٩٠١١٨٦٣ - ١٣٣٩٦٣

دانشکده علوم طبیعی
گروه زیست شناسی

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد (M.Sc) در رشته ژنتیک

عنوان

بررسی پلی مورفیسم های ژن رسپتور ویتامین D در بیماران دیابتی تیپ۱ و ارتباط آن با برخی عوارض دیابتی

اساتید راهنما

دکترمحمد علی حسینپورفیضی

دکترمحمد رضا عباس زادگان

اطلاعات و مدارک علمی ایران
تهیه مدارک

استاد مشاور

دکتر میترا نیافر ۱۳۸۸/۱۲/۲۶

پژوهشگر

معصومه مالکی

بهمن ۱۳۸۸

۱۳۳۹۶۳

تقدیم به آستان حقیقت

و آنان‌که وصالش را می‌جویند

و آنان‌که در آغوشش کشیده اند

و آنان‌که خود، عین حقیقت اند

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و از خودگذشتگان
به پاس عاطفه سرشار و گرمای امیدبخش وجودشان که در این سردترین روزگاران بهترین پشتیبان است
به پاس قلب های بزرگشان که فریاد رس است و سرگردانی و ترس در پناهشان به شجاعت می گراید
و به پاس محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند

این مجموعه را به همراه همیشه زندگی ام، همسر مهربان
روح پاک و بزرگ پدر فداکار
و مادر دلسوزم تقدیم می کنم...

به شوق او ...

خداوندا! همیشه تو را می خوانم تا نگاهم کنی و دستهای پر از نیاز مرا بگیری

خداوندا! از تو می خواهم معرفتی عطا کنی که جز تو دل به کسی نبندم و جز برای تو قدمی بر ندارم.

در آغاز از یاری بی دریغ همسر نازنینم، که زیبایی های دنیا را فقط در کنار او می خواهم

پدر دوست داشتنی ام، که اگر چه نیست اما یادش همیشگیست

مادر مهربانم، که لحظاتم همواره از بوی عاطفه اش لبریزست

خواهر محبوبم، که در چهار دیواری دنیا تنها پنجره دلم را به سوی او می گشایم

و برادران عزیزم، آنها که همواره مشوق و پشتیبانم بوده اند، قدردانی می نمایم.

بر خود لازم می دانم مراتب امتنان خود را به همکاران صمیمی بخش ژنتیک انسانی پژوهشکده بوعلی دانشگاه علوم پزشکی مشهد و به خصوص استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمدرضا عباس زادگان که با راهنمایی های خود راهگشای اینجانب بوده اند، به جای آورم.

مراتب سپاسگذاری خالصانه خود را از زحمات و حمایتهای بی دریغ استاد بزرگوار جناب آقای دکتر محمد علی حسینپور فیضی که با سعه صدر و شکیبایی مرا در این راه یاری رساندند و نیز استاد عزیز و دلسوزم سرکار خانم دکتر مریم شجاعی که در سخت ترین لحظات همراه و پشتیبانم بودند، ابراز می نمایم.

از استاد مشاور گرامی، سرکار خانم دکتر میترا نیافر و نیز آزمایشگاه پلاسمای شهر تبریز که در معرفی و جمع آوری بیماران مرا یاری رساندند، تشکر و قدردانی می نمایم.

از استاد محترم داور پایان نامه جناب آقای دکتر محمد امین بخش که در بازنگری و تصحیح پایان نامه قبول زحمت فرمودند، سپاسگذاری می نمایم.

هم چنین از همراهی اساتید محترم و دوستان عزیز و همکلاسی های صمیمی گروه ژنتیک دانشگاه تبریز کمال تشکر و سپاسگذاری را دارم.

و در پایان بهترینها را برای تمامی این عزیزان آرزو می کنم...

معصومه مالکی

بهمن ۱۳۸۸

نام خانوادگی دانشجو: مالکی **نام:** معصومه

عنوان پایان نامه: بررسی پلی مورفیسم های ژن رسپتور ویتامین D در بیماران دیابتی تیپ ۱ و ارتباط آن با برخی عوارض دیابتی

اساتید راهنما:

دکتر محمد علی حسین پور فیضی

دکتر محمدرضا عباس زادگان

استاد مشاور: دکتر میترا نیافر

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته:** زیست شناسی **گرایش:** ژنتیک **دانشگاه:** تبریز

دانشکده: علوم طبیعی **تاریخ فارغ التحصیلی:** ۱۳۸۸/۱۱/۲۷ **تعداد صفحه:** ۱۳۸

واژه های کلیدی: دیابت تیپ ۱(T1DM)، رسپتور ویتامین D (VDR) ، RFLP-PCR

خلاصه

افزایش شیوع سالانه کلی دیابت شیرین تیپ ۱ از حدود ۱۶ در ۱۰۰۰۰۰ مورد در سال ۱۹۹۰ به ۲۴/۳ در ۱۰۰۰۰۰ مورد تا اکنون می باشد و احتمالا همچنان افزایش خواهد یافت. ویتامین D یک تعدیل کننده سیستم ایمنی است که عمل خود را از طریق رسپتور ویتامین D (VDR) انجام می دهد. ژن VDR یک ژن کاندید برای استعداد ابتلا به نقایص خودایمنی است. T1DM یک بیماری خودایمنی است که با تخریب سلولهای β پانکراس تولید کننده انسولین شناخته می شود.

