مجله دیابت و لیپید ایران. بهار ۱۳۸۹؛ دوره ۹ (شماره ۳) ۲۸۹-۲۸۳

ارتباط سطح سرمی پروتئین ۳-۳-۱۴ و قند بالا در بیماران قلبی عروقی

سید علیرضا مهاجرانی[۱]، محمدرضا خرمی زاده[۲]، عزیز قهاری[۳]، باقر لاریجانی[*۱]

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

چکیده

مقدمه: بسیاری از بیماران دیابتی با عوارض قلبی عروقی این بیماری نیز دست به گریبانند که شاید یکی از دلایل اصلی آن، تأثیر قند بالا بر روی آنزیم ۳-۳-۱۴ باشد. این آنزیم تغییرات ماتریکس بین سلولی را رهبری می‌کند. هدف از این مطالعه ارزیابی امکان وجود تفاوت سطح سرمی این آنزیم در افراد دیابتی و غیر دیابتی است.

روش: این تحقیق از نوع مورد- شاهدی بوده و بین دو گروه ۱۸ نفره دیابتی و غیر دیابتی از بیماران کاندید عمل CABG انجام شده است. میزان ترشح آنزیم ۳-۳-۱۴ در دو گروه با کمک روش Western blot انجام شد.

یافته‌ها: ارزیابی میزان ترشح سرمی ۳-۳-۱۴ به عنوان عامل محرک بسیاری از اتفاقات ماتریکس بین سلولی، نشان داد که در صورت وجود قند خون بالا، میزان این آنزیم هم بالا خواهد بود و این اختلاف معنی‌دار است. در واقع عدم کنترل قند خون بر روی سطح سرمی این آنزیم تأثیرگذار بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شد که علاوه بر تغییرات غلظت آنزیم ۳-۳-۱۴ در بافت‌های بیماران دیابتی، سطح سرمی این آنزیم نیز نسبت به افراد غیر دیابتی بالاتر است و به نظر می‌رسد علاوه بر اهمیت غلظت یا سطح درون بافتی ۳-۳-۱۴، باید به سطح سرمی این آنزیم و تأثیر سیستمیک آن نیز توجه نمود.

واژگان کلیدی: ماتریکس متالوپروتئیناز، بیماری‌های قلبی عروقی، دیابت ملیتوس

۱- مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- دپارتمان بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده تکنولوژی‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات سوختگی و ترمیم زخم، دپارتمان جراحی، دانشگاه بریتیش کلمبیا، ونکوور، کانادا

[*] ***نشانی:*** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران، تلفن: ۸۸۲۲۰۰۳۷ – ۰۲۱، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲ – ۰۲۱، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۸۸/۰۸/۲۰ **تاریخ درخواست اصلاح:** ۸۸/۱۱/۱۵ **تاریخ پذیرش:** ۸۹/۰۱/۲۵

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

مقدمه

در بیماران دیابتی وجود هیپرگلیسمی، بسیاری از عوارض و اختلالات ناشی از این بیماری را درپی دارد که در نهایت می‌تواند باعث مشکلات وسیع از جمله حرکتی، عصبی، عدم خون رسانی به ارگان‌های انتهایی مانند کلیه، چشم و اندام‌های انتهایی شود [۳-۱]. شناخت پاتوژنز دیابت امکان این را فراهم می‌کند که درمان عوارض آن ریشه‌ای‌تر و کارآمدتر گردد. ماتریکس متالوپروتئینازها (ماتریکس متالوپروتئینازها) و مهارکننده‌ها و محرک‌های آنها از جمله آنزیم پروتئینی ۳-۳-۱۴، نقش اصلی را در تغییرات پاتولوژیک بافت‌ها در دیابت بر عهده دارند [۴].

به عنوان مثال نشان داده شده که فیبروبلاست‌ها که سازنده کلاژن و در نتیجه سازنده زیرساخت‌های بافت جدید هستند، در مجاورت با قند بالا با سرعت کمتری تکثیر می‌یابند و ترمیم به تأخیر می‌افتد [۵]. همین طور آنژیوژنز نیز در دیابت مختل می‌شود. مطالعات میکروسکوپی نشان داده است که در بیماران با کنترل نا مطلوب قند خون، خونرسانی کاپیلاری بسیار ضعیف‌تر بوده و در زخم‌های پای دیابتی ایسکمی ایجاد می‌کند [۶و۷]. مهمترین عامل در تخریب کلاژن‌ها، برخی از انواع ماتریکس متالوپروتئینازها هستند که به عنوان کلاژنازها عمل کرده و مانع شکل‌گیری اسکار می‌شوند. این ماتریکس متالوپروتئینازها در سازوکارهایی که توسط پروتئین ۳-۳-۱۴ کنترل می‌شود تولید شده و ترجمه کمتر یا بیشتر آن موجب اختلال در ساختار بافتی می‌شود [۸].

