مجله دیابت و متابولیسم ایران. خرداد- تیر 1395؛ دوره 15 (شماره 5)299-292

مقاله پژوهشی

بررسی ارتباط دو واریانت rs10882283 و rs10882273 ژن rbp4 با زخم پای دیابتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو مراجعه کننده به کلینیک تخصصی و فوق تخصصی دیابت و بیماری‌های متابولیک تهران

مریم مرتضایی[1]، عباسعلی راز[2]، شعله منصوری[3]، زهره عنابستانی [4]، زهرا میرزایی زاده [5]، باقر لاریجانی [3]، مهرداد هاشمی[1]، کبری امیدفر [5*]

چکیده

مقدمه: مقاومت به انسولین و نارسایی پیشرونده سلول‌های بتا، فاکتورهای کلیدی در بیماری‌زایی دیابت نوع دو هستند. مطالعات متعددی نشان‌دهنده نقش RBP4 در بروز مقاومت به انسولین و ابتلا به دیابت بوده و لذا پلی‌مورفیسم‌هایی که بر روی بیان و یا عملکرد این ژن تأثیر بگذارند، در خطر ابتلا به T2DM و عوارض آن می‌توانند نقش داشته باشند. پای دیابتی از جمله عوارض اصلی دیابت شیرین است که علت اصلی ناتوانی و بستری شدن بیماران می‌باشد و علاوه بر کاهش شدید کیفیت زندگی فرد هزینه‌های فراوانی را به وی تحمیل می‌کند. هدف این مطالعه، بررسی ارتباط دو پلی مورفیسم rs10882283 وrs10882273 ژن rbp4 با پای دیابتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو است تا در صورت تایید همبستگی، از آن به عنوان مارکر زیستی پیش‌آگهی‌دهنده استفاده شود.

روش‌ها: این مطالعه از نوع مورد-شاهد است. دو پلی مورفیسم rs10882283 و rs10882273 ژن rbp4 در 100 بیمار دیابتی دارای زخم پا با درجه 1 یا 2 از طبقه‌بندی وگنر در گروه مورد و 133 بیمار دیابتی فاقد زخم در گروه شاهد، با استفاده ازتکنیک Tetra ARMS PCR تعیین ژنوتیپ گردید.

یافته‌ها: آزمون Chi-square بین دو گروه شاهد و مورد، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری را در فراوانی ژنوتیپ‌های (CC)، (CT) و (TT) rsl0882273 نشان نداد **(P=0/414)**. همچنین مقایسه ژنوتیپ‌های (CC)، (AC)و (AA) متعلق به پلی‌مورفیسم rsl0882283 در دو گروه نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری بین دو گروه نبود **(P=0/85)**.

نتیجه‌گیری: طبق این مطالعه، ارتباط معنی‌داری بین پلی‌مورفیسم‌های rs10882283 و rs10882273 ژنrbp4 و خطر ابتلای به زخم پای دیابتی در بین افراد مبتلا به دیابت نوع دو وجود ندارد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع دو، rbp4، پلی‌مورفیسم، پای دیابتی

1- گروه ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
2- گروه تحقیقات مالاریا و ناقلین، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران
3- مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
4- مرکز تحقیقات بیوسنسور، پژوهشکده علوم سلولی-مولکولی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
5- مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشکده علوم بالینی غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

*نشانی: خیابان کارگر شمالی، خیابان جلال آل احمد، بیمارستان شریعتی، طبقه پنجم، مرکز غدد درون‌ریز و متابولیسم، تلفن: 88220037، پست الکترونیک: omidfar@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: 1395/02/03 **تاریخ درخواست اصلاح: 1395/03/29** **تاریخ پذیرش: 1395/04/12**