پلی مورفیسم های ژن VDR ممکن است با T1DM مرتبط باشند که البته نتایج متفاوتی در گروه های نژادی مختلف گزارش شده است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط میان پلی مورفیسم های معمول ژن VDR با استعداد ژنتیکی به دیابت تیپ ۱ و ارتباط آن با برخی عوارض دیابتی شامل رتینوپاتی، فشار خون، نفروپاتی و دیس لیپیدمی و همچنین سابقه خانوادگی در جمعیت شمال غرب کشور می باشد.

در این مطالعه ۵۸ بیمار مبتلا به T1DM و ۵۶ فرد کنترل (سالم) که اطلاعات کلینیکی مورد نیاز از آنها جمع آوری شد، شرکت دارند. DNA از خون محیطی این افراد استخراج شد و پلی مورفیسم های Bsm I, Fok I, Apa I, Taq I بوسیله تکنیک RFLP - PCR بررسی شد. متوسط سن بیماران ۸/۴۲ ±۲۳/۱۰ و متوسط سن شروع دیابت ۷/۹۸ ±۱۷/۱ و متوسط سن افراد کنترل ۱۱/۰۷ ± ۲۵/۱۴ سال بود.

هیچیک از ژنوتیپها ارتباط معنی داری با استعداد ابتلا به T1DM در مقایسه گروه های بیمار و سالم نشان نداد. از عوارض دیابتی مورد بررسی ارتباط نفروپاتی مثبت با ژنوتیپ BB و نفروپاتی منفی با ژنوتیپ Bb از پلی مورفیسم Bsm I مشاهده شد (P= ۰/۰۳۹).

بنابراین در مطالعه ما پلی مورفیسم های ژن VDR نمونه های بررسی شده جمعیت شمال غرب کشور با T1DM مرتبط نبودند و تنها ارتباط نفروپاتی با BB از پلی مورفیسم Bsm I مشاهده شد.

عنوان	فهرست مطالب	صفحه

فصل اول: بررسی منابع

مقدمه ۱

۱-۱ انواع دیابت و شیوع آن در ایران ۲

۱-۱-۱ دیابت نوع ۱ ..... ۲

۱-۱-۲ دیابت نوع ۲ ..... ۳

۱-۱-۳ دیابت بارداری ٤

۱-۲ T1DM ٥

۱-۳ ژنتیک T1D ۷

۱-۳-۱ژن های HLA در ابتلا به T1D ۷

۱-۳-۱-۱ ناحیه گروه HLA II ۸

۱-۳-۱-۲ ناحیه گروه HLA I ۸

۱-۳-۱-۳ ناحیه گروه HLA III ۹

۱-۳-۲ ژن انسولین ۹

۱-۳-۳ تعداد متغیر تکرارهای پشت سر هم ۱۰

۱-۳-٤ آنتی ژن ٤ لنفوسیت T سیتوتوکسیک ۱۱

۱-۳-٥ نوع ۲۲ غیرگیرنده فسفاتاز تیروزین پروتئینی ۱۲

۱-۳-٦ اینترلوکین ۱۲

۱-۳-۷ IDDM 3-IDDM 18 ..... ۱٤

۱-٤ تحریک کننده های محیطی برای T1D ۱۷

۱-٥ ویتامین D ۱۹

۱-٥-۱ ویتامین D و دیابت خودایمنی ۱۹

۱-٥-۲ ویتامین D به عنوان یک ریسک فاکتور محیطی و ژنتیکی برای T1D ۲۱

۱-٥-۳ مکانیسم های احتمالی عمل ویتامین D در T1D ۲٤

۱-٥-٤ ویتامین D و فیزیولوژی ترشح β–cell و عملکرد انسولین ۲۹

۱-٦ ساختار ژن گیرنده ویتامین D ۳۰

۱-۷ پلی مورفیسم های ژن VDR ٤۱

۱-۷-۱ نامتعادلی پیوستگی و هاپلوتایپ ها ٤٤

۱-۷-۲ پلی مورفیسم cdx2 ..... ٤۷

۱-۷-۳ پلی مورفیسم Fok I ٤٨
۱-۷-٤ پلی مورفیسم های 3′-UTR و Bsm, Apa, Taq ٤٩
۱-۸ رتینوپاتی دیابتی ٥٩
۱-۹ اختلالات چربی خون و دیابت ٦١
۱-۱۰بیماری فشار خون و دیابت ٦٢
۱-۱۱نفروپاتی دیابتی ٦٦
۱-۱۲ هدف تحقیق ٦٧