از سوی دیگر در عوارضی همچون مشکلات قلبی-عروقی که شامل درگیری‌های عضله میوکارد، آترواسکلروز، افزایش فشار خون و افزایش چربی خون می‌باشد، دیده شده که پرشدگی غیر طبیعی بطن‌ها با بالا بودن کلاژن در بافت میوکارد همراهی دارد [۹و۱۰]. از سوی دیگر نشان داده شده است که دیواره عروقی به دلیل فیبروز، ضخیم شده و در نهایت به فشار خون منجر می‌شوند [۱۱]. این‌ها همه نشان می‌دهند که احتمالاً در بیماران دیابتی، پروفایل کلاژن در دیواره عروق و عضله میوکارد زیادتر از معمول بوده و عوارض دیابت از نظر پاتوفیزیولوژیک بیشتر وابسته به این تغییرات مولکولی است. در برخی از مطالعات نشان داده شده است که پروتئین ۳-۳-۱۴در آپوپتوز میوکارد که بر اثر افزایش بیش از حد فشار خون به وجود آمده و یا آپوپتوز بر اثر دیابت دخیل است [۱۲و۱۳]. همچنین آترواسکلروز نیز بسیار زودتر و شدیدتر از جمعیت نرمال در این دسته از بیماران اتفاق می‌افتد که یکی از دلایل این امر، اختلال در سیستم MMP/TIMP است که تحت کنترل ۳-۳-۱۴ می‌باشد [۱۴و۱۵].

پس در واقع پروتئین ۳-۳-۱۴ در سیستم‌های مختلف و در بافت‌های گوناگون، چه در داخل سلول و چه در خارج آن نقش‌های متفاوتی را بر عهده دارد که در نتیجه نمی‌توان به یک قضاوت کلی در مورد مفید یا مضر بودن آن در بیماران دیابتی رسید. با توجه به غلظت‌های متفاوت درون بافتی این آنزیم در مطالعات گذشته [۱۶ و۱۷]، این مطالعه برای بررسی سطح سرمی آنزیم پروتئین ۳-۳-۱۴ انجام شد تا اهمیت آن به عنوان یک آنزیم خارج سلولی نیز مورد توجه قرار گیرد تا قضاوتی درست در مورد میزان تأثیر آن بر فرآیندها انجام شود.

روش‌ها

بیماران

با توجه به دخالت وسیع پروتئین ۳-۳-۱۴ و به تبع آن ماتریکس متالوپروتئینازها در تمامی بافت‌ها و با توجه به معیارهای فوق، ۳۶ بیمار بخش جراحی قلب باز مرکز قلب تهران با توجه به کرایتریای مورد نظر، مورد ارزیابی نهایی قرار گرفتند. علت انتخاب این گروه از بیماران: ۱- دخالت پروتئین ۳-۳-۱۴ در بسیاری از اختلالات قلبی و عروقی به خصوص در ارتباط با بیماری دیابت، ۲- امکان همسان‌سازی بیماران به دلیل تعداد بالای بستری و عمل قلب باز، ۳- عفونی نبودن اسکارهای عمل و تحت نظر بودن شدید بیماران در بخش Post ICU از نظر خطر عفونت بود. این بیماران در دو گروه سالم و دیابتی قرار گرفتند. گروه سالم ۱۸نفر و گروه مبتلا به دیابت ۱۸ نفر بودند.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

