





دانشگاه علوم پزشکی و
خدمات بهداشتی درمانی استان اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی، درمانی استان اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتری تخصصی رشته ی زنان

عنوان

بررسی ارتباط میان سطح سرمی MicroRNA-27a

با دیابت حاملگی و ماکروزومی نوزاد

استاد راهنما

دکتر فریبا کهنمویی اقدام

دکتر سعید حسینی اصل

استاد مشاور:

دکتر منوچهر ایران پرور علمداری

دکتر افشان شرقی

نگارش:

دکتر فرناز نسل سراجی

اردیبهشت 1397

شماره پایان نامه:

098

سپاسگزاری

با تشکر از اساتید بزرگوارم که شایسته هر نوع سپاس ، تجلیل و تکریم هستند و صبورانه با ارائه رهنمودها ، انتقادهای و پیشنهاداتشان در تمامی مراحل اجرای پایان نامه مرا حمایت و تشویق نمودند.

تقدیم به :

پدر عزیزم

به او که سالار لحظه های زندگی من بود
مرد سخاوت و مهربانی، مظهر استواری و اراده

تقدیم به فرشته ی مهربانم، مادرم

اقیانوس بی کران محبت ، سرچشمه ی پاکی و صفا ، شمع
فروزان زندگیم، که گرمی مهرش، امیدبخش زندگیم، نگاه
زلالش، روشنی بخش لحظه هایم و پاکی وجودش، نشان
یزدان پاک در حیاتم است. سپاس تو را که زندگیم ، وجودم
، آرامشم و هستی ام را به من بخشیدی، ای بهترین
مادر.....

تقدیم به همسر عزیزم

به پاس قدر دانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که
محیطی سرشار از سلامت و امنیت و آرامش و آسایش برای
من فراهم آورده است، همدلی که با واژه ی نجیب و مغرور
تلاش ، آشنایی دارد، سایه مهربانیش سایه سار زندگیم می
باشد، او که اسوه صبر و تحمل بوده و مشکلات مسیر را

برایم تسهیل نمود ، بدون وجود او طی این مسیر روپایی
پیش نبود.

تقدیم به :

پسر عزیزم

که وجودش شادی بخش و صفایش مایه‌ی آرامش من
است.

تقدیم به بیمارانی که طب را بر بالین آنان آموختم درد آشنایان
چشم به راه ، باشد که مرحمی برای آلامشان باشم.....

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: طرح تحقیق	
1-1-1-1 مقدمه.....	2
2-1-1 بیان مسئله.....	3
3-1-1 تعریف واژه‌های کلیدی.....	7
4-1-1 اهداف.....	7
5-1-1 فرضیات و سوالات تحقیق.....	8
فصل دوم: پیشینه تحقیق	
1-2-1 مبانی نظری.....	11
1-1-2-1 دیابت و حاملگی.....	11
2-1-2-1 اپیدمیولوژی.....	13
3-1-2-1 پاتوفیزیولوژی دیابت بارداری.....	15
4-1-2-1 غربالگری و تشخیص دیابت حاملگی.....	16
5-1-2-1 عوامل خطر دیابت بارداری.....	20
6-1-2-1 تشخیص دیابت بارداری.....	22
7-1-2-1 عوارض دیابت بارداری.....	25
8-1-2-1 کنترل دیابت بارداری در طی دوران بارداری.....	28
2-2-1-1 MicroRNA.....	31
1-2-2-1 بیورنز microRNA و نحوه مهار ترجمه.....	32
2-2-2-1 عملکرد بیولوژیکی miRNA ها.....	36
3-2-2-1 تنظیم microRNA ها در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف.....	37
1-3-2-2-1 MicroRNA و تکامل سلولی.....	37
2-3-2-2-1 microRNA و تمایز سلول های بنیادی.....	38
3-3-2-2-1 MicroRNA و سیستم ایمنی.....	38
4-3-2-2-1 MicroRNA و نقش آنها در دیگر فرآیندهای پاتولوژیکی.....	40