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲ـ۱ تجهیزات و لوازم مورد استفاده ٦٨
۲ـ۲ مواد مورد استفاده ٦٩
۲ـ۲ـ۱ مواد مصرفی عمومی ٦٩
۲ـ۲ـ۲ مواد مصرفی شیمیایی ٦٩
۲ـ۲ـ۳ مواد مصرفی بیولوژیک ٧٠
۲-۳ تهیه نمونه‌های خون ٧١
۲-٤ استخراج DNA از خون به روش salting out ٧٢
۲-٤-۱ روش آنزیمی ٧٢
۲-٤-۱-۱ مواد، محلولها و وسائل لازم جهت استخراج DNA از خون ٧٢
۲-٤-۱-۲ روش استخراج DNA ژنومی به روش آنزیمی ٧٥
۲-٤-۲ روش غیر آنزیمی ٧٧
۲-٤-۲-۱ مواد، محلولها و وسائل لازم جهت استخراج DNA از خون ٧٧
۲-٤-۲-۲ روش استخراج DNA ژنومی به روش غیر آنزیمی ٨٠
۲-٥ تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ٨٢
۲-٥-۱روش اسپکتروفتومتری ٨٢
۲-٥-۲ روش الکتروفورز روی ژل آگارز ٨٣
۲ـ٦ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) ٨٤
۲-٦-۱ محلولهای لازم جهت واکنش PCR ٨٥
۲-٦-۲ آغازگرهای استفاده شده جهت انجام VDR-PCR ٨٥

۲-۷ بررسی پلی مورفیسم Bsm I به روش RFLP-PCR.....۸۶
۲-۷-۱ آغازگر استفاده شده جهت تکثیر اینترون ۸ (بین اگزونهای ۸ و ۹).....۸۶
۲-۷-۲ آنزیم Bsm I و جایگاه برش آن.....۸۷
۲-۷-۳ غلظت اجزای مورد استفاده برای شکست جایگاه آنزیمی Bsm I (RFLP).....۸۸
۲-۸ بررسی پلی مورفیسم Fok I (BseG1) به روش RFLP-PCR.....۸۹
۲-۸-۱ آغازگر استفاده شده جهت تکثیر اگزون ۲.....۸۹
۲-۸-۲ آنزیم Fok I و جایگاه برش آن.....۹۰
۲-۸-۳ غلظت اجزای مورد استفاده برای شکست جایگاه آنزیمی(RFLP Fok I).....۹۱
۲-۹ بررسی پلی مورفیسم های Apa I و Taq I به روش RFLP-PCR.....۹۲
۲-۹-۱ آغازگر استفاده شده جهت تکثیر اینترون ۸ و اگزون ۹.....۹۲
۲-۹-۲ آنزیم های Apa I و Taq I و جایگاه برش آنها.....۹۳
۲-۹-۳ غلظت اجزای مورد استفاده برای شکست جایگاه آنزیمی ApaI و TaqI (RFLP)..۹٤
۲-۱۰ الکتروفورز روی ژل آگارز.....۹۵
۲-۱۰-۱ مواد و محلولهای لازم جهت تهیه ژل آگارز و الکتروفورز.....۹٦
۲-۱۰-۲ روش تهیه ژل آگارز.....۹٦
۲-۱۰-۳ روش الکتروفورز افقی.....۹۸
۲-۱۱ عکسبرداری از ژل.....۹۹
۲-۱۲ الکتروفورز روی ژل پلی اکریل آمید.....۹۹
۲-۱۲-۱ مواد و محلولهای لازم جهت تهیه ژل پلی اکریل آمید.....۹۹
۲-۱۲-۲ روش تهیه ژل پلی اکریل آمید ۱۵ درصد.....۱۰۰
۲-۱۲-۳ قالب گیری ژل پلی اکریل آمید.....۱۰۱
۲-۱۲-٤ الکتروفورز عمودی.....۱۰۱
۲-۱۳ رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید با نیترات نقره.....۱۰۱
۲-۱۳-۱ مواد و محلولهای لازم جهت رنگ آمیزی با نیترات نقره.....۱۰۱
۲-۱۳-۲ روش انجام رنگ آمیزی نیترات نقره.....۱۰۲
۲-۱٤ آنالیز آماری.....۱۰۳