گروه دیابتی از بیمارانی تشکیل شده بود که ابتلای اثبات شده قبلی به دیابت نوع ۲ داشتند (مدت آگاهی آنان از دیابت نوع ۲ خود به طور میانگین ۶/۰۲سال بود) و یا وجود HbA1c بالای ۶/۵ به همراه قند خون ناشتا بالای ۱۱۰ mg/dl برای دو روز متوالی داشتند. بیماران هر دو گروه از لحاظ سن، جنس، مصرف سیگار، الکل، مواد مخدر، داروها، HbA1c و درمان‌های گرفته شده قبلی و آزمایش‌های انجام شده بررسی شدند به نحوی که بیماران هر دو گروه در بازه سنی ۴۰ تا ۶۵ سال قرار داشتند تا الگوی ترشح هورمونی تغییر نکرده باشد. تمامی بیماران مرد بودند تا تفاوت هورمون‌ها اختلالی در مقایسه جواب‌ها ایجاد نکند (تستوسترون بر روی برخی از فرایندهای بر پایه ماتریکس اثرگذار است) [۱۹و۱۸]. هیچ بیماری زمینه‌ای به جز دیابت در گروه دیابتی وجود نداشت و داروهایی به جز داروهای قلبی معمول مصرف نمی‌کردند (همچون آسپیرین و داروهای ضد فشار خون) همچنین سابقه مصرف سیگار، الکل و موارد مخدر در سه ماه اخیر استعمال نداشتند. عوارض دیگر دیابت مثل زخم پای دیابتی، نوروپاتی محیطی، بیماری‌های عروقی محیطی (با مقایسه فشار شریانی اندام فوقانی و اندام تحتانی)، میکروآلبومینوری (برمبنای آزمایش سیستم ادرار) در گروه دیابتی وجود نداشت. در تمام بررسی‌های قلبی نیز مشکلی به جز آترواسکلروز عروق کرونری وجود نداشت.

نمونه‌گیری

خونگیری بیماران برای کاهش احتمال خطای خونگیری بیماران در دو نوبت، هر نوبت به میزان ۵ سی‌سی انجام شد. هر دو نوبت قبل از عمل و در صبح ناشتا گرفته شد و در کمتر از ۱ ساعت به آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد بیمارستان دکتر شریعتی منتقل گردید. در آزمایشگاه ابتدا HbA1c (یک شاخص برای ساختار کلاژنی) اندازه‌گیری شد [۹] و باقیمانده خون‌ها در دور ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نگاه ماکروسکوپی هر کدام از سرم‌ها که دارای فیبرین زیاد یا چربی مشهود بودند از طرح حذف شدند. سپس سرم‌های باقیمانده جدا شده و مجددا در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و تمام سرمها در دمای $-80^{o}C$ نگهداری شدند. در زمان مصرف نیز مجدداً در دور ۱۳۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ و برای بررسی آماده گردیدند. در این مطالعه تمامی اصول اخلاقی رعایت گردید (معاهده هلسینکی II و بیانیه اخلاق اسلامی)، همچنین از بیماران رضایت‌نامه کتبی آگاهانه گرفته شد.

۲µl از سرم هر کدام از بیماران در ول‌های ژل ۱۰٪ (wt/vol) آکریلامید SDS-PAGE قرار گرفت. سپس پس از طی مراحل الکتروفورز (۱۲۰ ولت برای یک ساعت در BioRad System) در دستگاه بلاتینگ Bio-ice (۱۰۰ولت برای ۳۰ دقیقه با ۳۰۰میلی آمپر) به کاغذ نیتروسلولز PROTRAN BA 83-0/2µm (WHATMAN) منتقل گردید. پس از آن پروتئین‌ها بر روی کاغذ بلاک شده و برای مرحله بعد آماده شدند. در مرحله ایمونو بلات ۲ gµ/ml از ایزوفرم اتا (η) از آنتی‌بادی پلی کلونال خرگوشی پروتئین ۳-۳-۱۴ بدست آمده در آزمایشگاه دکتر A-Aitken استفاده شد. سپس کاغذ نیترو سلولز در آنتی‌بادی ثانویه (R&D SYSTEM) قرار داده شد و بعد پروتئین ایمونوراکتیو اسکن و با نرم‌افزار Uvi-gelstart (Uvi-Tec، کمبریج، انگلستان) دانسیتومتری گردید تا نسبت‌گیری بین این پروتئین‌ها قابل محاسبه گردد. کراتینوسیت لیزات به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

در این طرح اطلاعات بدست آمده به صورت میانگین و نیز فراوانی و درصد بیان شده است. برای آنالیز آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۵ استفاده شد. برای متغیرهای کمی از Student T- (Independent Sample) test و برای متغیرهای کیفی از Chi-Square Test و یا Fisher's Exact Test بر حسب شرایط استفاده شد. در تمامی موارد مقادیر P< ۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار شناخته شد.

