فصلنامه (علمی – پژوهشی)

زیست شناسی تکوینی

سال دهم، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۷

# بررسی پلی‌مورفیسم ژن‌های درگیر در دیابت نوع دوم ژن MNSODA16V در جمعیت مبتلایان استان مازندران

**زینب نوروزی[۱]، عباسعلی دهپوری جویباری[۱*]**

[۱] گروه زیست شناسی،دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قائمشهر، قائمشهر، ایران

[*] Email: dehpour@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۲۷

## چکیده

یکی از ژن هایی که می تواند در افزایش ابتلا به دیابت نوع ۲ نقش مشارکتی داشته باشد ژن MNSODA16V است. در این پژوهش به بیان ارتباط بین این ژن با بیماری هایی چون دیابت نوع ۲ در بین مردم مازندران می‌پردازیم که حدود ۱*cc* خون حاوی پلاسمای *EDTA*(*CBC*) از ۵۰ فرد مبتلا و ۵۰ فرد گرفته شد. در ادامه برای تعیین مقدار و کیفیت *DNA*، از دو روش ارزیابی کمی به روش اسپکترفتومتری و ارزیابی کیفی به روش الکتروفورز استفاده کردیم. جهت تخمین غلظت *DNA*، ۴ میکرولیتر از محلول پایه *DNA* با یک میکرولیتر بافر نمونه گذاری مخلوط و در چاهک ژل آگارز ۱/۲ درصد در بافر *TAE* یک برابر تخلیه گردید. برای ارزیابی محصول *PCR* روی ژل آگارز ۲٪ انجام شد. ۵ میکرولیتر از محصول هر یک از واکنش‌ها به همراه *ml* ۱ رنگ به چاهک‌های ژل منتقل و الکتروفورز در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۱/۵ ساعت انجام شد. ژل در محلول اتیدیوم برماید (۰/۵ *mg/ml*) به مدت ۲۰ دقیقه رنگ آمیزی شد و سپس از انتقال به آب مقطر از آن با دستگاه ژل داک عکس‌برداری شد. به دلیل تکرار تا ۳ مرتبه و استفاده از کیت استخراج *DNA* متأسفانه این اشکال به روند کار مربوط نمی‌شود و نیاز به بررسی بیشتری دارد. به همین دلیل این مطالعه موفقیت کمی را به ارتباط پلی مورفیسم *MNSODA16V* نشان می‌دهد و هم چنین نیاز به مطالعه بیشتر در جمعیت‌های مختلف برای شناخت بهتر از نقش *MNSODA16V* هستیم.

**کلیدواژه‌ها**: پلی‌مورفیسم، جمعیت استان مازندران، دیابت نوع ۲، ژن، MNSODA16V.

## مقدمه

دیابت به عنوان یکی از بیماری‌های رو به افزایش در قرن حاضر بسیار مورد توجه پزشکان و متخصصان قرارگرفته است گرچه این بیماری از دیرباز به عنوان یکی از مشکلات فراگیر در جوامع انسانی مطرح بوده و راه‌های درمانی بسیاری برای آن پیشنهاد شده است.چاقی و دیابت نوع ۲، دو اختلال پیچیده با زمینه ژنتیکی قوی هستند و هر دو اختلال به طور موثری روی مرگ و میر و ایجاد دیگر بیماری‌ها تاثیرگذار هستند. اخیرا با مطالعات وابستگی گسترده ژنومی یک

ژن جدید مرتبط با دیابت نوع ۲ و چاقی کشف شده است. چاقی شانس ابتلای به دیابت نوع ۲ را تا ۱۰ برابر افزایش می‌دهد. بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی (۲۰۱۵)[1] و فدراسیون جهانی دیابت[2]، در حالی که تعداد بیماران دیابتی در سال ۲۰۰۰ میلادی کمتر از ۲۰۰ میلیون نفر بوده است؛ این عدد در حال حاضر به ۳۸۲ میلیون نفر رسیده است و پیش بینی می‌شود در سال ۲۰۳۵ به عدد باور نکردنی ۵۹۲ میلیون نفر برسد. این در صورتی است که سالانه ۵ میلیون نفر به علت ابتلا به دیابت جان خود را از دست می‌دهند. این مسئله در تقابل با دیابت شیرین نوع ۱ است که در آن به دلیل تخریب سلول‌های جزیره‌ای در لوزالمعده با کمبود مطلق انسولین مواجه هستیم. نشانه کلاسیک این بیماری عبارتند از: احساس تشنگی مفرط، تکرر ادرار، احساس گرسنگی مفرط که ۹۰٪ افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ دچار هستند و ۱۰٪ دیگر به ترتیب مبتلا به دیابت شیرین نوع ۱ و دیابت بارداری هستند [۹]. گفته می‌شود که چاقی دلیل عمده دیابت نوع ۲ در افرادی است که به لحاظ ژنتیکی مستعد ابتلا به این بیماری هستند. از دیگر *دلایل آن می توان به عدم تحرک، فشار خون بالا، داشتن* HDL *خون پایین و یا تری گلیسرید بالا اشاره کرد*[۹]. *دیابت عوارض حاد بسیاری بر روی ارگان‌های مختلف بدن دارد و می‌تواند زمینه ساز مشکلاتی چون، نروپاتی، نفروپاتی، رتینو پاتی، باشد*[۲]. *دیابت شیرین* نوع ۲ (*Diabetes mellitus type 2*) که در گذشته آن را دیابت شیرین غیر وابسته به انسولین (NIDDM) یا دیابت بزرگسالان می نامیدند، نوعی اختلال در سوخت و ساز بدن است که با بالا بودن گلوگز خون در شرایط مقاومت در مقابل انسولین و کمبود نسبی انسولین *شناسایی می شود*[۷].