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

مقدمه

دیابت شیرین یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غیرواگیر در جهان است که چهارمین یا پنجمین علت مرگ در اکثر کشورهای توسعه یافته جهان می‌باشد که این آمار مشابه رقمی است که برای ایدز گزارش شده است [1]. در بروز دیابت شبکه پیچیده‌ای از عوامل خطرزای محیطی و ژنتیکی نقش دارند و چنانچه بدون درمان رها شود، موجب ایجاد عوارض متعددی از جمله بیماری‌های قلبی عروقی، سکته مغزی، نارسایی کلیه، آسیب به چشم‌ها و زخم پا می‌شود [2، 3]. نقص محوری که آغاز افزایش قند خون[1]را در دیابت نوع دو نشان می‌دهد، شامل تولید گلوکز کبدی افزایش یافته، ترشح انسولین کاهش یافته و عملکرد مختل شده انسولین می‌باشد [3، 4]. پیش‌بینی می‌شود شیوع دیابت تا سال 2030 به بیش از نیم میلیارد نفر در جهان خواهد رسید (1نفر از هر 10 نفر) [1]. هزینه‌های سلامت در سال 2013 برای دیابت معادل 11% از کل هزینه بهداشت جهانی بوده است و در ایران بیشترین سهم هزینه سرانه دیابت با 64/5±412/8 دلار (48/9٪) مربوط به عوارض بیماری می‌باشد. زخم پای دیابتی یکی از عوارض اصلی و دیررس دیابت شیرین است که علت اصلی ناتوانی و بستری شدن بیماران محسوب شده و موجب کاهش شدید کیفیت زندگی فرد می‌گردد. خطر ابتلا به زخم پای دیابتی در بیماران مبتلا به دیابت در حدود 15٪ می‌باشد و 85٪ از تمام موارد قطع عضو تحتانی وابسته به دیابت، دارای زخم پا می‌باشند [5، 6]. اگرچه پیشرفت‌های گوناگونی در زمینه درمان زخم پا حاصل شده است اما بیشتر این درمان‌ها اثرات نسبی داشته و مکمل یکدیگر هستند، به‌علاوه برای بیماران هزینه بردار نیز می‌باشد. بنابراین مشخص نمودن افراد با خطر بالای ابتلا به زخم پای دیابتی حائز اهمیت است، زیرا به این وسیله می‌توان عوارض ابتلا به بیماری را تا حد زیادی کاهش داد. یافتن مارکری زیستی جهت شناسایی بیماران تحت خطر، کمک می‌کند تا با هشدار به افراد مستعد، تغییر در روش زندگی و فاکتورهای محیطی کمک کننده به ایجاد زخم و به‌طور کلی مدیریت نمودن بیماری، بروز علائم بیماری را به تاخیر انداخته و یا در صورت بروز شدت آن را کاهش داد.

[1] Hyperglycemia

بافت چربی[2] و به‌صورت اختصاصی چربی احشائی در ایجاد دیابت نوع دو نقش اساسی دارد و با ترشح FFA[3] و ادیپوکاین‌ها موجب بروز مقاومت به انسولین[4] و اختلال سلول‌های بتا[5] می‌شود [7]. ادیپوکاین‌ها فاکتورهای فعال بیولوژیکی هستند که بر سیستم ایمنی و متابولیسم اثرات موضعی و سیستمیک می‌گذارند. RBP4[6] پروتئینی از خانواده لیپوکالین‌ها می‌باشد و وظیفه انتقال رتینول را در گردش خون، از کبد به بافت‌های محیطی بر عهده دارد اما اخیراً نقش آن به عنوان ادیپوکاین نیز مورد توجه قرار گرفته است [8-11]. این ادیپوکاین، حساسیت به انسولین کبدی و محیطی را کاهش داده و گلوکونئوژنز کبدی را افزایش می‌دهد، از این‌رو می‌تواند موجب افزایش استعداد ابتلا به دیابت نوع دو گردد [12-15] . واریانت‌های ژنی که بیان و یا عملکرد rbp4 را تغییر می‌دهند نیز بر استعداد ابتلا به دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین موثر خواهند بود [16]. ارتباط دو پلی‌مورفیسم rs10882283 و rs10882273 و هاپلوتایپ‌های شامل این دو SNP[7] با چاقی، سطح سرمی RBP4، مقاومت به انسولین، دیابت نوع دو و نمایه توده بدنی (BMI)[8] در مطالعات متعددی مورد بررسی قرار گرفته است. از جمله افزایش معنی‌دار آن‌ها در نژاد قفقازی[9] مبتلا به دیابت نوع دو در مقایسه با کنترل‌های سالم مشاهده شده است و نیز با BMI افزایش یافته و نسبت دور کمر به دور باسن در این نژاد ارتباط دارند [17، 18]. مطالعات زیادی در زمینه نقش RBP4 در عوارض ماکروواسکولار و بعضی عوارض میکروواسکولار خصوصاً نفروپاتی و نوروپاتی دیابت نوع دو انجام شده است [19-21] ولی تاکنون نقش آن در ایجاد زخم پای دیابتی مورد بررسی قرار نگرفته است. هدف پروژه حاضر تعیین چند شکلی‌های ژن rbp4 و ارتباط آن با زخم پای دیابتی و محاسبه میزان خطر ابتلا در صورت تایید همبستگی می‌باشد. مطالعه ما بر روی rs10882283 وrs10882273 انجام گرفت. هر دو پلی‌مورفیسم در منطقه 5′UTR ژن rbp4 قراردارند. براساس

[2] Adipose tissue
[3] Free Fatty Acid
[4] Insulin Resistance
[5] Beta-Cell disfunction
[6] Retinol Binding Protein4
[7] Single Nucleotide Polymorphism
[8] Body Mass Index
[9] Caucasian

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

بررسی‌های ما تا کنون مطالعه‌ای بر روی ارتباط واریانت‌های ژنتیکی این ژن با زخم پای دیابتی صورت نگرفته است و این مطالعه برای اولین بار در کشور ما انجام شده است.