یافته‌ها

بیماران دو گروه از نظر ویژگی‌های دموگرافیک و آزمایشگاهی مورد مقایسه قرار گرفتند و از نظر سن، فشار

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

سیستول و دیاستول و نمایه توده بدنی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه دیده نشد و تنها از نظر HA1c دو گروه با هم متفاوت بودند (P=۰/۰۴). همچنین بین دو گروه میزان فعالیت، رژیم غذایی، ابتلای به فشار خون و چربی بالا تفاوت معنی‌داری نداشت اما از نظر سابقه فامیلی دیابت (P=۰/۰۰۱) و طبیعی بودن بهبود زخم‌ها (P= ۰/۰۴) تفاوت معنی‌دار بود (جدول ۱). همچنین در بین ۱۸بیمار دیابتی، ۱۴ نفر و در گروه دیگر ۱۰ نفر حداقل برای یک بار دچار سکته قلبی شده بودندکه تفاوت معنی‌دار نبود (P=۰/۳)، همین طور از بین نه نفری که دیابت خود را درمان می‌کردند، ۲ نفر با انسولین و ۷ نفر با دارو تحت درمان بودند.

در مورد متغیر اصلی، اختلاف سطح سرمی بین دو گروه مورد بررسی قرار گرفت که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود (P =۰۵/۰). تصویر شماره ۱ نمای باندهای پروتئین ۳-۳-۱۴ را بر روی کاغذ بلات نشان می‌دهد (آزمون وسترن بلات).

جدول ۱- مقایسه ویژگیهای دموگرافیک ، بیوشیمیایی و علایم حیاتی بیماران شرکت کننده در دو گروه مطالعه

متغیر	دیابتی	غیردیابتی
سن (سال)	۷±۱	۶±۳
فشار خون سیستولی (mmHg)	۱۵۲±۱۲	۱۴۷±۱۲
فشار خون دیاستولی (mmHg)	۸۹±۵	۸۹±۵
HbA1c * (درصد)	۸۷/۷±۴۴/۱	۴۷/۵±۷/۰
نمایه توده بدنی	۴/۲±۷/۱	۱/۲±۴/۱
فعالیت بدنی روزانه و بیشتر از آن	۸۳ (۱۵)	۹۱ (۲۰)
رژیم غذایی خاص	۱۱ (۲)	۹ (۲)
سابقه فامیلی فشار خون	۶۱ (۱۱)	۴۱ (۹)
چربی خون بالا	۶۱ (۱۱)	۴۱ (۹)
سابقه خانوادگی دیابت	۵۰ (۹)	۴/۵ (۱)
سابقه خانوادگی ابتلا به بیماریهای قلبی	۵۵ (۱۰)	۳۶ (۸)

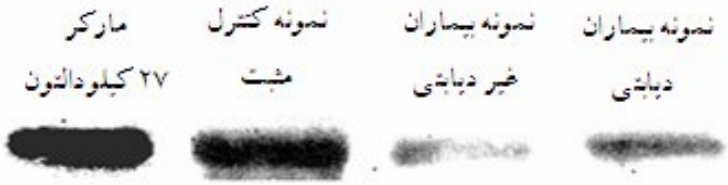
مقادیر به صورت mean± SD و یا درصد (تعداد) ارائه شده است.

*بر اساس آزمون Chi-square، ارتباط معنی‌دار (P< ۰/۰۵) بود.

نوع مطالعه: مورد- شاهد

تعداد شرکت کنندگان گروه دیابتی: ۱۸ نفر

تعداد شرکت کنندگان گروه سالم: ۱۸ نفر



تصویر ۱- ارزیابی میزان ترشح پروتئین ۳-۳-۱۴ به روش وسترن بلات و مقایسه آن در دو گروه

در این روش ۲µl از سرم هر کدام از بیماران در ول‌های ژل SDS-PAGE قرار گرفت. سپس پس از طی مراحل الکتروفورز در دستگاه بلاتینگ به کاغذ نیتروسلولز منتقل گردید. پس از آن پروتئین‌ها بر روی کاغذ بلاک شده و با استفاده از ایزوفرم اتا (η) از آنتی‌بادی پلی کلونال خرگوشی پروتئین ۳-۳-۱۴ مرحله ایمونوبلات انجام شد. سپس کاغذ نیترو سلولز در آنتی‌بادی ثانویه خوابانیده شد و بعد پروتئین ایمونوراکتیو اسکن و با نرم افزار Uvi-gelstart(Uvi-Tec، کمبریج، انگلستان) دانسیتومتری گردید .کراتینوسیت لیزات به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