عنوان	فهرست مطالب	صفحه

فصل۳: نتایج

نتیجه..... ۱۰٤
۳-۱ بررسی کیفیت DNA..... ۱۰٤
۳-۲ نتایج ۱۰۵
۳-۲-۱ بررسی پلی مورفیسم Bsm I با روش RFLP-PCR..... ۱۰٦
۳-۲-۲ بررسی پلی مورفیسم Fok I با روش RFLP-PCR..... ۱۰۸
۳-۲-۳ بررسی پلی مورفیسم Apa I و Taq I با روش RFLP-PCR..... ۱۱۰
۳-۳ بحث..... ۱۱۷
۳-٤ نتیجه گیری و پیشنهادات..... ۱۳۰
۳-٤-۱ نتیجه گیری..... ۱۳۰
۳-٤-۲ پیشنهادات..... ۱۳۱

جدول ۱-۱ هاپلوتیپ‌های HLA و T1D ۸
جدول ۱-۲ لوکوس‌های مستعدکننده‌ی T1D ۱٤
جدول ۱-۳ خصوصیات ژن گیرنده ویتامین D انسانی ۳۲
جدول ۱-٤ اثرات عملکردی پلی مورفیسم های VDR: مطالعات in vitro ۵۲
جدول ۱-۵ اثرات عملکردی پلی مورفیسم های VDR: مطالعات in vivo ۵۵
جدول ۱-٦ اثرات عملکردی پلی مورفیسم های VDR: پاسخ به درمان مطالعات in vivo ۵٦
جدول ۲-۱لیست دستگاهها و لوازم مورد استفاده ٦۸
جدول ۲-۲ لیست مواد مصرفی عمومی ٦۹
جدول ۲-۳ لیست مواد مصرفی شیمیایی ۷۰
جدول ۲-٤ لیست مواد مصرفی بیولوژیک ۷۱
جدول ۲-۵ طرز تهیه محلول CLB ۷۸
جدول ۲-٦ طرز تهیه محلول TKM1 ..... ۷۹
جدول ۲-۷ طرز تهیه محلول TKM2 ..... ۷۹
جدول ۲-۸ طرز تهیه محلول TE ۸۰
جدول ۲-۹ مشخصات آغازگرهای مورد استفاده جهت انجام VDR PCR ۸۵
جدول ۲-۱۰ غلظت اجزای مورد استفاده برای واکنش PCR با پرایمر Bsm I ۸٦
جدول ۲-۱۱ برنامه دمایی مناسب برای واکنش PCR با پرایمر Bsm I ۸۷
جدول ۲-۱۲ غلظت اجزای مورد استفاده برای Bsm I RFLP ۸۸
جدول ۲-۱۳ آلل های تولید شده پس از Bsm I RFLP ۸۸
جدول ۲-۱٤ غلظت اجزای مورد استفاده برای واکنش PCR با پرایمر Fok I ۸۹
جدول ۲-۱۵ برنامه دمایی مناسب برای واکنش PCR با پرایمر Fok I ۹۰
جدول ۲-۱٦ غلظت اجزای مورد استفاده برای Fok I RFLP ۹۱
جدول ۲-۱۷ آلل های تولید شده پس از Fok I RFLP ۹۱
جدول ۲-۱۸ غلظت اجزای مورد استفاده برای واکنش PCR با پرایمر Apa /Taq I ۹۲
جدول ۲-۱۹ برنامه دمایی مناسب برای واکنش PCR با پرایمر Apa /Taq I ۹۳
جدول ۲-۲۰ غلظت اجزای مورد استفاده برای Apa I RFLP ۹٤
جدول ۲-۲۱ غلظت اجزای مورد استفاده برای Taq I RFLP ۹٤
جدول ۲-۲۲ آلل های تولید شده پس از Apa I RFLP ۹۵

جدول ۲-۲۳ آلل های تولید شده پس از Taq I RFLP.....۹۵
جدول ۲-۲٤ طرز تهیه بافر TAE50 X.....۹۸
جدول ۳-۱ توزیع پلی مورفیسم های VDR در افراد بیمار و کنترل..... ۱۱٤
جدول ۳-۲ توزیع فرکانس آللی پلی مورفیسم های VDR در افراد بیمار و کنترل.....۱۱۵
جدول ۳-۳ توزیع کلی درصد و فرکانس آللی پلی مورفیسم های VDR در جمعیت شمال غرب کشور.....۱۱۵
جدول ۳-٤ فرکانس و درصد افراد مبتلا به برخی عوارض دیابتی و نیز سابقه خانوادگی آنها....۱۱٦
جدول ۳-۵ ارتباط پلی مورفیسم های VDR،سابقه خانوادگی و برخی عوارض دیابتی..... ۱۱٦
جدول ۳-٦ مقایسه ارتباط پلی مورفیسم های VDR با T1D در دو جمعیت از ایران..... ۱۲۲
جدول ۳-۷ مقایسهٔ فراوانی آلل های VDR در سه گروه نژادی اصلی برای بیشترین مطالعات پلی مورفیسمی انجام شده.....۱۲٦