روش‌ها

این پژوهش به روش مورد-شاهد انجام شده است و با توجه به معیارهای ورود به مطالعه، تعداد 233 بیمار، شامل 100 نفر در گروه مورد و 133 نفر در گروه شاهد، تحت نظر پزشک از بیماران دیابتی مراجعه کننده به کلینیک تخصصی دیابت و بیماری‌های متابولیک تهران، جمع‌آوری گردید. گروه مورد، شامل بیماران دیابتی با زخم پای دیابتی درجه 1 یا 2 مطابق با طبقه‌بندی وگنر وگروه شاهد، بیماران دیابتی بدون زخم پا و یا سابقه ابتلا به زخم پای دیابتی بودند. معیارهای ورود به مطالعه عبارتند از ابتلا به دیابت نوع دو، سن بالای 40 سال، زخم پا با درجه 1 یا 2 براساس طبقه بندی وگنر و معیارهای خروج از مطالعه عبارتند از زخم پا با درجه 3 یا 4 از طبقه‌بندی وگنر، مصرف مکمل‌های ویتامینی (ویتامین B12 و اسید فولیک)، کراتین بالای 2mg/dl، سیروز کبدی، sever retinopathy، نارسایی قلبی کلاس 3 یا 4 (براساس NYHR) و وجود سایر بیماری‌هایی که منجر به نوروپاتی به غیر از دیابت می‌شود. برای تمامی افراد داوطلب جهت شرکت در طرح، فرم شرح حال اطلاعات عمومی و بالینی توسط پژوهشگر تکمیل گردیده و نمونه خون کامل افراد در لوله‌های حاوی EDTA جهت بررسی‌های ژنتیکی جمع‌آوری شد. در پژوهش حاضر، کلیه اصول اخلاقی توسط کمیته اخلاق پژوهشگاه علوم غدد ومتابولیسم مورد بررسی و تأیید قرار گرفت.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ نمونه‌ها:

ابتدا استخراج لنفوسیت براساس روش Harris و همکاران [22] و پس از آن، استخراج DNA به روش salting out، انجام گرفت. غلظت نمونه‌ها به کمک نانودراپ تعیین گردید. آنالیز مولکولی پلی‌مورفیسم rs10882283 و rs10882273، برای اولین بار با Tetra ARMS PCR که تکنیکی دقیق، سریع و اقتصادی جهت شناسایی پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی است، انجام شد. در این تکنیک به‌منظور شناسایی هر پلی‌مورفیسم به چهار پرایمر نیاز می‌باشد که عبارتند از یک جفت پرایمرخارجی[1] Universal و یک جفت پرایمرداخلی[2] اختصاصی آلل[3] که در انتهای '3 دارای عدم تطابق[4] می‌باشد [23، 24]. بنابراین در این تکنیک برای فرد هموزیگوت 2 باند و برای فرد هتروزیگوت 3 باند در ژل آگارز مشاهده خواهد شد. با توجه به طراحی هوشمندانه انجام شده، برای تعیین ژنوتیپ هر نمونه تنها به یک واکنش PCR نیاز می‌باشد (برخلاف تکنیک ARMS PCR که به دو واکنش PCR نیاز دارد) که این ویژگی، موجب افزایش سرعت تشخیص و صرفه جویی در مصرف مواد مورد نیاز برای انجام واکنش PCR می‌گردد.

پرایمرهای به‌کار رفته برای موقعیت rs10882273:

5'-AGGTGACACTATAGAATAACTATGCACTGCCTTTAATGCTGATAT-3': Inner forward normal

5'-GTACGACTCACTATAGCGACAGCCGGGTACCCCTCG-3': Inner Reverse mutant

5'-AGGTGACACTATAGAATACTGTGTGAATGGGGGAAG-3': Outer forward

5'-GTACGACTCACTATAGCGAACTCCTAGGCCCTATGTG-3': Outer reverse

پرایمرهای بکار رفته برای موقعیت rs10882283:

5'-GCGCCCACACCCACTTCATCTTGCCCAG-3': Outer Wild

Outer Mutant :5'-CCGGCGCCTCCCCTTCGGTCTTTCAC-3'