بحث

همانطور که گفته شد آنزیم ۳-۳-۱۴ نقشی اساسی در بسیاری از فرآیندهای داخل و خارج سلولی ایفا می‌کند و بررسی آن برای دستیابی به راه‌های جدید درمانی، لازم و روبه تزاید می‌باشد. طبق انتخابی که صورت گرفت، بیماران این مطالعه تنها از دو منظر با هم متفاوت بودند: ۱- بالا بودن HbA1c و ابتلا به دیابت نوع ۲ و ۲- سابقه خانوادگی ابتلا به دیابت. آنچه که در این تحقیق معیار اختلاف دو دسته انتخاب شد، مهمترین عامل مؤثر بر عوارض دیابت یعنی میزان قند خون و به عبارت آزمایشگاهی همان HbA1c بود[۲۰]. ما در این مطالعه تلاش کردیم تا تمامی عوامل تأثیرگذار بر پاسخ نهایی به غیر از متغیرهای اصلی حذف شود تا آنچه که به دست می‌آید به واقعیت نزدیکتر باشد. نتایج به دست آمده بر روی ۳۸ بیمار این طرح نشان داد که بیماران دیابتی در ترشح این آنزیم با سایر افراد متفاوتند.

مطالعات مختلف نشان می‌دهد که قند بالا بر روی غلظت موضعی آنزیم بحث شده در این پژوهش تأثیرگذار است. Lam و همکاران نشان داده‌اند که تزریق انسولین، بعد از ۳۶ ساعت در بیماران با قند بالا، باعث مهار استراتیفین ترشحی (یا همان ۳-۳-۱۴) از کراتینوسیت‌ها شده و در نتیجه ظهور ژن ماتریکس متالوپروتئینازها کمتر شده و کلاژن بیشتری در درم باقی خواهد ماند و ترمیم زخم انجام خواهد شد [۲۱]. ما نیز در این مطالعه با ارزیابی آماری نشان دادیم که ۳-۳-۱۴ از سطح بالاتری در سرم بیماران دیابتی برخوردار است. یعنی در واقع در بیماران دیابتی، ۳-۳-۱۴بیشتری در خون یافت می‌شود به صورتی که اختلاف آن با سرم‌های نرمال معنی‌دار بوده است.

همانطور که در مقدمه اشاره مختصری شد، در مطالعاتی که در سطح سلولی انجام شده، از نقش‌های متفاوت و گاه متناقض آنزیم ۳-۳-۱۴ نام برده شده است که تصمیم‌گیری را برای دادن یک نقش مشخص به این آنزیم در عوارض دیابت دشوار می‌سازد. غلظت این آنزیم درترشحات زخم بیماران دیابتی بالا گزارش شده که این می‌تواند در روند ترمیم زخم با تحریک ماتریکس متالوپروتئینازها یک نقش بازدارنده داشته باشد و منجر به تخریب کلاژن‌ها شده و در نتیجه فضای را برای پرکردن ناحیه آسیب دیده نامساعد سازد. اما همین آنزیم در سلول‌های سیستم قلبی عروقی نقشی کاملاً برعکس را ایفا می‌کند. نشان داده شده است که قند بالا به فیبروز میوکارد و هیپرتروفی بطن‌ها می‌انجامد [۲۲ و۲۳]. یعنی در سلول‌های میوکارد شاهد کم کاری یا تحریک ناکافی متالوپروتئینازهای ماتریکس توسط ۳-۳-۱۴ هستیم. پس در اینجا ۳-۳-۱۴ می‌تواند در جلوگیری از فیبروز میوکارد نقش اصلی را داشته باشد. قاعدتاً می‌توان در این مورد بیشتر تحقیق کرد که اگر غلظت درون سلولی پروتئین ۳-۳-۱۴ بالا برده شود و تعادل را به نفع حفظ زندگی سلول بر هم زنیم، آیا می‌توان پیشرفت کاردیومیوپاتی دیابتی را بر هم زد یا خیر؟ در یک بررسی دیگر دیده شده که در بیمارانی گرفتار کلسیفیکاسیون دریچه دارند ظهور، ترجمه و تولید پروتئین ۳-۳-۱۴ و همین طور ژن P21 نسبت به گروه شاهد چندین برابر کمتر است. در واقع پروتئین ۳-۳-۱۴ در همراهی با P21 به عنوان یک نقطه کنترل چرخه سلولی چه در فاز G1 و چه در فاز G۲ عمل می‌کنند و محرک میتوز می‌باشند و کمبود آنها نشان از عدم تکثیر سلولی و ترمیم دارد و در نتیجه سلول‌های دریچه‌های قلبی دچار کلسیفیکاسیون و دژنراسیون می‌شوند. به طوری که به نظر می‌رسد کمبود آن در ماتریکس و سلول‌های دریچه‌ها موجب نارسایی این ارگان می‌شود.