عنوان	فهرست شکل ها	صفحه

شکل ۱-۱ سیستم ویتامین D شامل تنظیم غلظت سرمی ویتامین D، انتقال بین سلولی و متابولیسم درون سلولی..... ۲۰

شکل ۱-۲ اثرتعدیل ایمنی 1,25(OH)2D3..... ۲۹

شکل ۱-۳ ساختار ژن گیرنده ویتامین D انسانی..... ۳۱

شکل ۱-٤ لوکوس ژن VDR انسانی..... ۳۲

شکل ۱-٥ آنالیز رونوشت های mRNA ژن VDR انسانی..... ۳٥

شکل ۱-٦ ساختار رونوشتهای ژن VDR انسانی..... ۳٦

شکل ۱-۷ تعیین توالی پروموتر ژن گیرنده ویتامین D انسانی..... ٤۰

شکل ۱-۸ ساختار اگزون-اینترونی ژن VDR و جایگاه پلی مورفیسم های شناخته شده در آن. ٤۲

شکل ۱-۹ ساختار و جایگاه پلی مورفیسم ها در 3´-UTR ژن VDR ٤۷

شکل ۱-۱۰ اهمیت هاپلوتایپ ها در ژن VDR..... ٥٤

شکل ۱-۱۱ رتینوپاتی دیابتی..... ٦۰

شکل ۲-۱ مراحل واکنش زنجیره‌ای پلیمرازی (PCR)..... ۸٤

شکل ۳-۱ کیفیت چند نمونه DNA استخراج شده با روش نمک اشباع..... ۱۰٥

شکل ۳-۲ نمونه محصولات Bsm I-PCR..... ۱۰٦

شکل ۳-۳ الکتروفورز محصولات حاصل از برش آنزیم Bsm I ۱۰۷

شکل ۳-۴ نمونه محصولات Fok I-PCR..... ۱۰۸

شکل ۳-٥ الکتروفورز محصولات حاصل از برش آنزیم Fok I..... ۱۰۹

شکل ۳-٦ نمونه محصولات Apa I, Taq I-PCR..... ۱۱۰

شکل ۳-۷ الکتروفورز محصولات حاصل از برش آنزیم Apa I..... ۱۱۲

شکل ۳-۸ الکتروفورز محصولات حاصل از برش آنزیم Taq I..... ۱۱۲

شکل ۳-۹ نمای شماتیکی سطوح ساختاری متفاوت پلی مورفیسم های ژن VDR..... ۱۲۹

فصل ۱

بررسی منابع

مقدمه

در پی صنعتی شدن کشورها در قرن ۲۱، افزایش امید به زندگی و تغییر در شیوه زندگی، الگوی بیماریها از بیماری های حاد به سمت بیماری های مزمنی مانند دیابت تغییر یافته است. سازمان جهانی بهداشت با توجه به روند رو به تزاید بیماری دیابت در جهان، دیابت را به عنوان یک اپیدمی نهفته اعلام کرده و از سال ۱۹۹۳ تمام کشورهای جهان را به مقابله با این اپیدمی فرا خوانده است. با توجه به افزایش جمعیت بالغ جهان از ٤٪ در سال ۱۹۹۵ به ٥/٤٪ در سال ۲۰۲۵، تعدا مبتلایان به دیابت از ۱۳۵ میلیون نفر به ۳۰۰ میلیون نفر خواهد رسید که در این افزایش سهم کشورهای در حال پیشرفت ۱۷۰٪ خواهد بود در حالیکه این افزایش در کشورهای پیشرفته ٤۲٪ می باشد. گرچه دیابت امروزه هم در اکثر اوقات به عنوان مشکل کشورهای پیشرفته مطرح می شود اما کوتاه شدن طول دوره زندگی به دلیل مرگ زودرس در بین افراد مبتلا به دیابت در کشورهای در حال رشد بیشتر است. دیابت یکی از مسائل عمده بهداشت کشورهای جهان است[۱]. با این که شیوع هر دو نوع دیابت شیرین نوع ۱ و ۲ در سراسر جهان در حال افزایش می باشد، اما انتظار می رود که شیوع دیابت نوع ۲ با توجه به افزایش شیوع کم تحرکی و چاقی با سرعت بیشتری افزایش یابد. سهم کشور ایران نیز بر اساس نتایج مرحله دوم مطالعه قند و لیپید تهران در سال ۱۳۸۰، ۳/٥ میلیون نفر تخمین زده می شود، به طوری که از هر ٥ فرد بالای ۳۰ سال یک نفر مبتلا به دیابت یا دچار اختلال تحمل گلوکز است. دیابت از بیماریهای پر هزینه بوده و در بسیاری از کشورها در سنین ۷۰-۲۰ سالگی علت اصلی کوری و سر دسته علل قطع عضو و بیماری کلیوی مرحله نهایی(ESRD)[1] محسوب می شود. در اثر این بیماری امید به زندگی در بیماران میان سال ٥ تا ۱۰ سال کاهش یافته و تعداد بیمارانی که به علت دیابت در بیمارستان بستری می شوند نسبت به سایر بیماریهای مزمن ۲/٤ برابر می باشد.