Inner Wild :5'-GCCTCCCTCACTCCACGCGCGCCCGGACT-3'

Inner Mutant: 3′ -5'-GGAACCGCACGCAAGCCTGGCCGCCGC

(نوکلئوتیدهای bold و ایتالیک عدم تطابق های اصلی و نوکلئوتیدهای دارای زیر خط، عدم تطابق‌های اضافه می‌باشند) تعیین ژنوتیپ در موقعیت rs10882273 با برنامه PCR در حجم 20 ماکرولیتر و دارای سه مرحله، به‌شرح زیر انجام شد: ابتدا DNA ژنومیک به‌مدت 5 دقیقه در دمای 94 درجه

[1] Outer primer
[2] Inner primer
[3] allele specific
[4] Miss match

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

سانتی‌گراد واسرشت[1] گردید و سپس 8 سیکل PCR انجام شد که هر سیکل شامل 30 ثانیه حرارت 94 درجه سانتی‌گراد برای دناتوراسیون، 30 ثانیه حرارت 62 درجه سانتی‌گراد برای عمل ملحق شدن[2] و 30 ثانیه حرارت 72 درجه سانتی‌گراد برای تکثیر[3] DNA بود. پس از آن 8 سیکل دیگر انجام شد که هر سیکل شامل 30 ثانیه حرارت 94 درجه سانتی‌گراد برای دناتوراسیون، 30 ثانیه حرارت 52 درجه سانتی‌گراد برای عمل ملحق شدن و 30 ثانیه حرارت 72 درجه سانتی‌گراد برای تکثیر بود. 20 سیکل بعدی هر یک شامل 30 ثانیه حرارت °94C برای دناتوراسیون، 30 ثانیه حرارت 64 درجه سانتی‌گراد برای عمل ملحق شدن و 30 ثانیه حرارت 72 درجه سانتی‌گراد برای تکثیر بود و در نهایت 10 دقیقه برای تکثیر نهایی در 72 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برنامه PCR برای تعیین ژنوتایپ در موقعیت rs10882283 در حجم 30 ماکرولیتر بدین ترتیب انجام گرفت: ابتدا DNA ژنومیک به مدت 5 دقیقه در دمای 94 درجه سانتی‌گراد دناتوره و سپس 22 سیکل PCR انجام شد که هر سیکل شامل 30 ثانیه حرارت 94 درجه سانتی‌گراد برای دناتوراسیون، 20 ثانیه حرارت 77 درجه سانتی‌گراد برای عمل ملحق شدن و 12 ثانیه حرارت 72 درجه سانتی‌گراد برای تکثیر DNA بود. 25 سیکل بعدی هر یک شامل 30 ثانیه حرارت 94 درجه سانتی‌گراد برای دناتوراسیون، 20 ثانیه حرارت °C 73 برای عمل ملحق شدن و 17ثانیه حرارت 72 درجه سانتی‌گراد برای تکثیر بود و در نهایت 10 دقیقه برای تکثیر نهایی در 72 درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. نکته قابل توجه در بهینه سازی آزمایش برای rs10882283، استفاده از دمای اتصال بالا، کاهش زمان اتصال و تکثیر و استفاده از DMSO است که تمامی استراتژی‌های مذکور جهت تکثیر موفقیت آمیز ژن‌ها در نواحی غنی از G و C (نظیر موقعیت rs10882283) می‌باشد. طول قطعات تکثیرشده برای پلی‌مورفیسم rs10882273 براساس پرایمرهای طراحی شده به‌شرح زیر می‌باشد:

قطعه کنترل:250bp- قطعه نرمال:100bp- قطعه جهش یافته: 150 bp

طول قطعات تکثیر شده برای پلی‌مورفیسم rs10882283 براساس پرایمرهای طراحی شده به شرح زیر می‌باشد:

قطعه کنترل: 322bp- قطعه نرمال: 217bp- قطعه جهش یافته: 144bp

محصول PCR روی ژل آگارز 2% مشاهده شد. نمونه‌های هتروزیگوت 3 باند (طبیعی، جهش‌یافته وکنترل) و نمونه‌های هموزیگوت 2باند (طبیعی یا جهش‌یافته بهمراه باند کنترل) را نشان دادند (شکل1و2). در پایان، به‌منظور تایید صحت نتایج، برای تعدادی از نمونه‌ها تعیین توالی[4] به‌صورت دو طرفه انجام گرفت.

روش‌های آماری: آنالیز آماری داده‌ها توسط نرم افزار SPSS ویرایش 16 انجام گرفت. با استفاده از آزمون آماری Explor مشخص گردید که داده‌ها از توزیع نرمال پیروی نمی‌کنند (P≤0/05)، لذا از تست آماری نان پارامتریکِ Chi-Square برای مقایسه دو متغیر کیفی استفاده گردید.

