

جدول۱- فراوانی ژنوتیپی و اللی پلی مورفیسم 1484insG در افراد غیر دیابتیک و بیماران دیابتیک نوع۲

نوع تغییر	غیردیابتیک (درصد) تعداد	دیابتیک (درصد) تعداد	P value
ژنوتیپ			
(1484insG/wt*)I/D	۲۱ (۷/٦)	۹ (۱۲/۷)	
(Wt/wt)D/D	۲٥٤(۹۲/٤)	٦۲ (۸۷/۳)	
(1484insG/1484insG)I/I	–	–	۰/۱۹۲
الل			
(1484insG)I	۳/۸	٦/۳	۰/۲۰٥
(Wt)D	۹٦/۲	۹۳/۷	

*. Wild type

جدول ۲- خصوصیات بالینی افرادغیردیابتیک و بیماران دیابتیک مورد مطالعه به تفکیک پلی مورفیسم

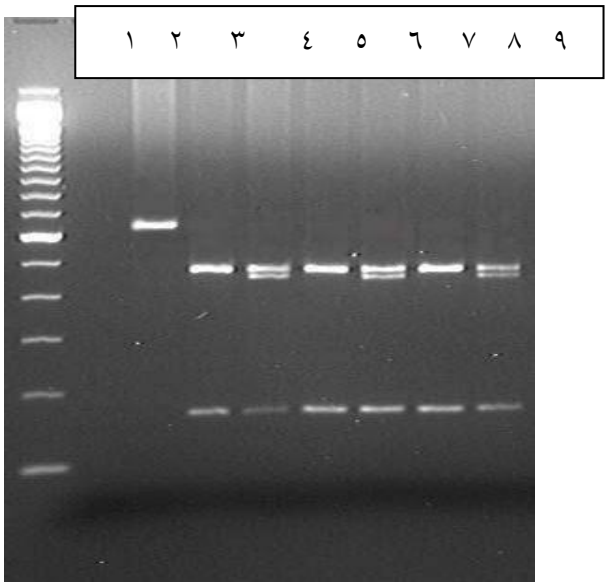
متغیر	غیردیابتیک		دیابتیک	
	الل طبیعی انحراف معیار ± میانگین (n=۲٥٤ [٪۹۲/٤])	1484insG انحراف معیار ± میانگین (n=۲۱ [٪۷/٦])	الل طبیعی انحراف معیار ± میانگین (n=٦۲ [٪۸۷/۳])	1484insG انحراف معیار ± میانگین (n=۹ [٪۱۲/۷])
شاخص توده بدنی (Kg/m2)	۲٥/۹۱±٤/۲٦	۲۸/٤۸ ± ٥/٤٥*	۲۷/۸٥ ± ٤/۰۳	۲۷/٥٥ ± ۲/۸۱
تست تحمل گلوکز(mg/dl)	۹۷/۲٤ ± ۲۸/٦۳	۹۸/۰۰ ± ۲۷/٤٥	–	–
گلوکز ناشتا(mg/dl)	۹۰/٦۸ ± ۸/۸۲	۹۱/۱۰ ± ۷/۲۱	۱٦۷/۸ ± ٥۹/۱	۱۹۷/۲ ± ۷٦/۲
انسولین ناشتا(mU/l)	۸/۹۸ ± ۳/۳۲	۱۰/۰٦ ± ۳/۲۹	۹/۱٦ ± ٤/۳۹	٦/۲٦ ± ۲/۷۱
شاخص مقاومت به انسولین	۲/۰۲ ± ۰/۸٤۹	۲/٤۱۷ ± ۰/۷٥۹*	۳/٥۳ ± ۱/۸۲	۲/٥۲ ± ۱/۱۱
LDL (mg/dl)	۱۲۹/٦ ± ۳۱/۲	۱۳۸/۰٤ ± ۳٦/٥	۱۳۲/٥ ± ٤۰/٥	۹۷/٦۹ ± ٤۲/۲
کلسترول(mg/dl)	۱۹٥/۷ ± ۳٦/۳	۲۰۹/۱ ± ٤۳/۳	۱۹۸/۳ ± ۳۳/٥	۲۰۱/۱۳ ± ۳٥/۸
تری گلیسیرید(mg/dl)	۱٤۱/۷۹ ± ۸۲/۳۱	۱۳۰/٦۷ ± ۷٦/۷	۱۷۷/۲۹ ± ۹۰/۲	۱۲٥/۸٦ ± ٤۳/۷
فشار خون سیستولیک(mmHg)	۱۱٦/۰۹ ± ۱۳/۸	۱۱۹/۲۲ ± ۱٥/۹	۱۱۸ /۹۸ ± ۱۲/۳۳	۱۲۲/٤۱ ± ۸/۱٤
فشار خون دیاستولیک(mmHg)	۷۷/۳۱ ± ۹/۱٤	۸۲/٥۷ ± ۸/٤٤**	۸۲/۳٥ ± ۸/٤٥	۸۰/۷٥ ± ٥/۹۲
عملکرد سلولهای بتا (HOMA-B)	۱۲۲/۸ ± ٥۳/۷	۱۳۳/٦ ± ٥۰/۲	٤٥/۹۷ ±۱٥/٤	۲۰/٥٤ ± ۱۲/۳*
هموگلوبین گلیکوزیله (HBA1c)(٪)	٤/۲٦ ± ۰/٤۳۷	٤/۲۱ ± ۰/٤۳٥	٦/۸٥ ± ۱/۷٦	۷/۹٥ ± ۱/۳٥

تمام مقایسه ها برای سن و جنس تعدیل شده اند.

