بسم الله الرحمن الرحیم

تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع

بعد از دفاع از حوزه پژوهشی دانشکده دریافت و بعد اسکن نمایید.

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

آقای سید احمد حسینی رشته بیوشیمی بالینی رساله دکتری خود را با عنوان « تأثیر جینسنوزید Rb1 بر میزان بیان و جابجایی مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ – ۴ (GLUT4) در رده سلولی C2C12 » در تاریخ **۱۳۹۲/۶/۶** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکتر محمد تقی خاتمی	
استاد راهنمای دوم	دکتر محمد طه جلالی	
استاد مشاور	دکتر سید علیرضا مصباح نمین	
استاد مشاور	دکتر محمد رضا تابنده	
استاد ناظر	دکتر فاطمه صغری کرمی تهرانی	
استاد ناظر	دکتر سیده زهرا بطحایی	
استاد ناظر	دکتر مجید صادقی زاده	
استاد ناظر	دکتر سعید بوذری	
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر محمد جواد رسایی	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش‌های علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرح‌های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه(اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکدهٔ ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **سیداحمدحسینی** دانشجوی رشته **بیوشیمی بالینی** ورودی سال تحصیلی ۱۳۸۷ مقطع **دکتری تخصصی** دانشکده علوم پزشکی متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا

تاریخ

آئین‌نامه پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیت‌های علمیپژوهشی دانشگاه است. بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

ماده ۱ : در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به‌طور کتبی به دفتر "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲ : در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل رساله دکتری نگارنده در رشته بیوشیمی بالینی است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی **دکتر محمد تقی خانی و دکتر محمد طه جلالی** ، مشاوره **دکترسیدعلیرضامصباح نمین و دکترمحمد رضا تابنده** از آن دفاع شده است.

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴ : در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به‌عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیه کند.

ماده ۵ : دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت‌های بهای خسارت، دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در ماده ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تامین نماید.

ماده ۶ : اینجانب **سید احمد حسینی** دانشجوی رشته **بیوشیمی بالینی** مقطع **دکتری تخصصی** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

نام و نام خانوادگی

تاریخ و امضا

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D.) در رشته بیوشیمی بالینی

عنوان

تاثیر جینسنوزیدRb1 بر میزان بیان و جابجایی مولکول ناقل گلوکزایزوتیپ4 (GLUT-4)در ردۀ سلولیC_2C_{12}

نگارش

سیداحمدحسینی

اساتید راهنما

دکترمحمد تقی خانی

دکترمحمدطه جلالی

اساتید مشاور

دکتر سیدعلیرضامصباح نمین

دکترمحمدرضا تابنده

تابستان 1392

تقدیم به :

ارواح طیبه پدر و مادر مرحومم

همسر مهربان و فداکارم

فرزندان دلبندم سجاد،ساراوسپیده

تقدیر و تشکر فراوان به جهت زحمات و الطاف استاد گرانقدر جناب آقای دکتر تقی‌خانی ، تشکر و تقدیر فراوان به جهت حمایت‌ها و زحمات استاد عزیزم جناب آقای دکتر محمدطه جلالی ، تشکر و تقدیر بی شائیه از راهنمائی‌ها و مساعدت‌های بی دریغ و دلسوزانه استاد گرامیم جناب آقای دکتر مصباح، تشکر فراوان از زحمات و راهنمائی‌های ارزنده و مؤثر استاد گرامیم سرکار خانم دکتر بطحائی،تشکر فراوان از زحمات استادگرامیم سرکار خانم دکتر کرمی تهرانی‌تشکر فراوان از زحمات و راهنمائی‌ها و مساعدت‌های بی دریغ و مؤثر استاد عزیزم جناب آقای دکتر تابنده، تشکر و تقدیر بی پایان از مساعدت‌های بی دریغ و خالصانه استاد عزیزم جناب آقایدکتر هاشمی تبار ریاست محترم مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، تشکر و تقدیر فراوان از مساعدت‌های بی دریغ استاد گرامیم جناب آقای دکتر عصاره زادگان عضو هیأت علمی گروه ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، تشکر و تقدیر فراوان از مساعدت‌های مؤثر استاد گرامیم جناب آقای دکتر خدادادی مدیر گروه ایمنی شناسی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، تشکر فراوان از زحمات و راهنمائی‌های ارزنده سرکار خانم دهباشی کارشناس ارشد مرکز تحقیات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، تشکر و تقدیر فراوان از زحمات بی دریغ آقای سهیلی کارشناس گروه علوم پایه دانشکدهٔ دامپزشکی دانشگاهشهید چمران اهواز و در نهایت تشکر و سپاس فراوان از کلیهٔ همکاران و دوستانی که به هر نحو موجبات موفقیت اینجانب را در این امر خطیر فراهم کرده‌اند.