از طرفی همین آنزیم در یک ارگان خاص یعنی رتین دو نقش متفاوت را بازی می‌کند به نحوی که در شبکیه بیماران دیابتی با تخریب دیواره رگ و عروق ریز، موجب تخریب رگ‌ها شده و اکسیژناسیون و همودینامیک جریان را مختل می‌کند تا بینایی کاهش یابد [۲۴] و در همراهی با آن آنژیوژنز را با مهار فعال کننده پلاسمینوژن [۲۵] و یا مهار ترشح NO وکاهش VEGF مختل می‌سازد [۲۷ و۲۶]. اما در طرف مقابل، با تخریب کلاژن‌های ماتریکس، راه را برای آنژیوژنز بیشتر باز کرده تا به نواحی کم خون امداد رسانی شود درحدی که از عوامل تحریک شده توسط پروتئین ۳-۳-۱۴ مثلاً MMP-9 به عنوان بیومارکرهای تشخیصی برای ارزیابی روند رتینوپاتی دیابتی یاد می‌شود [۲۸]. پس در مجموع در حال حاضر نمی‌توان برای این

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

آنزیم و حیطه عملکردش به نتایج واضحی دست یافت. حال اگر گردش سیستمیک آن را نیز مورد توجه قرار دهیم، با معادله‌ای پیچیده روبه‌رو می‌شویم که قضاوت را دشوارتر می‌سازد.

از منظر درمانی، از آنجایی که دیابت اثرات گسترده‌ای بر روی سیستم‌های مختلف داشته و هزینه‌های فراوانی به جا می‌گذارد، درمان عوارض آن توجه زیادی را در بین محققین و مؤسسات مختلف برای تولید مواد یا داروهایی که اثرات کنترلی بر روی پروتئین ۳-۳-۱۴ و اختلافش داشته باشد به خود جلب کرده است [۲۹]. مثلاً در مورد ترمیم زخم محصولات زیادی تولید شده اما آنچه تا کنون اتفاق افتاده تأثیر چشم‌گیری نداشته و نتوانسته به طور کامل ترمیم زخم‌ها را به حالت طبیعی بازگرداند که این نیز می‌تواند به دلیل کم توجهی به وجود پروتئین ۳-۳-۱۴ در گردش خون باشد.

در ادامه سؤالات دیگری نیز به ذهن متبادر می‌شود: منشاء این پروتئین یافت شده در سرم کجاست؟ این آنزیم از کدام بافتی که در حال تولید آن بوده به درون خون ریخته شده؟ آیا در زمانی خاص بدن بیماران دیابتی به استفاده از خواص آن نیاز پیدا کرده یا ترشح آن استمرار داشته؟ چه ارتباط زمانی می‌تواند با نوسانات قند خون داشته باشد؟ همزمان با این، بالا بودن معنی‌دار در کدامیک از بافت‌ها کمبود یا تجمع آن مشاهده خواهد شد؟ آیا سطح سرمی می‌تواند نسبتی با سطح درون سلولی آن در تمام بافت‌ها به طور همزمان داشته باشد؟

پاسخ به این پرسش‌ها و احتمالاً نتایجی که از بررسی آنها به دست می‌آید نشان می‌دهد که ابعاد عملکردی و ارتباطات درون و برون سلولی این آنزیم هنوز در مراحل اولیه شناخت بوده و صدور حکم قطعی برای نقش آفرینی‌های آن در بدن زود هنگام است. استفاده از آنزیم‌های زیر دست آنزیم ۳-۳-۱۴ به عنوان بخشی از مداخلات درمانی در حال حاضر در دست آزمایش بوده که امیدهایی را در پی داشته و حداقل به عنوان یک امکان قابل دسترس برای کاربری موضعی شناخته می‌شود [۳۰]. اما همانطور که مشاهده شد، زمانی که عملکردهای متناقضی حتی در یک ارگان کوچک از پروتئین ۳-۳-۱۴ دیده شده، استفاده از آن و یا مهارش به عنوان یک هدف درمانی و یک نقطه کنترلی برای بازدارندگی یا پیش بردن سازوکارهای درمانی باید به عنوان یک هدف دور دست شناخته شود تا بستر آن به درستی مهیا گردد.