*. p<۰/۰٥

**. p<۰/۰۱

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017



شکل۱- مشاهده قطعات بعد از هضم آنزیمی بر روی ژل آگارز ۲/۵ درصد

هضم آنزیمی (SacII) زمانی اتفاق می افتد که باز آلی گوانین در قطعه توالی مورد برش این آنزیم وجود داشته باشد. در افراد هتروزیگوت چهار قطعه ۲٤bp، ۱٦٦، ٤٤٨، ٤۷۲؛ ولی در افراد هموزیگوت قطعات bp ۲٤، ۱٦٦، ٤٤٨ بعد از هضم آنزیمی مشاهده می شود. همچنین الل طبیعی بعد از هضم آنزیمی نیز دو قطعه bp ۱٦٦ و ٤۷۲ را نشان می دهد. ۱) این ستون مربوط به مارکری با ۱۵ قطعه مختلف می باشد. ۲) کنترل منفی PCR . ۳) این ستون مربوط به قطعه تکثیر شده ای است(٦۳۷bp) که هضم آنزیمی بر روی آن اعمال نگردیده است (non-digest). ٤،٦،۸) در این سه ستون دو باند با قطعات bp ۱۱٦ و ٤۷۲ مشاهده می شود و در واقع نشاندهنده نوع طبیعی الل بعد از هضم آنزیمی می باشد ۵،۷،۹) در این ستونها وجود پلی مورفیسم با حضور قطعات bp ۲٤، ۱٦٦، ٤٤٨ و ٤۷۲ مشخص میشود (البته قطعه ۲٤bp به علت کوچک بودن اندازه بر روی ژل قابل رویت نمی باشد)(فرم هتروزیگوت این پلی مورفیسم) . لازم به ذکر است که فرم هموزیگوت این پلی مورفیسم در این مطالعه مشاهده نشده است.

منابع

عزیزی, ف., ۱۳۸۰. مطالعه قند و لپید تهران. انتشارات مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم , صفحه ٦۷-۸۳ .

Anderson, A., Joannu, S., Nunzio, B. and Friedberg, H., 2004. Protein Tyrosine Phosphatasees in The Human Genome. *Cell*. **117**,pp. 699-711.

Andrea, J. and Prexij, S., 2005. Human Protein Tyrosine Phosphates 1B. *Journal Endocrinology*. **185**,pp. 21-35.

Barroso, I., 2005. Genetics of Type 2 diabetes. *Diabet Med.* **22**(5), pp.517-35.

Bloomgarden, Z.T., 2005. Insulin resistance: causes and consequences. *Int Rev Neurobiol.* **65**, pp.1-24.

Dahlman, I., Wahrenberg, H., Persson, L. and Arner, P., 2004. No association of reported functional protein tyrosine phosphatase 1B 3' UTR gene polymorphism with features of the metabolic syndrome

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

Hanson, R.L., Ehm, M.G., Pettitt, D.J., Prochazka, M., Thompson, D.B. and Timberlake, D., 1998. An autosomal genomic scan for loci linked to type II diabetes mellitus and body-mass index in Pima Indians. *Am J Hum Genet*. **63**, pp. 1130e1138.

Harold, E., Lebovits, G. and Mary, A., 2004. Treatment of Insulin Resistance in Diabetes Mellitus. *European Journal of Pharmacology.* **490,** pp. 135-146.

Haruhiko, S., Mitso, F., Masaru, U. and Masaki, I., 2003. Factors Responsible For Development from Normal Glucose Tolerance to Isolated Postchallenge Hyperglycemia. *Diabetes Care.* **26**, pp. 1211-1215.

Hegele, R.A. and Pollex, R.L., 2005. Genetic and physiological insights into the metabolic syndrome. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* **289**(3), pp. 663-9.

King, H., Aubert, R.E. and Herman, W.H., 1998. Global burden of diabetes, 1995e2025. Diabetes Care . **21**, pp. 1414 - 1431.

Kolovou, G.D., Anagnostopoulou, K.K. and Cokkinos, D.V., 2005. Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. *Postgrad Med J.* **81**(956), pp. 358-66.

Jennifer, L., Bento, Langefeld, J.K., Campbell, J., Jeffery, C., Lynne, M., Wagenknecht David, M., Herrington Barry, I., Freedman. Stephen, S.R. and Donald, W., 2006. Association of Protein Tyrosine Phosphatase-N1 Polymorphisms with Coronary Calcified Plaque in the Diabetes Heart Study Kathryn P. *Diabetes.* **55,** pp. 651- 658.