چکیده :

جینسنگ یکی از سودمندترین گیاهانداروییی است که مکانیسم‌های ضد دیابتی آن بیش از یک دهه می‌باشد که مورد مطالعه قرار گرفته است. اگر چه اثر تحریکی جینسنوزیدهای مختلف مشتق شده از گیاه جینسنگ بر جابجایی مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ - 4 در سلول‌های بافت چربی و عضلانی مورد مطالعه قرار گرفته اند ولی اثر جنسنوزید Rb_1 بر بیان این مولکول ناقل تا کنون گزارش نگردیده است. به همین جهت ما در صدد آن برآمدیم که جابجایی و بیان مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ– 4 را به طور همزمان در سلول‌های عضلانی مورد مطالعه قرار دهیم . برای بررسی تأثیر جینسنوزید Rb_1 بر بیان و جابجایی این مولکول ناقل، ما سلول‌های ردۀ C_2 C_{12} که به میوتیوب تمایز یافته بودند را با غلظت‌های مخلتف جینسنوزید Rb_1 شامل 0/001 ، 0/01، 0/1 ، 1، 10، 100 میکرومولار و در مدت زمان‌های مختلف 1، 3، 6 و 12 ساعت مورد تیمار قرار دادیم. درکل ما دریافتیم که جینسنوزید Rb_1 در همۀ دوزهای مذکور سطح بیان مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ – 4 را در سلول‌های تیمار شده نسبت به سلول‌های تیمار نشده افزایش می‌دهد، ولی این جینسنوزید در دوزهای 0/1 و 1 میکرومولار در مدت زمان 3 ساعت تیمار سلول‌ها بالاترین اثر را دارد. نتایج مطالعۀ حاضر می‌تواند به ما در، فهم بهتر شناخت مکانیسم‌های ناشناخته جینسنوزید Rb_1 برروی برداشت گلوکز در سلول‌های عضلانی کمک کند، ضمن اینکه این مطالعه می‌تواند پشتوانه‌ای باشد که در آینده به کاربردهای جینسنگ به عنوان یک کاندید برای درمان دیابت کمک نماید.

کلمات کلیدی : جینسنوزیدRb1،بیان ژن، مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ 4 ، ردۀ سلولی C2C12

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول

1-1- اختلالات مؤثر در بروز دیابت قندی نوع 2 3

2-1- پاتوفیزیولوژی 5

3-1- ناهنجاری‌های متابولیک 5

1-3-1- متابولیسم غیرطبیعی عضله و چربی 5

2-3-1- اختلال ترشح انسولین 8

4-1- سندروم‌های مقاومت به انسولین 9

5-1- گلوکز و انسولین 11

1-5-1- اهمیت گلوکز و نقش انسولین 11

2-5-1- کشف انسولین و مکانیسم عملکرد آن 12

6-1- ناقلین گلوکز و نقش آنها در دیابت 12

1-6-1- دیابت نوع 2 ناشی از اختلال در انتقال گلوکز با واسطه ناقلین 13

7-1- ناقلین گلوکز 13

1-7-1- انواع ناقلین گلوکز 13

2-7-1- دسته‌بندی ناقلین گلوکز 14

7-1- 3- جایگاه و ساختار مشترک مولکول‌های ناقل گلوکز 15

1- 8- اهمیت مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ شماره 4 (GLUT4) در بروز دیابت نوع 2 18

1-8-1- مولکول ناقل گلوکز ایزوتیپ شماره4 (GLUT4) مهمترین تنظیم کننده غلظت گلوکز..... 18