یافته‌ها

نتایج حاصل از مطالعه و فراوانی هر ژنوتیپ در جدول شماره 1 بیان شده است. آنالیزهای آماری در دو گروه مورد و شاهد نشان دادند که تفاوت فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف موقعیت rs10882273 (CC، CT،TT) به لحاظ آماری معنی‌دار نیستند **(P=0/414)**. این موتاسیون در قالب مقایسه فراوانی افراد دارای آلل موتانت (CT،CC) بین دو گروه دارای زخم (92%) و فاقد زخم (91/7٪) نیز مورد بررسی قرار گرفت که نتایج به همان شکل فاقد اعتبار آماری بودند.

به‌علاوه هر دو گروه با استفاده از آزمون Chi-square از نظر فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف rsl0882283 (CC، AC، AA) نیز مقایسه شدند و نتایج نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در فراوانی ژنوتیپ‌ها در گروه مورد نسبت به شاهد نبود **(P=0/85)**. فراوانی افراد دارای آلل موتانت (CC، AC) در موقعیت rsl0882283 بین گروه دارای زخم (74/5٪) و فاقد زخم (77/7٪) نیز نسبت به یکدیگر مورد بررسی قرار گرفت که با محاسبه P=0/34 مشخص شد در این زمینه نیز اختلاف معنی‌داری وجود ندارد.

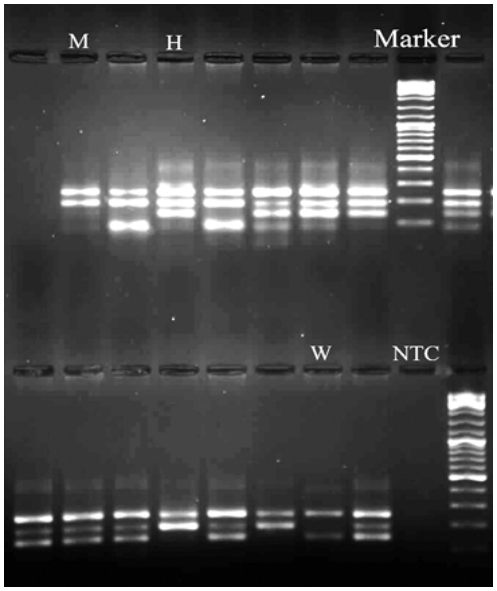
[1] Denaturation
[2] Annealing
[3] Extension
[4] Direct sequencing

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

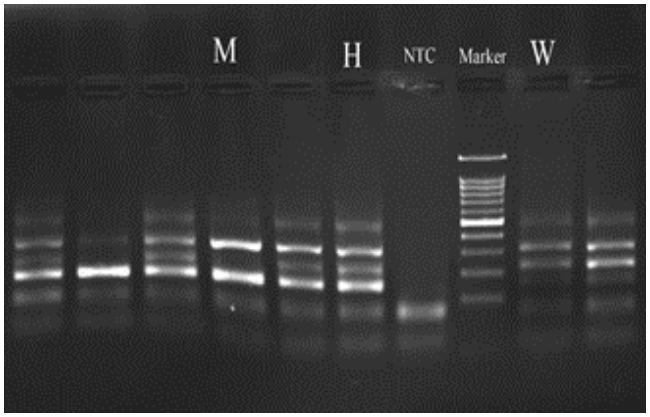
جدول 1- توزیع شیوع ژنوتیپ‌هایrs10882273 و rs10882283 ژن rbp4 در دو گروه مورد و شاهد

		rs10882283			rs10882273		
		هتروزیگوت AC	جهش‌یافته CC	طبیعی AA	هتروزیگوت TC	جهش‌یافته CC	طبیعی TT
مورد	تعداد	41	29	24	66	26	8
	درصد فراوانی	%43/6	%30/9	%25/5	%66	%26	%8
شاهد	تعداد	60	41	29	77	45	11
	درصد فراوانی	%46/2	%31/5	%22/3	%57/9	%33/8	%8/3

$p \leq 0/05$: معنی‌دار



شکل 1- نتایج تعیین ژنوتایپ موقعیت rs10882273 در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 توسط تکنیک تترا آرمز PCR برروی ژل آگارز 2%
M: آلل جهش یافته (CC)،W: آلل طبیعی (TT)،H: هتروزیگوت (آلل TC). NTC: کنترل منفی