## اهداف تحقیق

بررسی ژنتیکی علت دیابت نوع دوم با استفاده از مارکرهای مولکولی در جمعیت استان مازندران می‌باشد.

بررسی پلی‌مورفیسم ژن (*MNSODA16V*) در دیابت نوع دوم در جمعیت استان مازندران.

## مواد و روش ها

### جمعیت مورد مطالعه

۱- در این مطالعه جامعه آماری ما ۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ بوده که از آزمایشگاه شهید بابایی و آزمایشگاه آتیه ساری جمع‌آوری شده است، نمونه‌های کنترل (شاهد) نیز ۵۰ نفر بوده. بیماران هر کدام بر اساس سن، قد، وزن، دیابت نوع ۲ بررسی شده است. و جمع‌آوری نمونه‌ها از شهریور ۹۵ شروع تا اردیبهشت ۹۶ به پایان رسیده؛ هر کدام از نمونه‌ها در یخچال نگهداری شده و در زمان کوتاهی با استفاده از کیت *Thermo* استخراج *DNA* انجام شده و در فریز نگهداری شد.

۲- نمونه برداری با استفاده از سرنگ ۲ بوده است و به اندازه ۱*cc* از بیماران دیابتی نوع ۲ خون گرفته شده و در ویال مربوط به *CBC* که حاوی ماده ضد انعقاد *EDTA* بوده ریخته شده بر روی روتاتور قرار داده شد که خون لخته نشود و بعد از آن سریعاً به یخچال و دمایی بین ۸ *c* ـ۲ قرار داده شده است.

حجم واکنش را با آب مقطر استریل به ۲۵ میکرولیتر رسانده سپس میکروتیوپ‌ها در دستگاه

[1] World Health Organization (WHO)
[2] International Diabetes Federation (IDF)

ترموسایکلر قرار داده شد و با تنظیم دستگاه روی برنامه دمایی و زمانی زیر عمل تکثیر انجام شد.

داده‌های جمع آوری شده، با استفاده از نرم افزار *SPSS* نسخه ۱۸ بطور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور مقایسه توالی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها در افراد مورد مطالعه از آزمون کای دو (*K2*) استفاده شد.

**جدول ۱-۳ دستوالعمل انجام واکنش *PCR* تا حجم ۳۰ میکرولیتر**

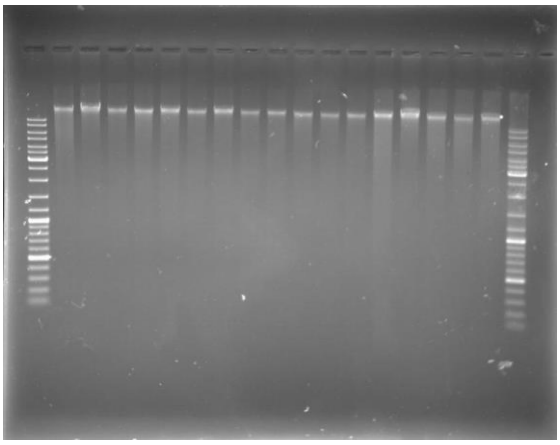
| ماده | غلظت استوک | غلظت نهایی واکنش *23 µl* |
|---|---|---|
| *ddw* | | *15.7* |
| *PCR Buffer* | *10X* | *2.5* |
| *Mfcl2* | *50Mm* | *1.5* |
| *dNTP* | *10Mm* | *1* |
| *Primer Forward* | *10Pmol* | *1* |
| *Primer Revers* | *10Pmol* | *1* |
| *Taq DNA polymerase* | *5µ/ml* | *0.3* |
| *DNA Tamplate* | *(5_5 ng)* | *2* |

جدول ۲-۳ برنامه دمایی و زمانی دستگاه ترموسایکلر برای انجام واکنش ***PCR***

| *stage* | *Temp* | *Time* | *Cycle* |
|---|---|---|---|
| *Initial denaturation* | *94°c* | *5min* | *1* |
| *denaturation* | *94°c* | *1min* | *35* |
| *annealing* | *56°c* | *1min* | |
| *Extenation* | *72°c* | *1min* | |
| *Final extenation* | *72°c* | *10min* | *1* |
| *stop* | *4°c* | *10min* | |