9-1- استراتژی‌های درمانی در دیابت 22

10-1- داروها و درمان‌های گیاهی 22

1-10-1- اهمیت و جایگاه داروها و درمان‌های گیاهی 22

1-10-2- تجویز داروهای گیاهی بعنوان روشی درمانی برای دیابت 23
1-10-3- رایج‌ترین گیاهان دارویی برای درمان دیابت و جنبه‌های مطالعاتی نوین آنها 24
1-11- جایگاه جینسنگ بعنوان داروی گیاهی 26
1-11- 1- ترکیبات شیمیایی 28
1-12- جینسنوزیدها 28
1-12-1- ساختار 28
1-12-2- بیوسنتز و متابولیسم 30
1-12-3- تنوع ترکیبی 32
1-13- جینسنگ و بافت‌های تنظیم کننده قند خون 34
1-14- مهمترین بافت‌های مصرف کننده گلوکز به تحریک انسولین و با واسطه GLUT4 35
1-14-1- عضله اسکلتی مهمترین مصرف کننده گلوکز به تحریک انسولین و با واسطه GLUT4 35
1-15- مدل‌های کشت سلولی و شناسایی مکانیسم اثر ترکیبات گیاهی بر متابولیسم گلوکز 35
1-15-1- عمده مطالعات انجام شده در رابطه با اثر مواد مختلف بر بیان GLUT4 36
1-16- بررسی متون 40
1-17- اهداف پژوهش 43
1-18- اهداف ویژه طرح 43
1-19- فرضیات پژوهش 43
2-1- مواد و تجهیزات مورد نیاز پروژه 46
2-1-1- مواد و تجهیزات مورد نیاز جهت کشت سلول‌های بنیادی C2C12 و تمایز آنها به بافت عضلانی ... 46
2-1-1- مشخصات رده سلولی C_2C_{12} 46
2-1-1-2- مواد و تجهیزات غیر مصرفی در آزمایشگاه کشت سلولی 47
2-1-1-3- مواد و تجهیزات مصرفی در آزمایشگاه کشت سلولی 48
2-1-2- مواد وتجهیزات مورداستفاده جهت بررسی بیان ژن GLUT4 50

2-1-3- مواد و تجهیزات مورد استفاده جهت جداسازی غشاء میوتیوب‌های C2C12 50
2-1-4- مواد و تجهیزات لازم جهت آزمایش Western bloting..... 53
2-2- کشت سلول‌های بنیادی C2C12 و تمایز آنها به بافت عضلانی 54
2-2-1- تهیه رده سلولی 54
2-2-2- تهیه مواد و محلول‌های مورد نیاز درکشت سلولی 55
2-2-3- تهیه دو نوع محیط کشت اولیه و القایی 55
2-2-4- تهیه بافر PBS 56
2-2-5- نکاتی در مورد کشت سلول های یوکاریوت 56
2-2-6- رفع انجماد سلول‌ها 57
2-2-7- شمارش سلول‌های C2C12 بوسیله روش تریپان آبی 57
2-2-8- تهیه رنگ تریپان آبی (Trypan blue) 57
2-2-9- کشت اولیه سلول‌ها 58
2-2-9-1- روش پاساژ دادن سلول‌ها 59
2-2-9-2- منجمد کردن سلول‌ها (جهت Back up) 60
2-2-9-3 - تمایز سلول‌ها به سلول‌ها ی عضلانی (میوتیوب) 60
2-2-10- تیمار میوتیوپ‌های C2C12 با غلظت‌های مختلف جینسنوزیدRb1 60
2-3- استخراج RNA 61
2-3-1- تیمار نمونه های RNA با DNase 62
2-3-2- اسپکتروفوتومتری نمونه های RNA..... 62
2-3-3- واکنش سنتز cDNA(RT) 62
2-3-4- آماده سازی محلول کار 63
2-3-5- واکنش زنجیره‌ای پلیمراز(PCR) 63
2-3-5-1- تهیه‌ی محلول TAE 66