شکل 2- نتایج تعیین ژنوتایپ موقعیت rs10882283 در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 توسط تکنیک تترا آرمز PCR برروی ژل آگارز 2%
M : آلل جهش یافته (CC)،W: آلل طبیعی (AA)،H: هتروزیگوت (آلل AC)،NTC: کنترل منفی

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

بحث

RBP4، پروتئینی است که وظیفه‌ی انتقال رتینول در گردش خون، از کبد به بافت‌های محیطی را بر عهده دارد اما اخیرا نقش آن به عنوان ادیپوکاین نیزمورد توجه قرار گرفته است [25-28]. ادیپوکاین‌ها فاکتورهای فعال بیولوژیکی هستند که از بافت چربی به عنوان ارگانی درون‌ریز، ترشح شده و بر سیستم ایمنی و متابولیسم اثرات موضعی و سیستمیک می‌گذارند. RBP4 فاکتوری مشتق از بافت چربی است که، حساسیت به انسولین کبدی و محیطی را کاهش داده و گلوکونئوژنز کبدی را نیز افزایش می‌دهد. ازاین‌رو می‌تواند موجب افزایش استعداد ابتلا به دیابت نوع2 گردد. سطح سرمی RBP4 در بیماران با مقاومت به انسولین، دیابت نوع 2 IGT[1] و دیابت بارداری افزایش می‌یابد [12-15، 29]. مطالعات گذشته نشان دادند که RBP4 بیان آنزیم کبدی PEPCK[2] را تحریک کرده وپیام‌رسانی انسولین را دچار اختلال می‌کند [30، 31]. بنابراین RBP4 به عنوان یک فاکتور التهابی، نقش واسطه‌ای بین بافت چربی و بافتهای هدف انسولین دارد. لازم به ذکر است که نقش RBP4 در افزایش خطر ابتلا به دیابت، مقاومت به انسولین، چاقی و تغییر در ترشح انسولین در تعدادی از مطالعات بالینی مورد تایید قرار نگرفته است [12، 31] که می‌تواند تحت تاثیر فاکتورهای مداخله‌گر و تفاوت در پیش زمینه‌ی ژنتیکی جمعیت‌ها باشد. اما تمامی مطالعاتی که بر روی موش‌ها انجام شده است، عملکرد این ادیپوکاین را در این زمینه تایید می‌کند [32]. تحقیقات نشان می‌دهند که نقش واریانت‌های ژنتیکی ژن rbp4در استعداد ابتلا به بیماری دیابت نوع دو و مقاومت به انسولین، احتمالا از طریق تأثیر آن‌ها بر روی میزان بیان ژن rbp4 می‌باشد [17]. مطالعات بسیار کمی در مورد تاثیر گوناگونی ژنتیکی rbp4 بر افزایش خطر متابولیک در انسان‌ها گزارش شده است. مطالعات پلی‌مورفیسم rbp4 در نژاد قفقازی نشان داده‌اند که rs1088283، rs1088273 و یا هاپلوتایپ‌های آن‌ها با افزایش انسولین پلاسمای ناشتا، نمایه توده بدنی، نسبت دور کمر به دور باسن و نیز با T2DM ارتباط دارد [17، 18]. این دو پلی‌مورفیسم در منطقه 5'UTR ژن rbp4 قراردارند. ما در این پژوهش برای اولین بار به بررسی ارتباط rs1088283 و rs1088273 که در منطقه تنظیمی ژن واقع شده‌اند، با خطر ابتلای به زخم پای دیابتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو پرداختیم. نتایج نشان دادند که ارتباط معناداری بین دو پلی‌مورفیسم مورد مطالعه و افزایش خطر ابتلا به زخم پای دیابتی در بیماران مبتلا به دیابت نوع دو وجود ندارد ($P \geq 0/05$). البته بالا بودن فراوانی آلل جهش‌یافته مربوط به هر دو پلی‌مورفیسم مورد بررسی، می‌تواند نشان دهنده ارتباط آن‌ها با بیماری دیابت در جمعیت ایران باشد.

پیشنهاد می‌شود، در مطالعات آینده فراوانی اللی rs1088283 و rs1088273 در افراد غیردیابتی (سالم) کشورمان بررسی شده و با داده‌های حاصل از این مطالعه مقایسه گردد تا ارتباط آن‌ها با ابتلا به دیابت در جمعیت ایران نیز مشخص شود. به‌علاوه ارتباط این دو پلی‌مورفیسم با سکته قلبی، سکته مغزی، نوروپاتی، ABI[3] و BMI به‌عنوان سایر فاکتورهای موثر در خطر ابتلا به زخم پای دیابتی، مشخص گردد.