به هر روی آنچه که به انجام رسید پژوهشی است که با رویکرد مقایسه یک مولکول بنیادین در ماتریکس بین سلولی انجام شد و نشان داد که بیماران دیابتی نه تنها در فضای بین سلولی با افراد غیر دیابتی از نظر میزان آنزیم مورد اشاره متفاوتند، بلکه در خون نیز از مقادیر بالاتر این آنزیم پروتئینی برخوردارند و به نظر می‌رسد بهتر است همواره در کنار بررسی‌های این آنزیم در سلول‌های تمایز یافته خاص، یک نگاه سیستمیک نیز مورد توجه قرار گیرد. گرچه لازم است مطالعات کلینیکی بیشتری بر روی سطح سرمی یا موضعی این ملکول‌ها در بیماران دیابتی با عوارض متفاوت به صورت جداگانه انجام شود تا بتوان در آینده در مطالعات مداخله‌ای سطح این مولکول‌ها در سرم یا بافت‌ها را به مقادیر نرمال رساند و از این روش برای بهبود عوارض دیابت همچون زخم پای دیابتی یا آترواسکلروز استفاده کرد.

سپاسگزاری

نویسنگان این مقاله از پرسنل بخش جراحی قلب بیمارستان دکتر شریعتی و همچنین پرسنل مرکز تحقیقات غدد، خانم‌ها کریمی و بشارتی و همچنین آقایان منصور ناصری و مظاهر رحمانی کمال تشکر را دارند. کلیه هزینه‌های انجام این طرح توسط مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم تأمین شده است.

مأخذ

1. Booya F, Bandarian F, Larijani B, Pajouhi M, Nooraei M, Lotfi J. Potential risk factors for diabetic neuropathy: a case control study. *BMC Neurol* 2005; 5: 24.

2. Alvin C. Powers. Diabetes Mellitus. in: Braunwald, Fauci, Kasper. Hamsons principles of Internal Medicine. 15th ed. McGrawHill 2001; p2109-37.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 8:19 IRST on Friday September 22nd 2017