2-3-6 - واکنش Real Time PCR 66
2-3-6- 1- روش انجام Real Time PCR..... 66
2-3-6- 2- ارزیابی مقایسه کارآیی تکثیر ژن کالیبراتور (GAPDH) و ژن GLUT4 67
2-4- مرحله جداسازی غشاء سیتوپلاسمی C2C12 با استفاده از سانتریفوژ افتراقی 68
2-4-1- تهیه بافر فسفات، بافر مخصوص هموژنیزه سلول، بافر پرچگال 68
2-4-2- تهیه هموژن سلولی و اجزاء سلول با استفاده از سانتریفیوژ افتراقی 69
2-4-2-1- روش تهیه هموژن سلولی 69
2-4-2-2- مراحل انجام سانتریفوژ در دورهای بالا 69
2-4- 3- سنجش پروتئین تام موجود در هموژن سلولی 71
2-4-3-1- ترسیم منحنی استاندارد پروتئین تام..... 71
2-4-4- آماده سازی مواد و روش کار مرحله الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید..... 72
2-4-4- 1- آماده سازی مواد 72
2-4-4-2- روش کار مرحله الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید 74
2-4-4-3- تهیه قالب SDS-PAGE 74
2-4-4-4- تهیه ژل جداکننده (Separating gel) 75
2-4-4-5- تهیه ژل فشرده کننده (Staking gel) 76
2-4-4-6- آماده سازی، نمونه گذاری در چاهک‌های ژل SDS-PGE و انجام الکتروفورز 76
2-4-4-7- رنگ آمیزی و رنگ بری ژل و تائید جداسازی پروتئین‌ها در ژل SDS-PAGE 76
2-4- 5- روش کار مرحله Blotting 77
2-4-5-1- انسداد سطوح باقی مانده PVDF توسط ماده انسدادگر 79
2-4-5-2- محلول شستشوی PVDF یا بافر(TBS) 79
2-4-5-3- آنتی بادی اولیه و تهیه 10 میلی لیتر محلول آنتی بادی اولیه 80
2-4-5-3-1- واکنش آنتی بادی اولیه ضد GLUT4 با گلیکوپروتئین‌ها ی GLUT4 81

2-4-5-4- آنتی بادی ثانویه 82
2-4-5-5- مرحله تشخیص GLUT4 82
3-1- رشد سلول‌های بنیادی C_2C_{12} 85
3-1-1- شمارش و تعیین درصد بقا سلول‌ها 85
3-1-2- تمایز میوبلاست‌های C2C12 به میوتیوب‌های عضلانی 88
3-1-3- تأیید مرحله تمایز براساس مشخصات ریخت شناسی سلولها 90
3-2- نتایج Real Time PCR 90
3-2-1- ارزیابی کیفیت RNA 90
3-2-2- تعینی کارآیی تکثیر ژن‌های GAPDH , GLUT4 92
3-3- نتایج Western Blotting 97
3-4- تجزیه و تحلیل اطلاعات (روش‌های آماری) 100
4-1- بحث 102
4-2- نتیجه گیری 109
4-3- پیشنهادات 109

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول 1-1 : برخی عوامل هورمونی و فیزیولوژیکی که می‌توانند میزان بیان مولکول‌های ناقل گلوکز را افزایش دهند 21
جدول 1-2 : گیاهان دارویی ضد دیابتی و مکانیسم احتمالی اثر آنها 25
جدول 2-1 : نام ژن ، پرایمر، توالی ، دمای اتصال و طول قطعه 64
جدول 2-2 : مواد و مقادیر ژل‌های پایین و بالا SDS- PAGE 75
جدول 3-1 : درصد Bioavalibitliy سلول‌ها در مدت زمان 3 ساعت تیمار..... 86
جدول 3- 2 : مقدار RNA بدست آمده از سلول‌ها 91
جدول 3- 3 : داده‌های کمی حاصله از بلاتینگ در زمان 3 ساعت تیمار..... 99
جدول 3- 4 : مشخصات متغیرهای مطالعه 99

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل 1-1: عوامل مداخله کننده در میزان حساسیت به انسولین 4

شکل 1-2: متابولیسم عضله در دیابت نوع 2 7

شکل 1-3: عملکرد سلول‌های بتای پانکراس 9

شکل 1-4: شرایط طبیعی و مقاومت به انسولین 10

شکل 1-5: مقاومت به انسولین 11

شکل 1-6: نحوه عبور و قرار گیری نواحی مختلف مولکول‌های ناقل گلوکز در غشاء سلول 16

شکل 1-7: تصویر شماتیکی مدل فضا پر کن و نحوه عبور مولکول بتا –D گلوکوپیرانوز..... 17

شکل 1- 8: چرخه حیات گیاه جینسنگ 27

شکل 1-9: انواع جینسنوزیدهای دامارین شکل 29

شکل 1-10: متابولیسم جینسنوزیدها 30

شکل 1-11: هضم و جذب جینسینوزیدها 32

شکل 1-12: تنوع واریته‌های جینسنگ 33

شکل 1-13: رده‌های سلولی مورد استفاده در تحقیقات دیابت 39

شکل 2-1: قسمت‌های مختلف دستگاه SDS-PAGE مدل BIORAD 75

شکل 2-2: تانک انتقال و اجزاء آن 78

شکل 3-1: سلول‌های C2C12در حال رشد 87

شکل 3-2: مراحل تمایز سلول‌های C2C12 88

شکل 3-3: 96 ساعت پس از شروع مرحله تمایز سلول‌های C2C12..... 89

شکل 3-4: 192 ساعت پس از شروع مرحله تمایز سلول‌های C2C12 89

شکل 3-5:میوتیوب‌های کاملاً تمایز یافته 90

شکل 3-6: الکتروفورز RNA تخلیص شده در زمانهای سه و شش ساعت در سلولهای C2C12 91
شکل 3-7: PCR Setup 92