سپاسگزاری

اجرای این مطالعه با حمایت مالی پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفت. از تمام همکارانی که در این مرکز و کلینیک تخصصی دیابت و بیماری‌های متابولیک تهران نهایت همکاری را مبذول داشتند و نیز از جناب آقای دکتر حمزه علیپور که آنالیزهای آماری طرح را انجام دادند قدردان و سپاسگزاریم.

[1] Impaired Glucose Tolerance
[2] Phosphoenolpyruvate carboxykinase
[3] Ankle Biracial Index

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

مآخذ

1. IDF Diabetes Atlas I Sixth edition.
2. "Diabetes Fact sheet N°312". WHO.
3. DeFronzo RA, Bonadonna RC, Ferrannini E. Pathogenesis of NIDDM: a balanced overview. *Diabetes care* 1992;15(3):318-68.
4. Stumvoll M, Goldstein BJ, van Haeften TW. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. *The Lancet* 2005; 365(9467):1333-46.
5. Frykberg RG. Diabetic foot ulcers: pathogenesis and management. *American family physician*. 2002; 66(9):1655-62.
6. Brem H, Tomic-Canic M. Cellular and molecular basis of wound healing in diabetes. *Journal of Clinical Investigation* 2007; 117(5):1219.
7. Ferrannini E, Gastaldelli A, Miyazaki Y, Matsuda M, Mari A, DeFronzo RA. β-Cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2005; 90(1):493-500.
8. Flower D. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J* 1996; 318:1-14.
9. Colantuoni V, Romano V, Bensi G, Santoro C, Costanzo F, Raugei G, et al. Cloning and sequencing of a full length cDNA coding for human retinol-binding protein. *Nucleic acids research* 1983; 11(22):7769-76.
10. Jaconi S, Rose K, Hughes GJ, Saurat J-H, Siegenthaler G. Characterization of two post-translationally processed forms of human serum retinol-binding protein: altered ratios in chronic renal failure. *Journal of lipid research* 1995; 36(6):1247-53.
11. Newcomer ME, Ong DE. Plasma retinol binding protein: structure and function of the prototypic lipocalin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology* 2000;1482(1):57-64.
12. Yang Q, Graham TE, Mody N, Preitner F, Peroni OD, Zabolotny JM, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005;436(7049):356-62.
13. Graham TE, Yang Q, Blüher M, Hammarstedt A, Ciaraldi TP, Henry RR, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *New England Journal of Medicine* 2006;354(24):2552-63.
14. Cho YM, Youn B-S, Lee H, Lee N, Min S-S, Kwak SH, et al. Plasma retinol-binding protein-4 concentrations are elevated in human subjects with impaired glucose tolerance and type 2 diabetes. *Diabetes care* 2006;29(11):2457-61.
15. Klöting N, Fasshauer M, Dietrich A, Kovacs P, Schön MR, Kern M, et al. Insulin-sensitive obesity. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism* 2010;299(3) :E506-E15.
16. Collins A, Ke X. Primer1: primer design web service for tetra-primer ARMS-PCR . *The Open Bioinformatics Journal* 2012;6:55-8.
17. Kovacs P, Geyer M, Berndt J, Klöting N, Graham TE, Böttcher Y, et al. Effects of Genetic Variation in the Human Retinol Binding Protein-4 Gene (RBP4) on Insulin Resistance and Fat Depot–Specific mRNA Expression. *Diabetes* 2007; 56(12):3095-100.
18. Craig RL, Chu WS, Elbein SC. Retinol binding protein 4 as a candidate gene for type 2 diabetes and prediabetic intermediate traits. *Molecular genetics and metabolism* 2007; 90(3):338-44.
19. Murata M, Saito T, Otani T, Sasaki M, Ikoma A, Toyoshima H, et al. An increase in serum retinol-binding protein 4 in the type 2 diabetic subjects with nephropathy. *Endocrine journal* 2009; 56(2):287-94.
20. Von Eynatten M, Lepper P, Liu D, Lang K, Baumann M, Nawroth P, et al. Retinol-binding protein 4 is associated with components of the metabolic syndrome, but not with insulin resistance, in men with type 2 diabetes or coronary artery disease. *Diabetologia* 2007; 50(9):1930-7.
21. Raila J, Henze A, Spranger J, Möhlig M, Pfeiffer A, Schweigert F. Microalbuminuria is a major determinant of elevated plasma retinol-binding protein 4 in type 2 diabetic patients. *Kidney international* 2007; 72(4):505-11.
22. Harris R, Ukaejiofo E. Tissue Typing Using a Routine One-Step Lymphocyte Separation Procedure. *British journal of haematology* 1970; 18(2):229-36.
23. Ye S, Dhillon S, Ke X, Collins AR, Day IN. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. *Nucleic acids research* 2001; 29(17):e88-e.
24. Collins A, Ke X. Primer1: primer design web service for tetra-primer ARMS-PCR . *The Open Bioinformatics Journal* 2012;6:55-8.
25. Elbein SC, Hasstedt SJ, Wegner K, Kahn SE. Heritability of Pancreatic β-Cell Function among Nondiabetic Members of Caucasian Familial Type 2 Diabetic Kindreds 1. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 1999;84(4):1398-403.
26. Gerich JE. The genetic basis of type 2 diabetes mellitus: impaired insulin secretion versus impaired insulin sensitivity. *Endocrine reviews* 1998; 19(4):491-503.
27. Barnett A, Eff C, Leslie RD, Pyke D. Diabetes in identical twins. *Diabetologia* 1981;20(2):87-93.
28. Das SK, Elbein SC. The genetic basis of type 2 diabetes. *Cellscience* 2006; 2(4):100.
29. Maghbooli Z, Hossein-nezhad A, Mirzaei K, Karimi F, Besharati A, Omidfar K, et al.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