**یافته‌های تحقیق**

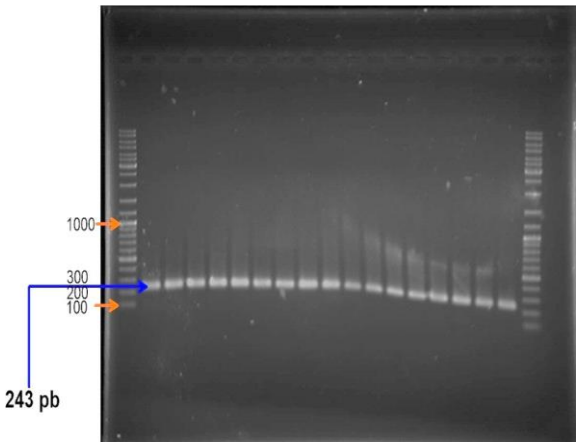
این مطالعه از نوع توصیفی – آماری بوده و ۵۰ نمونه خون محیطی از افراد دارای دیابت نوع ۲ (مرد و زن) برای انجام این آزمایش گرفته شده.این بررسی شامل ۵۰ بیمار مبتلا به دیابت نوع ۲ شناسایی شد بر اساس نتایج آزمایش‌های گرفته شده از بیماران در آزمایشگاه تخصصی آتیه و آزمایشگاه شهید بابایی از شهریور ۹۵ تا اردیبهشت ۹۶ و ۵۰ نفر به عنوان گروه کنترل سالم که توسط پزشک متخصص تایید شده و هیچگونه علائم و سابقه خانوادگی بیماری نداشته‌اند، بودند. تمامی افراد بیمار و کنترل که در این مطالعه بررسی شدند بر اساس سن، جنس، داروی مصرفی، مدت زمان بیماری و ... همسان سازی شده بودند و از ناحیه شمال مازندران شهرستان ساری هستند.حدود ۲*cc* خون حاوی پلاسمای *EDTA*(*CBC*) از ۵۰ بیمار مبتلا و ۵۰ بیمار سالم به عنوان کنترل پس از کسب رضایت آگاهانه گرفته شد.نمونه‌های گرفته شده از بیماران در مدتی برای جلوگیری از انعقاد بر روی روتاتور گذاشته شد و بعد از مدت کوتاهی در ظرف حاوی یخ به آزمایشگاه مقصد انتقال داده شد.



**شکل ۱- استخراج *DNA* با استفاده از کیت *Thermo***

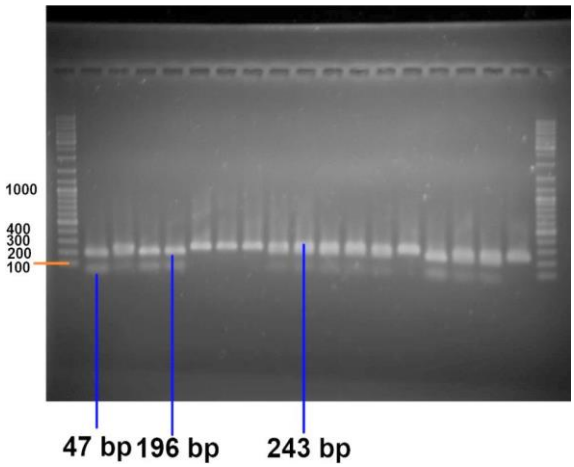
در ایـن روش جهـت تخمـین غلظـت *DNA*، ٤ میکرولیتر از محلول پایه *DNA* با یک میکرولیتـر بـافر نمونه گذاری مخلوط و در چاهک ژل آگارز ۱/۲درصد در بافر *TAE* یک برابر تخلیه گردید *DNA* شاهد، کـه نمونه تجاری فاژ لامبدا بریده شده با آنزیم محـدودگر *Bsawi* و دارای غلظت استاندارد مـی‌باشـد، بـا همـان شرایط بکار گرفته شد. ژل آگارز به مدت ٦٠ دقیقـه و با ولتاژ ۸۵ الکتروفورز گردید. سپس از رنگ‌آمیزی ژل با اتیدیوم برماید (۱۰*mg/ml*) *DNA* ژنومی در زیر نور ماوراء بـنفش در دسـتگاه *Cel Ducument* مشـاهده و عکسبرداری انجام گردید.