1. End-stage renal disease

پیشرفت عوارض و هزینه های بالای درمان در این بیماران عمدتا ناشی از کنترل نامناسب گلوکز خون می باشد. بنابراین یکی از مهم ترین اهداف در درمان این بیماران، دستیابی به کنترل مناسب قند خون می باشد. تحقیقات نشان می دهد که کنترل مناسب قند خون سبب تاخیر در شیوع و پیشرفت عوارض ناشی از این بیماری می شود[۲].

۱-۱ انواع دیابت و شیوع آن در ایران

۱-۱-۱ دیابت نوع ۱

IDDM[2] که گاهی دیابت نوع ۱ نامیده می شود با نامهای دیگری نیز شناخته می شود: دیابت نوجوانی، دیابت وابسته به انسولین و دیابت دوره کودکی. علیرغم اینکه اکثر دیابتی های نوع ۱، کودکان و نوجوانان هستند، احتمال ابتلای به این بیماری برای افراد در هر گروه سنی و با هر جنسیتی وجود دارد. بروز دیابت نوع ۱ در جمعیت زیر ۱٤ سال در سراسر دنیا از یک نفر در ۱۰۰۰۰۰ در سال تا ۳۵ نفر در ۱۰۰۰۰۰ در سال متفاوت می باشد. با این حال اسکاندیناوی از بیشترین میزان بروز و کشورهای حاشیه اقیانوس آرام در شرق آسیا از کمترین میزان بروز برخوردار می باشند، در اروپای شمالی و آمریکا نیز میزان بروز ۱۷-۸ نفر در ۱۰۰۰۰۰ در سال برآورد شده است. میزان بروز دیابت نوع ۱ در ایران ۳/۷ نفر در ۱۰۰۰۰۰ در سال می باشد که این میزان در جامعه روستایی و شهری با یکدیگر متفاوت است. این رقم در مقایسه با میزان بروز دیابت نوع ۱ در برخی کشورهای آسیایی مانند روسیه، کویت و فلسطین پائین و در مقایسه با کشورهایی مانند چین، ژاپن و پاکستان رقم بالایی محسوب می شود. مطالعات اپیدمیولوژیکی نشان

2. Insulin dependent diabetes mellitus

می دهند که در طی ۵۰ سال گذشته، تعداد این کودکان افزایش چشمگیری یافته است به طوری که شیوع کلی آن به حدود یک نفر در هر ۳۰۰ کودک و یا یک نفر در هر ۵۰۰ کودک رسیده است[۳].

۱-۱-۲ دیابت نوع ۲

دیابت یکی از مسائل عمده بهداشت کشورهای جهان است و دیابت نوع ۲ در جوامع مختلف رو به افزایش می باشد به طوری که پیش بینی می شود تا سال ۲۰۲۵ در کشورهای پیشرفته با ٤۲٪ و در کشور های در حال توسعه با ۱۷۰٪ افزایش شیوع دیابت مواجه باشیم. شیوع دیابت نوع ۲ در بیشتر جمعیتها به حد اپیدمی رسیده است و شواهد اپیدمیولوژیک بیانگر این هستند که اگر یک راهکار موثر برای پیشگیری از آن اندیشیده نشود، این شیوع در سطح جهانی سیر صعودی خواهد داشت. تخمین زده می شود که تا سال ۲۰۳۰، تعداد افراد مبتلا به دیابت به بیش از ۳٦٦ میلیون نفر برسد که بیش از ۲ برابر تعداد سال ۲۰۰۰ است. اکثریت این موارد جدید از کشورهای در حال توسعه خواهند بود و به نظر می رسد که خاورمیانه در این میان بیشترین افزایش در شیوع دیابت را تا سال ۲۰۲۰ داشته باشد[٤]. طبق مطالعه لاریجانی و همکاران، شیوع دیابت در نقاط مختلف ایران بین ۵ تا ۸ ٪ برآورد شده است، همچنین بر اساس پیش بینی کارشناسان سازمان جهانی بهداشت، شیوع دیابت نوع ۲ در ایران در سال ۲۰۲۵، ٦/۸ ٪، برابر با ۵/۲۱۵/۰۰۰ نفر خواهد بود و این تعداد در سال ۲۰۳۰ از مرز ٦/٤ میلیون نفر خواهد گذشت[۵]. تغییرات سریعی که در شیوه زندگی در این کشورها اتفاق افتاده، باعث افزایش شیوع چاقی و دیگر بیماریهای غیر واگیر (از جمله پرفشاری خون و اختلالات چربی خون) گردیده است که به نظر می رسد عامل اصلی در افزایش بی رویه بروز دیابت در سطح جهانی باشند. از آنجایی که شیوع دیابت در جوامع مختلف بسیار متفاوت است و در