3. Amiri-Moghaddam S, Heshmat R, Larijani B. Iranian national diabetes research network project: background, mission, and outcomes. *Arch Iran Med* 2007; 10: 83-7.
4. Han YP. Matrix metalloproteinases, the pros and cons, in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 88–91.
5. Hehenberger K, Hansson A: High glucose-induced growth factor resistance in human fibroblasts can be reversed by antioxidants and protein kinase C-inhibitors. *Cell Biochem Funct* 1997; 15: 197-201.
6. Shojaiefard A, Khorgami Z, Larijani B. Independent risk factors for amputation in diabetic foot. *Int J Diabetes Dev Ctries* 2008; 28: 32-7.
7. Flynn MD, Boolell M, Tooke JE, Watkins PJ. The effect of insulin infusion on capillary blood flow in the diabetic neuropathic foot. *Diabet Med* 1992; 9: 630-634.
8. Poulalhon N, Farge D, Roos N, Tacheau C, Neuzillet C, Michel L, Mauviel A, Verrecchia F Modulation of collagen and MMP-1 gene expression in fibroblasts by the immunosuppressive drug rapamycin. A direct role as an antifibrotic agent? *J Biol Chem* 2006; 281: 33045-33052.
9. Lim HS, MacFadyen RJ, Lip GY. Diabetes mellitus, the renin-angiotensin-aldosterone system, and the heart. *Arch Intern Med* 2004; 164: 1737-48.
10. Mizushige K, Yao L, Noma T, Kiyomoto H, Yu Y, Hosomi N et al. Alteration in left ventricular diastolic filling and accumulation of myocardial collagen at insulin-resistant prediabetic stage of a Type II diabetic rat model. *Circulation* 2000; 101: 899–907.
11. Van Hoeven K, Factor S. A comparison of the pathological spectrum of hypertensive, diabetic, and hypertensive-diabetic heart disease. *Circulation* 1990; 82: 848–855.
12. Xing H, Zhang S, Weinheimer C, Kovacs A, Muslin AJ. 14-3-3 proteins block apoptosis and differentially regulate MAPK cascades. *EMBO J* 2000; 19:349-58.
13. Gurusamy N, Watanabe K, Ma M, Zhang S, Muslin AJ, Kodama M, Aizawa Y. Dominant negative 14-3-3 promotes cardiomyocyte apoptosis in early stage of type I diabetes mellitus through activation of JNK. Biochem *Biophys Res Commun* 2004; 320:773-80.
14. Rogowicz A, Zozulińska D, Wierusz-Wysocka B. The role of matrix metalloproteinases in the development of vascular complications of diabetes mellitus--clinical implications. *Pol Arch Med Wewn* 2007; 117: 43-8.
15. Portic-Dobos V, Anstadt MP, Hutchinson J, et al. Evidence for a matrix metalloproteinases induction/activation system in arterial vasculature and decreased synthesis and activity in diabetes. *Diabetes* 2002; 51: 3063-3068.
16. Spiekstra SW, Breetveld M, Rustemeyer T, Scheper RJ, Gibbs S. Wound-healing factors secreted by epidermal keratinocytes and dermal fibroblasts in skin substitutes. *Wound Repair Regen* 2007; 15: 708-717.
17. van Hemert MJ, Steensma HY, van Heusden GP. 14-3-3 proteins: key regulators of cell division, signalling and apoptosis. *Bioessays* 2001; 23: 936-946.
18. Ashcroft GS, Mills SJ: Androgen receptor-mediated inhibition of cutaneous wound healing. *J Clin Invest* 2002; 10: 615-624.
19. Rijswijk VL. Full-thickness leg ulcers: patient demographics and predictors of healing. Multi-center leg ulcer study group. *J Fam Pract* 1993; 36: 625-632.
20. Spravchikov N, Sizyakov G, Gartsbein M, Accili D, Tennenbaum T., Wertheimer E: Glucose effects on skin keratinocytes: implications for diabetes skin complications. *Diabetes* 2001; 50: 1627-1635.
21. Lam E, Tredget EE, Marcoux Y, Li Y, Ghahary A: Insulin suppresses collagenase stimulatory effect of stratifin in dermal fibroblasts. *Mol Cell Biochem* 2004; 266: 167-74.
22. Regan TJ, Lyons MM, Ahmed SS, Levinson GE, Oldewurtel HA, Ahmad MR, Haider B. Evidence for cardiomyopathy in familial diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1977; 60: 884-99.
23. Brown RA, Anthony MJ, Petrovski P, Ren J. The influence of gender, diabetes, and acetaldehyde on the intrinsic contractile properties of isolated rat myocardium. *Cardiovasc Toxicol* 2001; 1: 35-42.
24. Van Der Hoeven PC, Van Der Wal JC, Ruurs P, Van Dijk MC, Van Blitterswijk J. 14-3-3 isotypes facilitate coupling of protein kinase C-zeta to Raf-1: negative regulation by 14-3-3 phosphorylation. *Biochem J* 2000; 345: 297-306.
25. Yarom R, Zirkin H, Stammler G, Rose AG. Human coronary microvessels in diabetes and ischemia. Morphometric study of autopsy material. *J Pathol* 1992; 166: 265-270.
26. Jang JJ, Ho HK, Kwan HH, Fajardo LF, Cooke JP. Angiogenesis is impaired by hypercholester-olemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2000; 102: 1414-1419.
27. Fard A, Tuck CH, Donis JA, et al. Acute elevations of plasma asymmetric dimethylargi-nine and impaired endothelial function in response to a high-fat meal in patients with type 2 diabetes. *Arterioscler Throm Vase Biol* 2000; 20: 2039-2044.
28. Golubnitscheja G, Jaksche A, Moenkemann H, et al. Molecular imaging system for possible prediction of active retinopathy in patients with diabetes mellitus. *Amino Acids* 2005; 28: 229-237.
29. Amiri-Moghaddam S, Heshmat R, Larijani B. Iranian national diabetes research network project: background, mission, and outcomes. *Arch Iran Med* 2007; 10(1):83-7.
30. Medina A, Ghaffari A, Kilani RT, Ghahary A: The role of stratifin in fibroblast-keratinocyte interaction. *Mol Cell Biochem* 2007; 305(1-2): 255-64.