با مقایسه ضخامت باندهای حاصل از نمونه‌ها با باندهای *DNA* شاهد، غلظت *DNA* نمونه تخمین زده شد. وجود شکستگی قطعات *DNA* که به صورت اسمیر روی ژل مشاهده می‌گردد، به عنوان معیار برای کیفیت *DNA* استخراج شده تلقی گردیده سپس از تخمین کمیت و کیفیت محلول پایه *DNA* استخراج شده با هر روش با افزودن آب مقطر استریل میزان غلظت *DNA* هر نمونه به ۱۰۰ نانوگرم در میکرولیتر می‌رسانیم و دوباره به روش اسپکتروفومتری و الکتروفورز مورد تایید قرار می‌گیرد. برای آماده سازی پرایمرها با توجه به دستورالعملی که شرکت مورد نظر به ما داده (آب مصرفی) برای تهیه ۱۰۰ پیکومیل از پرای مورد نظر اقدام می‌کنیم این میزان آب ( *DNA free Deionized1 water*) معمولاً بین ٤۰۰-۳۰۰ میکرولیتر می‌باشد، پس از آنکه پرایم مورد نظر را به غلظت ۱۰۰ پیکومول رساندیم، سپس از آن ۱۰ تا برمی‌داریم و ۹۰ تا آب اضافه می‌کنیم و در تیوپ‌های ۰/۵ میلی لیتری تقسیم کرده و در فریز ۲۰ـ نگهداری می‌کنیم.




**شکل ۲- تکثیر ژنوتیپ *AA* توسط پرایمر مورد نظر**

در شکل (۲) مشاهده می‌کنیم که پرایمر مورد نظـر توانست ژنوتیپ *AA* هموزیگوت را بـه خـوبی تکثیـر نماید (۲٤۳ *bp*) اما در *VV* موتانت و هموزیگوت *AV* موفق نبوده ( این مشکل به دلیـل عـدم اتصـال موفـق پرایمر به توالی مربوطه بـوده کـه نوکلئوتیـد تـوالی بـا پرایمر یعنی ناحیه مکمل یکسـان نبـوده اسـت).که در این بررسی آزمون *pcr* پرایمر مـورد اسـتفاده توانسـت ژن نمونه‌های هموزیگوت *AA* را به خوبی تکثیر نماید اما نمونه‌های موتانت*VV* و هموزیگوت *AV* به خـوبی تکثیر نشده‌اند.




**شکل ۳- نتایج حاصل از مشاهده عکسبرداری برش آنزیمی *BSAWI***

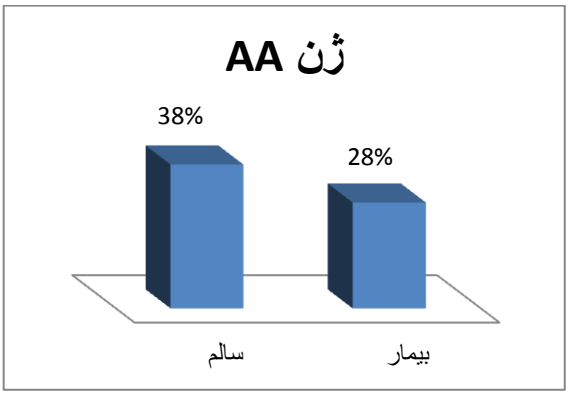
۱٤ نمونه *MNSODA16V* از بین ۵۰ نمونـه دارای ژنوتیپ هموزیگوت *AA* بوده که ٪۲۸ کـل بیمارهـا را تشکیل می‌دهد و شامل باند ۲٤۳*pb* می‌باشد.

۱۹ نمونه *MNSODA16V* از بین ۵۰ نمونـه دارای ژنوتیپ هموزیگوت*AA* بوده که ٪۳۸ از کل سالم‌ها را تشکیل می‌دهد و شامل باند ۲٤۳*pb* می‌باشد.

۲۲ نمونه *MNSODA16V* از بین ۵۰ نمونـه دارای ژنوتیپ هموزیگوت *AV* بوده که ٪٤٤ از کـل بیمارهـا را تشکیل مـی‌دهـد و شـامل باندهای ٤۷*pb* و ۱۹٦ و ۲٤۳ بوده است.

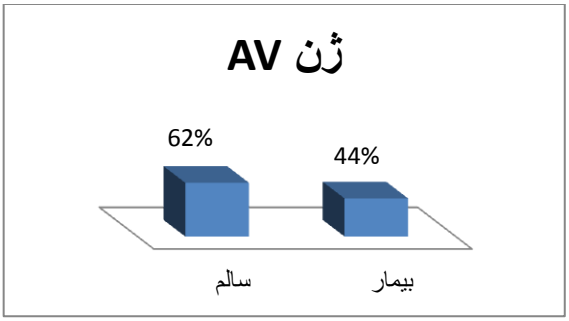
۳۱ نمونه *MNSODA16V* از بین ۵۰ نمونه ژنوتیپ هموزیگوت *AV* بوده که ٪٦۲ از کل سالم را تشکیل می‌دهد و شامل باندهای ٤۷*pb* و ۱۹٦ و ۲٤۳ بوده است.