این میان عوامل نژادی، توزیع سنی، عادات غذایی، فعالیت بدنی، عوامل محیطی از جمله عواملی هستند که به طور اختصاصی بر روی ژنوتیپهای خاص اثر گذاشته و باعث شیوع متفاوت دیابت در جوامع مختلف می گردند، از این رو شناسایی این عوامل خطر ساز مهمترین قدم در ایجاد یک برنامه موثر پیشگیری از دیابت است، زیرا شواهد نشان می دهند که کنترل این عوامل خطرساز می تواند باعث کاهش میزان بروز دیابت گردد[٥]. شیوع دیابت نوع ٢ در منطقه خاورمیانه بالاست، این میزان در امارات متحده عربی ٢٩٪، در عمان ١٦/١٪ و در ایران ٧/٧٪ (در تهران ١٠/٦٪) گزارش شده است[٤].

١-١-٣ دیابت بارداری

دیابت بارداری عبارت است از عدم تحمل کربوهیدرات با شدت های مختلف که برای اولین بار در جریان بارداری شروع شده یا تشخیص داده می شود. دیابت بارداری شایع ترین اختلال دوران بارداری است و به طور متوسط در ٥-٢٪ کل بارداریها اتفاق می افتد. اختلال در متابولیسم گلوکز در طی حاملگی نتایج زیانباری از قبیل زایمان زودرس، سقط آنی، ناهنجاری های مادرزادی و مرگ های حول زایمانی را برای مادر و نوزاد در پی دارد و عامل خطر قوی برای پیامدهای ناگوار حاملگی است که عوارض و میرایی حین زایمان را افزایش می دهد. تقریبا ٤٠٪ از مبتلایان به دیابت حاملگی طی ٢٠ سال به دیابت آشکار مبتلا می شوند. همچنین برآورد شده است که دیابت حاملگی در ٦٩-٣٠٪ از حاملگی های بعد از اولین حاملگی همراه با دیابت، اتفاق خواهد افتاد و نوزادان مادران دیابتی در خطر بالاتری از دیابت می باشند به طوری که خطر بیماری دیابت نوع ١ در طول عمر به طور متوسط در فرزندان ٦ ٪، در خواهران و برادران ١٥٪ و در دو قلو ها ٣٠٪ برآورد شده است. در مطالعات مختلف سابقه دیابت حاملگی، دیابت در بستگان، سن، فشار

خون بالا، عدم فعالیت فیزیکی، سابقه سزارین، توکسمی و غیره به عنوان عوامل موثر بر بروز دیابت بارداری مورد بحث قرار گرفته اند، اما در مورد مهمترین عوامل علیتی اختلاف نظرهایی وجود دارد[۱].

۱-۲ دیابت نوع ۱ T1DM

T1DM [۳] یک بیماری خود ایمن مالتی فاکتوریا ل است که با کمبود انسولین مشخص می شود که در نتیجه تخریب سلولهای β پانکراس توسط لنفوسیت های T ایجاد می شود[٦]. تخریب سلولهای جزیره ای موجب کمبود انسولین و در نتیجه اختلال تنظیم آنابولیسم و کاتابولیسم می شود که به تغییرات متابولیسمی مشابه تغییرات مشاهده شده در گرسنگی طول کشیده می انجامد. T1D ناشی از استعداد ژنتیکی و آسیب محیطی بعدی است اعتقاد بر این است که این بیماری به ندرت فقط به علت آسیب محیطی یا صرفا یک جهش ژنتیکی می باشد. این بیماری ۱۰ درصد از کل موارد دیابت را تشکیل می دهد[۷]. یک تفاوت جغرافیایی محسوس در شیوع این بیماری وجود دارد که شیوع سالانه بیش از ٤۰ در۱۰۰۰۰۰ کودک در فنلاند و ۲ در ۱۰۰۰۰۰ کودک در ژاپن را موجب شده است[۸]، شیوع آن در کویت ۲۰/۱ در ۱۰۰۰۰۰۰ کودک ١٤-۰ ساله گزارش شده است. مطالعات مختلف نشان داده است که بروز این بیماری وابسته به جنس متغیر است و شیوع آن در میان مردان (۲۰/۱ در ۱۰۰۰۰۰) کمی بیشتر از شیوع آن در میان زنان (۱۹/۰ در ۱۰۰۰۰۰) می باشد[۹]. علاوه بر آن شواهدی وجود دارد که افزایش موقتی و فصلی شیوع T1D را پیشنهاد می کند که نشان دهنده تاثیر فاکتورهای محیطی بر روی این بیماری است. در کشورهایی مثل فنلاند افزایش دو برابری بیماران مبتلا به T1D نسبت به چهار دهه گذشته مشاهده شده است[۱۰]