Association between retinol-binding protein 4 concentrations and gestational diabetes mellitus and risk of developing metabolic syndrome after pregnancy. *Reproductive Sciences* 2009.
30. Hotamisligil GS, Peraldi P, Budavari A, Ellis R, White MF, Spiegelman BM. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF-α-and obesity-induced insulin resistance. *Science* 1996; 271(5249) :665-70.
31. Promintzer M, Krebs M, Todoric J, Luger A, Bischof MG, Nowotny P, et al. Insulin resistance is unrelated to circulating retinol binding protein and protein C inhibitor. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2007; 92(11):4306-12.
32. Mansouri M, Nikooie R, Keshtkar A, Larijani B, Omidfar K. Effect of endurance training on retinol-binding protein 4 gene expression and its protein level in adipose tissue and the liver in diabetic rats induced by a high-fat diet and streptozotocin. *Journal of diabetes investigation* 2014; 5(5):484-91.

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]

ASSESSMENT OF THE RELATIONSHIP BETWEEN TWO SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS OF RBP4 GENES WITH DIABETIC FOOT ULCER IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS REFERRED TO THE CLINIC OF DIABETES & METABOLIC DISEASES

Maryam Mortezaei[1], Abbasali Raz[2], Shole Mansouri[3], Zohreh Annabestani[4], Zahra Mirzaeezadehe[5], Bagher Larijani[3], Mehrdad Hashemi[1], Kobra Omidfar[*5]

1. *Islamic Azad University, Tehran Medical Branch, Iran*
2. *Malaria and Vector Research Group (MVRG), Biotechnology Research Center (BRC), Pasteur Institute of Iran, Tehran, Iran*
3. *Endocrinology and Metabolism Research Center, Endocrinology and Metabolism Research Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
4. *Diabetes Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*
5. *Biosensor Research Center, Endocrinology and Metabolism Molecular–Cellular Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

ABSTRACT

Background: Insulin resistance and progressive β-cells failure are the key factors in type 2 diabetes mellitus (T2DM) pathogenesis. Many studies support a primary role of RBP4 in insulin resistance and suggest that genetic variations which alter the expression level of RBP4 might influence the risk of T2DM and its complications. Diabetic foot is one of the main complications of diabetes leading to disability and hospitalization. In addition, it reduces quality of life and imposes great cost to patients. The purpose of this study was to evaluate the correlation between two single nucleotide polymorphisms (rs10882273 and rs10882283) of RBP4 genes with diabetic foot ulcer in order to identify a biomarker for prediction of diabetic foot ulcer.

Methods: This is a case-control study. Two single nucleotide polymorphisms of RBP4 genes were genotyped by hit Tetra ARMS PCR technique. In this study, 100 and 133 diabetic patients with and without foot ulcer were selected as the cases and controls, respectively.

Results: The Chi-square test revealed no significant difference in frequency of TT, CC and TC alleles of rsl0882273 between case and control groups (P=0.414). Also, Comparison of AA, CC and AC alleles of rsl0882283 in both groups did not show significant difference (P=0.85).

Conclusion: According to this study, there is no relationship between two single nucleotide polymorphisms of RBP4 genes (rs10882273 and rs10882283) with diabetic foot ulcer in type2 diabetes patients.

Keyword: Type 2 diabetes, Rbp4, Polymorphism, Diabetic foot ulcer

[*] Shariati Hospital (5th floor), North Kargar Avenue, Endocrinology and Metabolism Research Institute, Tehran, Iran, 1411413137, Phone: +98-21-88220037, email:omidfar@tums.ac.ir

[Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2026-06-15]