۱٤ نمونـــه از بـــین ۵۰ نمونـــه دارای ژنوتیـــپ هموزیگوت *VV* بوده که ٪۲۸ کل بیمارهـا را تشـکیل می‌دهد و شامل باند ٤۷*pb* می‌باشـد و در افـراد سـالم ژنوتیپ هموزیگوت *VV* تشکیل نشده است ـ به دلیـل تکرار تا سه مرتبه و اسـتفاده از کیـت اسـتخراج *DNA* متاسفانه این اشکال به روند کار مربوط نمی‌شود و نیاز به بررسی بیشتری دارد.



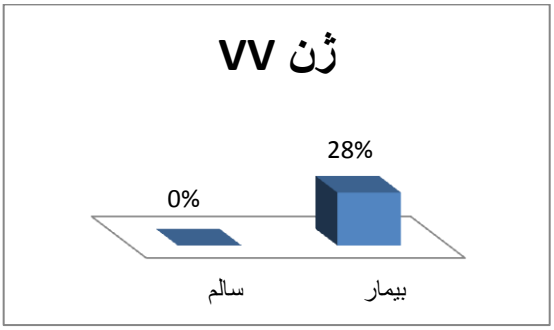

**نمودار ۱ـ وضعیت ژن *AA***

با توجه به نمودار مشاهده می‌شود کـه ایـن ژن در افراد سالم بیشتر از افراد بیمار می‌باشد.



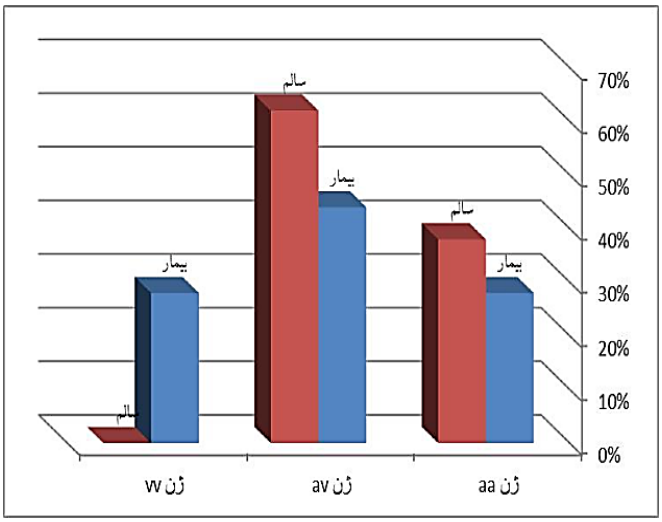

**نمودار ۲ـ وضعیت ژن *AV***

با توجه به نمودار مشاهده می‌شود کـه ایـن ژن در افراد سالم بیشتر از افراد بیمار می‌باشد.




**نمودار ۳ـ وضعیت ژن *VV***

با توجه به نمودار مشاهده می‌شود کـه ایـن ژن در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم می‌باشد.




**نمودار ٤ـ٤ وضعیت ژن *VV***

با توجه به نمودار مشاهده می‌شود که ژن *VV* برای افراد سالم کمترین مقدار را داشته، ژن *AV* برای افراد سالم بیشترین مقدار را داشته و ژن *AA* برای افراد سالم بیشترین فراوانی را داشته است.

## بحث

همانطور که می‌دانیم دیابت بیماری است که با افزایش قند خون در اثر کمبود ترشح انسولین (دیابت نوع ۱) و یا اختلال در فعالیت انسولین (نوع ۲) بروز پیدا می‌کند بیش از ۹۰٪ دیابتی‌ها به دیابت نوع ۲ گرفتار می‌باشند. شیوع دیابت نوع ۲ در طی سال‌های اخیر افزایش بی‌رویه‌ای پیدا نموده و از طرفی دیگر سن ابتلا به این نوع دیابت نسبت به دهه‌های قبل به مراتب کاهش یافته و به عبارت دیگر جوانان بیشتری به این نوع دیابت مبتلا می‌گردند لذا شناسایی عوامل خطر دیابت باعث شناخت زودتر این بیماری و پیشگیری در مراحل اولیه و در نهایت جلوگیری از بروز دیابت خواهد شد هم چنین عواملی نیز وجود دارد که شانس ابتلا به دیابت را افزایش می‌دهد که این عواملی عبارتند از: سابقه خانوادگی (افزایش سن بیش از ٤٥ سال)، زندگی کم تحرک عادات غذایی ناسالم سابقه نهادی یا قومی و در آخر سندروم متابوکی (پرفشاری خون ـ تری گلسیرید بالا و ...) هستند.

## نتیجه گیری

نتایج نشان می‌دهد ممکن است در دهه‌های آینده حدود ۸۰۰ میلیون نفر در دنیا به دیابت مبتلا باشند.