3. Type 1 diabetes mellitus

این در حالیست که افزایش جهانی این بیماری سه درصد در هر سال می باشد[۷]. این افزایش سریع شیوع بیماری تاثیر محیط را روی ژنهای کاندید در این بیماری آشکار می کند[۱۱]. احتمال T1D در جمعیت عمومی ۱ در ۳۰۰ بوده[۱۲, ۱۳] که در صورت ابتلای یک خواهر یا برادر این خطر به ۱ در ١٤ افزایش یافته و با ابتلای دومین خویشاوند درجه اول علاوه بر خواهر یا برادر مبتلا این احتمال به ۱ در ٦ می رسد و با ابتلای قل تک تخمکی فرد احتمال به ۱ در ۳ افزایش پیدا می کند. فرزندان مادر مبتلا به احتمال ۱ در۵۰ تا ۱ در۳۳ دچار T1D می شوند، در حالیکه فرزندان یک پدر مبتلا به احتمال ۱ در ۲۵ تا ۱ در ١٦ دچار این بیماری می شوند. T1D بیشتر در گروه سنی ۱۳-۱۰ سال دیده می شود و کمترین شیوع را در گروه سنی ۹-٦ سال نشان داده است[۷, ١٤]. احتمال بروز بیماری در دو قلوهای تک تخمکی (۳۰ تا ۵۰ درصد) بیشتر از دو قلوهای دو تخمکی (٦ تا ۱۰ درصد) است که نشانگر نوعی استعداد ژنتیکی در بروز این بیماری است[۱۲]. ۸۵ درصد موارد T1D در افراد بدون سابقه خانوادگی مشاهده می شود[۱۲].

در نقایص مندلی الگوی وراثت بیماری معمولا واضح است اما در بیماری دیابت نمی توان با اطمینان الگوی بیماری را تشخیص داد چون این بیماری مالتی فاکتوریا ل است و عوامل متعدد ژنتیکی و محیطی در آن نقش دارند و نیز نحوه توارث ژنهایی که در این نقایص پیچیده نقش دارند، ناشناخته است[۱۵]. در میان عوامل موثر ژنتیکی بیش از ۱۸ ناحیه مشخص شده است که در این بیماری نقش دارند، این مناطق که هر کدام ممکن است شامل چندین ژن باشند، به صورت IDDM 1-IDDM 18 نشان داده می شوند.

۱-۳ ژنتیک T1D:

۱-۳-۱ ژن‌های HLA [4] در ابتلا به T1D:

تخمین زده‌اند که HLA (IDDM 1) ۵۰-۴۰٪ از موارد ابتلا به T1D را فراهم می‌کند. ناحیه‌ی HLA، دسته‌ای از ژن‌هاست که در MHC [5] روی بازوی کوتاه کروموزوم ٦ (6p21.3) مستقر شده است. گروههای HLA در ناحیه‌ی HLA به سه گروه تقسیم شده‌اند:

- ژن‌های گروه I: (HLA-A, HLA-B, HLA-C) آنتی‌ژن‌های HLA گروه I را که روی سطح تمام سلول‌های هسته‌دار قرار گرفته‌اند، به رمز در می‌آورند.
- ژن‌های گروه II: (HLA- DR, HLA-DQ, HLA-DP) آنتی‌ژن‌های HLA گروه II را تولید می‌کنند، که این آنتی‌ژن‌ها به خصوص روی لنفوسیت‌های B، ماکروفاژها، سلول‌های اپیتلیال جزایر لانگرهانس و لنفوسیت‌های T یافت می‌شوند. بروز آنها روی دیگر سلول‌ها ممکن است توسط سیتوکین‌هایی مثل اینتروفرون و INF-α [6] به وجود آید.
- ژن‌های گروه III: برای اجزای کمپلمان (C2, properdin factor B, C4A, C4B)، ۲۱-هیدروکسیلاز و محصولات دخیل در التهاب با واسطه سلول T مثل TNF-A [7] و TNF-B و پروتئین فاز حاد [8] کد می کنند[١٦].

4. Human leukocyte antigen
5. Majore histocompatibility complex
6. Interferon-α
7. Tumor necrosis factor
8. Acute phase protein