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار 2-1: منحنی استاندارد بدست آمده برای رقت‌های متوالی پروتئین به روش برادفورد..... 72

نمودار 3-1: منحنی تغییرات Bioavalibility سلولهای C2C12 در مدت زمان 3 ساعت 86

نمودار 3-2 : تغییرات مقادیر Ct ژن GLUT4 در برابر رقت‌های مختلف cDNA..... 93

نمودار 3-3 : تغییرات مقادیر Ct ژن GAPDH در برابر رقت‌های مختلف cDNA..... 94

نمودار 3-4 : منحنی نتقطه ذوب تکثیر ژن GulT4 94

نمودار 3-5 : منحنی نقطه ذوب تکثیر ژن GAPDH..... 95

نمودار 3-6 : بیان نسبی ژن GluT4 در سلول‌های C2C12بعد از تیمار کردن در زمان 1 ساعت..... 95

نمودار 3-7: بیان نسبی ژن GluT4 در سلول‌های C2C12بعد از تیمارکردن در زمان 3 ساعت 96

نمودار 3-8 :.بیان نسبی ژن GluT4 در سلول‌های C2C12بعد از تیمارکردن در زمان 6 ساعت..... 96

نمودار 3-9 : .بیان نسبی ژن GluT4 در سلول‌های C2C12بعد از تیمارکردن در زمان 12 ساعت 97

نمودار 3-10: بلاتینگ مربوط به پروتئین Glut4 تام در مدت زمان 3 ساعت 98

نمودار 3-11: بلاتینگ مربوط به پروتئین Glut4 جزء غشایی در مدت زمان 3 ساعت 98

فصل اول

مقدمه

و

مروری بر مطالعات گذشته

مقدمه:

دیابت قندی (DM[1]) ، بیماری مزمن و پیشرونده ای است که باعث ناتوانی و مرگ و میر زودرس می شود و نوع دوم آن غیر وابسته به انسولین است و معمولاً بالا بودن قند خون در آن در اثر کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت بدن به این هورمون بوجود می آید [1]. دیابت بعنوان شایعترین بیماری متابولیک در جهان شناخته شده و تقریباً روزانه حدود 1700 نفر بر اساس شاخص‌های تشخیصی به جمعیت دیابتی ها افزوده می‌شود، در این بین حدود 85 الی 90 درصد افراد با تشخیص دیابت در واقع مبتلا به دیابت نوع 2 هستند. میزان شیوع جهانی دیابت قندی طی دو دهه گذشته به نحو چشمگیری افزایش یافته است و از حدود 30 میلیون مورد در سال 1985، به 285 میلیون مورد در سال 2010 رسیده است. در صورت ادامه این روند، بر اساس پیش بینی فدراسیون بین المللی دیابت تا سال 2030 بیش از 438 میلیون نفر به دیابت مبتلا خواهند شد. اگر چه میزان شیوع دیابت قندی نوع 1 و 2 در سراسر جهان در حال افزایش می‌باشد ولی سرعت افزایش دیابت قندی نوع 2 بسیار بیشتر است. دلیل این مسئله احتمالاً افزایش شیوع چاقی و کاهش میزان فعالیت بدنی و افزایش سن جوامع می‌باشد. در سال 2010، شیوع دیابت قندی در 10 کشور دارای بیشترین شیوع این بیماری از 11/6 تا 30/9 درصد بوده است. بروز دیابت قندی با افزایش سن بیشتر می‌شوند. شیوع این بیماری در اکثر محدوده های سنی در مردان و زنان یکسان است(به ترتیب 11/8 و 10/8 درصد در افراد بالای 20 سال). برآوردهای جهانی حاکی از آنند که در سال 2030، بیشترین تعداد افراد مبتلا به دیابت، در سنین 45 تا 65 سال خواهند بود. در ایران طبق آمار مرکز دیابت حدود 2/5 میلیون نفر مبتلا به دیابت نوع 2 می باشند[2و3].

[1]. Diabetes mellitus