با توجه به این که ٤٦ درصد مرگ‌ها به دلیل سکته‌های قلبی، ۱۳ درصد به دلیل ابتلا به سرطان و ١٤ درصد به دلیل حوادث ترافیکی است، ۲ در صد علت مرگ و میرها به دلیل دیابت و بیشترین علت ناتوانی‌ها به دلیل ابتلا به دیابت است. ما در این بررسی *ICC* نمونه‌ی *CBC* که حاوی ماده ضد انعقاد و *EDTA* بوده از ۵۰ بیمار دیابتی و۵۰ نمونه شاهد (غیر دیابتی) از آزمایشگاه تخصصی آتیه و آزمایشگاه شهید بابایی گرفته شده که بیماران سنی بین ۲۰ تا ۸۰ سال داشته و با استفاده از تکنیک‌ها *PCR*، *RELP* الکتروفورز پلی مورفیسم ژن *MNSODA16V* را در بیماران دیابتی شهرستان ساری بررسی کردیم.

نتایج حاصل از مشاهده عکس برداری برش آنزیمی نشان داد که از بین ۵۰ نمونه *MNSODA16V* بررسی شده دارای ژنوتیپ ١٤ نمونه دارای ژنوتیپ

هموزیگوت *AA* (۲۸٪ کل بیمارها) است و شامل باند ۲٤۳*pb* و ۱٤ نمونه دارای ژنوتیپ هموزیگوت *AA* (۳۸٪ از کل سالم‌ها) است و شامل باند ۲٤۳*pb* می‌باشد. ۲۲ نمونه *MNSODA16V* از بین ۵۰ نمونه دارای ژنوتیپ هتروزیگوت *AV* بوده (٤٤٪ از کل بیمارها) و شامل باندهای ٤۷*pb* و ۱۹ و ۲٤۳ بوده است و ۳۱ نمونه *MNSODA16V* از بین ۵۰ نمونه ژنوتیپ هتروزیگوت *AV* بوده (٦۲٪ از کل سالم‌ها) را تشکیل داده و شامل باندهای ٤۷*pb* و ۱۹٦ و ۲٤۳ بوده است. همچنین ۱٤ نمونه از بین ۵۰ نمونه دارای ژنوتیپ هتروزیگون *VV* بوده (۲۸٪ کل بیمارها) و شامل باند ٤۷*pb* می‌باشد و در افراد سالم ژنوتیپ هموزیگوت *VV* تشکیل نشده است. به دلیل تکرار تا سه مرتبه و استفاده از کیت استخراج *DNA* متأسفانه این اشکال به روند کار مربوط نمی‌شود و نیاز به بررسی بیشتری دارد. با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که این ژن‌ها در افراد بیمار بیشتر از افراد سالم می‌باشد. همچنین نتایج نشان می‌دهد ژن *VV* برای افراد سالم کمترین مقدار، ژن *AV* برای افراد سالم بیشترین مقدار و ژن *AA* برای افراد سالم بیشترین فراوانی را داشته است. الیزا اسکافی ثابت در سال ۱۳۹۱[۱] پژوهشی درباره «آنالیز ژن*MnSOD* در زنان مبتلا به دیابت و سقط خودبخودی» انجام داد که در آن به بررسی ارتباط پلی مورفیسم *Val16Ala* ژن *MnSOD* در زنان دارای دیابت که دچار سقط جنین خودبه خودی در شمال ایران شدند پرداخت. در این پژوهش *DNA* افراد دارای بیماری دیابت و کنترل توسط*RFLP -PCR* از نظر ژنوتیپی بررسی شد. که در نتیجه آن مشخص شد ارتباط معناداری بین دیابت و سقط خودبه خودی و فراوانی ژنوتیپی و آللی این پلی مورفیسم وجود نداشت اما بین زنان بیمار دیابتی که دارای سقط مکرر هستند با افراد سالم، تفاوت ژنوتیپی معنی‌داری مشاهده شد. بنابراین پلی مورفیسم *Val16Ala* ژن *MnSOD* احتمالا در سقط های مکرر دخیل می باشد. همچنین مهدی صفرپور و همکارانش در سال ۱۳۹٤[۳] به مروری بر ژن‌ها و تغییرات ژنتیکی مؤثر بر بیماری دیابت نوع ۲ پرداختند و متوجه شدند که پلی‌مورفیسم *rs5215*, *rs7754840*, *rs8050136* به عنوان مهم ترین پلی‌مورفیسم گزارش شده بر روی ژن‌های FTO, *CDKAL1*, *KCNY11* معرفی شدند، که در ارتباط است با بیماری شایع و غیر واگیر همچون دیابت. در این پژوهش به معرفی مهم‌ترین ژن‌های مرتبط با این بیماری و نقش تغییرات ژنتیکی هر یک از آن‌ها در افزایش شانس ابتلا به دیابت پرداختند و بدون در نظر گرفتن بازه زمانی تعیین شده، از دو پایگاه داده بدون در نظر گرفتن بازه زمانی معین و دو کمپانی مطرح در زمینه تست‌های ژنتیکی به‌منظور دست‌یابی به مهم‌ترین ژن‌های مرتبط با دیابت نوع دو و تغییرات ژنتیکی گزارش شده بر روی هر یک از آن‌ها استفاده کردند. بر مبنای نتایج به‌دست‌آمده چهار ژن کاندید انتخاب شده به‌ترتیب اهمیت عبارت بودند از: , *CDKAL1, TCF7L2* *KCNJ11* و *FTO*. مهم‌ترین پلی‌مورفیسم گزارش شده بر روی ژن *TCF7L2*، *rs7903146* نام داشت. پس از آن پلی‌مورفیسم‌های *rs7754840*، *rs5215* و *rs8050136* به‌عنوان مهم‌ترین پلی‌مورفیسم‌های گزارش کرده و بر روی ژن‌های *KCNJ11*، *CDKAL1* و *FTO* معرفی شدند.