Jenniker, N., Anderson and Nicholas, K., 2003. Protein Tyrosine Phosphatase-Baesd Therapeutics; Lessons from PTP1B. *TONKS.* **5,** pp. 201-230.

Arthur, L., Francisco, J. and Smith, K., 1999. The Pathogenesis of Obesity. *Clin Endo and Met.* **13**(1), pp.13-30.

in Swedish people. *J Intern Med.* **255,** pp. 694-695.

Echwald, S., Bach, H., Vestergaard, H., Richelsen, B., Kristensen, K., Drivsholm, T., Borch-Johnsen, K., Hansen, T. and Pedersen, O., 2002. A P387L variant in protein tyrosine phosphatase-1B (PTP-1B) is associated with type 2 diabetes and impaired serine phosphorylation of PTP-1B in vitro. *Diabetes.* **51**, pp. 1-6.

Elchebly, M., 1999. Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. *Science.* **283,** pp.1544-1548.

Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus: Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care, 1997. **20**, pp.1183-1197.

Forsell, P.K.A.L., Boie, Y., Montalibet, J., Collins, S. and Kennedy, B.P., 2000. Genomic characterization of the human and mouse protein tyrosine phosphatase 1B genes. *Gene*. **260,** pp. 145-143.

Neil Thomas, G., Athena, W.L., Brian Tomlinson, H., Chis, W.K., Lam, Julian, A.J.H., Critchley, John, E. Sanderson, W.J., Edith, L., 2004. Increasing insulin resistance contributes to worsening glycemic and lipid profiles in older Chinese subjects. *Diabetes Res. and Clinical Practice.* **64,** pp.123-128.

Goldstein, B.J., 2001. Protein – tyrosine phosphatase (PTP1B); a novel therapeutic target for type2 diabetes mellitus, obesity and related states of insulin resistance. *Curr Drug Tar Immune Endocr Metabol Disord.* **1,** pp. 265-275.

Hans-Peter, K., 2002. Insulin Resistance Syndrome; Intraction with Coagulation and Fibrinolysis. *Swiss Med WKLY.* **132**, pp. 241-252.

Downloaded from sjsph.tums.ac.ir at 22:35 IRDT on Thursday September 21st 2017

origins of insulin resistance and obesity. *Proc Nutr Soc.* **64**(2), pp. 143-51.

Spencer, J., Nicola, J., Xiaoling, W., Harold, S., Tim, D., Nicholas, D. and Carter Sandra, D.O., 2005. Protein Tyrosine Phosphatase-1B Gene *PTPN1* Selection of Tagging Single Nucleotide Polymorphisms and Association With Body Fat, Insulin Sensitivity, and the Metabolic Syndrome in a Normal Female Population. *DIABETES, VOL.* **54**, pp. 3296-3304.

Ukkola, O., and Santaniemi, M., 2002. Protein tyrosine phosphatase 1B; A new target for the threatment of Obesity and associated Co-Morbidities. *J. Int. Med.* **251**, pp. 467-75.

Marruccle, A., De Cosmo, S., Pucci, L., Penno, E. and Ciociola, S., 2003. Lack of Evidence for the 14894insG of 3'UTR of the PTP B Gene as a Genetic Determinant of Risk for Kidney Disease in 1Type Diabetes Patients. *Endo and Metab Journal.* **3,** pp. 425-431.

Matthews, D., Hosker, J., Rudenski, A., Naylor, B., Treacher, D. and Turner, R., 1985. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* **28,** pp. 412e419.

Michael, O., Chao, A., Hsiung, M., Lee- Ming, C., Lo-Toke, H. and Tai-Ting, H., 2004. Single Nucleotide Polymorphisms in Protein Phosphtase 1B (PTPN) Are Associated with Essentional Hypertension and Obesity. *Human Molecular Genetics.* **13,** pp. 17.

Mok, A., Cao, H., Sinman, B., Hanley, A.J.G., Harris, S.B., Kennedy, B.P. and Hegele, R.A., 2002. A single nucleotide polymorphism in protein tyrosine phosphatase PTP-1B is associated with protection from diabetes or impaired glucose tolerance in Oji-Cree. *J Clin Endocr Metab.* **87,** pp. 724 –727.

Paolo, R.D., Frittitta, L., Misco, G., Bozzali, M., Baratta, B., Centra, M., Spampinato, D., Grazia, M., Ercolino, T., Cisternino, C., Soccio, T., Mastroiano, S., Tassi, V., Almgren, P., Pizzuti, A., Vigneri, V. and Trischitta, V., 2002. A variation in 3utr of hptp1b increases specific gene expression and associates with insulin resistance. *A. mj Hum. Genet.* **70**, pp. 806-812.

Stocker, C.J., Arch, J.R. and Cawthorne, M.A., 2005. Fetal