در پژوهشی بعدی، ملکه قاسمی در سال ۱۳۹۰ [۵] به بررسی «پیوستگی واریانت *E23K* ژن *MNSODA16V* با گسترش دیابت نوع ۲ در افراد چاق شمال ایران» پرداخت.

پژوهش به روش دو مطالعه‌ی مورد شاهدی در دو گروه، با شرکت ۲۱۰ نفر فرد چاق دیابتی و غیردیابتی در کنار ۵۳٦ فرد غیر چاق دیابتی و غیردیابتی صورت گرفت. ژنوتیپ نمونه‌ها به وسیله‌ی تکنولوژی مولکولی *MGB TaqMan assay* در دستگاه*ABI 7300* تعیین گردید. یافته‌ها نشان داد در گروه‌های مورد پژوهش، هیچ گونه تفاوت معنی دار نسبت به فراوانی آللی در بین افراد چاق دیابتی و غیردیابتی، و هم چنین افراد غیرچاق دیابتی و غیردیابتی مشاهده نگردید. اما با مقایسه ی فراوانی ژنوتیپ های مختلف، تفاوت معنی داری در مدل وراثتی مغلوب، بین افراد چاق دیابتی و غیردیابتی پدیدار گشت که در افراد غیرچاق دیابتی مشاهده نگردید. همچنین تحقیقات نشان داد واریانت *E23K* با پیشرفت دیابت نوع ۲ در افراد چاق استان گیلان ارتباط دارد.

سارا فرزدی حقیقی در سال ۱۳۹٤ [٤] در مطالعه ای به بررسی «پلی مورفیسم ژنهای MNSODA16V و VEGF در رتینوپاتی دیابتی» پرداختند. یافته‌ها و نتیجه‌گیری نشان داد افزایش خطر ۸.۳۳ برابر ( DR OR = 33.33، ٪95 CI = 13.26-26، P = 0.0004) بود. فراوانی ژنوتیپ‌های GG، GC و CC در پاتوفیزیسم VEGF +405 C / G در گروه شاهد به ترتیب ٤۲.۸٦٪، ٤٥.۷۱٪ و ۱۱.٤۳٪ بود در حالیکه در گروه های دارویی به ترتیب ۱۸.۵۷٪، ٤۸.۵۷٪ و ۳۲.۸٦٪ بودند. در نتیجه، پیشنهاد شده است که پلیمورفیسم MnSODA16V و VEGF + 405 C / G ممکن است با خطر DR در شمال ایران همراه باشد.

فاطمه عسلی سالک معلمی [٦] در سال ۱۳۹۲ به بررسی «آنالیز ژن MnSOD در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید» پرداخت. هدف او از این پژوهش، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های دو ژن MnSOD و GPx1 در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید می‌باشد. ارتباط معنی‌داری درفراوانی ژنوتیپ Leu/Leu ژن GPx1 بیماران در مقایسه با افراد کنترل وجود دارد. (P=0.0022) به‌طورکلی نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که ژنوتیپ Leu/Leu ژن GPx1 با خطر ابتلا به بیماری آرتریت روماتوئید در جمعیت مطالعه شده ارتباط داشته باشد در حالیکه پلی‌مورفیسم Ala16Val ژن MnSOD در این بیماری بعنوان فاکتور خطر محسوب نمی‌شود.

همچنین در خارج از کشور، میکل دونازر و همکارانش [۸] در سال ۲۰۱۷ به مطالعه « پیشگیری اولیه از دیابت شیرین بارداری از طریق عوامل تغذیه‌ای: مروری هدفمند» پرداختند. هدف آن‌ها از انجام این مطالعه به طور سیستماتیک بهبود عوامل تغذیه قبل بارداری برای ماداران برای جلوگیری از دیابت بارداری بود. مطالعات آن‌ها با آزمایشات بالینی و مطالعات آینده‌نگر تنظیم شد. آن‌ها در هشت آزمایش بالینی و بیست مطالعات مشاهده‌ای به بررسی ارتباط عوامل غذایی و پیشگیری اولیه پرداختند. علاوه بر آن شش آزمایش بالینی و دو مطالعه مشاهده‌ای مربوط به مکمل غذایی نیز به آن اضافه شد که در نتیجه آن‌ها تنها دو مداخله تغذیه‌ای پیدا شد که به کاهش بروز دیابت بارداری می‌انجامد. با این حال، مطالعات مشاهده‌ای نشان داد که پایبندی به یک تغذیه سالم و الگوی غذایی مناسب می‌تواند از بروز دیابت بارداری به ویژه در جمعیت در معرض خطر قبل از بارداری جلوگیری کند. همچنین نتایج نشان می‌دهد که برخی از عوامل تغذیه ای برای جلوگیری ازدیابت بارداری وجود دارد.

با توجه به نقش محوری *MNSODA16V* در پاتوفیزیولوژی رتینوپاتی‌های ایسکمیک، این مطالعه در

پی پاسخ به این پرسش بوده که آیا می‌توان این افزایش بیان را ثانویه به نوع آرایش ساختمانی ژن *MNSODA16V* دانسته و آن را «وابسته به آلل» در نظر گرفت؟ نتیجه تحقیق حاضر چنین بیان شد که یکی از پلی‌مورفیسم‌های مورد بررسی، حداقل در بستر شرایط بیوشیمیایی دیابت، از چنان قابلیت «عملکردی» و یا پتانسیل فنوتیپیکی برخوردار است که بتواند احتمالاً با کنترل سطح و کیفیت پاسخ ژن *MNSODA16V* به محرک‌های محیطی و تنظیم میزان بیان آن، نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی *DR* ایفا نماید. با توجه به نقش ضعیف‌تر عوامل ژنتیکی در *DR* ـ در مقایسه با سایر عوارض دیابت ـ ، یافته های این مطالعه حاکی از وزن و اثر قابل ملاحظه سازوکارهای «وابسته به ساختمان» ژن *MNSODA16V* در بروز *DR* دارد. با توجه به بررسی ژن *MNSODA16V* در این مطالعه، اگرچه این ژن یکی از ژن‌های مهم در ایجاد دیابت نوع ۲ است، اما در استان مازندران نتایج قابل توجهی به همراه نداشته است که برای رسیدن به نتایج بهتر نیاز به دامنه وسیع‌تری از نمونه‌ها داریم. با توجه به بررسی ژن *MNSODA16V* در این مطالعه و بررسی پژوهش های انجام شده در داخل و خارج کشور، اگرچه این ژن یکی از ژن‌های مهم در ایجاد دیابت نوع ۲ است، اما در استان مازندران نتایج قابل توجهی به همراه نداشته است که برای رسیدن به نتایج بهتر نیاز به دامنه وسیع‌تری از نمونه‌ها داریم.

## منابع


[۱] اسکافی ثابت، ا.، ۱۳۹۱، آنالیز ژن MnsoD در زنان مبتلا به سقط خودبخودی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، ۷۷ صفحه.

[۲] بوترابی، ض.، ۱۳۸۱، «تاریخچه دیابت»، مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید صدوقی یزد، سال دهم، ضمیمه شماره چهارم، صفحات ٦ـ۳.

[۳] صفرپور، م.، ابراهیمی،ا.، دانش پور،م.س.، ۱۳۹٤. از ژنوم تا ژن: مروری بر ژن‌ها و تغییرات ژنتیکی موثر بر بروز بیماری دیابت نوع ۲. مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، دوره ۷۳، شماره۹، صفحات ٦۱۵-٦۲۳.

[٤] فرزدی حقیقی، س.ف، ۱۳۹۲، بررسی پلی-مورفیسم ژن‌های *MnsoD* و *VEGF* در بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، داشگاه گیلان، دانکده علوم پایه،۱۰۳ صفحه.

[۵] قاسمی، م.، حبیبی پور، ر.، کشاورز کیاسرایی، پ.، ۱۳۹۰، پیوستگی واریانت *E23K* ژن *KCNJ11* با گسترش دیابت نوع ۲ در افراد چاق شمال ایران، مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران، دوره ۱۳، ضمیمه شماره ٦، صفحات ٦۷۳-٦۸۰.

[٦] عسلی سالک معلمی، ف، ۱۳۹۲، آنالیز ژن *MnsoD* و *GPx1* در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان، دانشکده علوم پایه، ۸٦ صفحه.

[7] Kumar, Vinay; Fausto, Nelson; Abbas, Abul K. ; Cotran, Ramzi S.; Robbins, Stanley L. .2005. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease (7th ed.). Philadelphia, Pa.: Saunders. pp. 1194–1195.

[8] Mikel Donazar-Ezcurra & Cristina López-del Burgo and Maira Bes-Rastrollo .2017. Donazar-Ezcurra et al. BMC Pregnancy and Childbirth. "Primary prevention of gestational diabetes mellitus through nutritional factors: a systematic review"

[9] Shoback, edited by David G. Gardner, Dolores .2011. Greenspan's basic & clinical endocrinology (9th ed.). New York: McGraw-Hill Medical. pp. Chapter 17.