41	4-2-2- شناسایی مولکول های هدف microRNA
42	5-2-2 MicroRNA و زایمان زودرس
43	6-2-2 MicroRNA های طبیعی جفت
47	7-2-2 نقش microRNA ها در زایمان
49	8-2-2 تاثیر microRNA برژن ZEB1 و ZEB2
50	3-2- مطالعات مشابه

فصل سوم: شیوه اجرای تحقیق

53	1-3 نوع مطالعه
53	2-3 زمان انجام مطالعه
53	3-3 محیط پژوهش
53	4-3 جمعیت مورد مطالعه و حجم نمونه
53	5-3 روش گردآوری اطلاعات
54	6-3 وسایل لازم
54	6-3-1. وسایل لازم جهت نمونه گیری
55	6-3-2. وسایل لازم جهت جداسازی پلاسما
55	6-3-3 مواد لازم جهت استخراج microRNA
55	6-3-4 مواد لازم جهت سنتز Cdna
56	6-3-5 مواد لازم جهت Real time
56	6-3-6 تجهیزات مورد نیاز
57	7-3 طراحی پرایمر و استم لپ و blast
59	8-3 روش کار
59	8-3-1 جداسازی پلاسما از خون
59	8-3-2 استخراج microRNA
60	8-3-3 بررسی کمی و کیفی RNA های استخراج شده به روش اسپکتروفتومتری
61	8-3-4 سنتز cDNA
61	8-3-4-1 سنتز cDNA کنترل

63microRNA ساخت cDNA برای	2-4-8-3
64Real Time PCR	5-8-3
65واکنش	1-5-8-3
66آگارز	6-8-3
67آماره	9-3
67ورود	10-3
68خروج	11-3
68اخلاقی	12-3
68مطالعه	13-3
69مطالعه	14-3
	فصل چهارم: نتایج	
71MicroRNA-27a سطح سرمی	1-4
72بیماران	2-4
73مورد مطالعه	3-4
73نوزادان	4-4
74مادران	5-4
75مادران	6-4
77BMI	7-4
78بارداری	8-4
79نوزادان	9-4
80ماکروزومی	10-4
	فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری	
83بحث	1-5
86نتیجه گیری	2-5
87پژوهش	3-5
88پیشنهادات	4-5
89منابع:	

فهرست جداول

عنوان	صفحه
جدول 1-2 : تشخیص دیابت بارداری با مصرف 100 گرم گلوکز خوراکی.....	24
جدول 2-2 : تشخیص دیابت بارداری با مصرف 75 گرم گلوکز خوراکی (53).....	25
جدول 3-2: لیست microRNA هادر تکوین جنین.....	46
جدول 1-3: توالی universal برای stem loop و پرایمر reverse.....	58
جدول 2-3: ساخت cDNA کنترل.....	61
جدول 3-3: برنامه دمایی ساخت cDNA کنترل.....	62
جدول 4-3: master mix لازم جهت pcr برای cDNA کنترل.....	62
جدول 5-3: سیکل دمایی برای pcr cDNA کنترل.....	63
جدول 6-3: ساخت cDNA.....	63
جدول 7-3: ساخت Mastermix برای cDNA.....	64
جدول 8-3: مواد مورد نیاز جهت Real time.....	65
جدول 9-3: سیکل دمایی واکنش Real Time.....	65
جدول 1-4: سطح سرمی MicroRNA-27a در گروه های مورد مطالعه.....	71
جدول 2-4 : میانگین سنی افراد مورد مطالعه.....	72
جدول 3-4: ترکیب سن بارداری افراد مورد مطالعه (هفته).....	73
جدول 4-4: ترکیب نوبت بارداری افراد مورد مطالعه.....	78
جدول 5-4: ترکیب سطح سرمی MicroRNA-27a بر حسب جنسیت نوزادان در بیماران.....	80

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
74	نمودار 1-4: ترکیب وزنی نوزادان مادران مورد مطالعه بر مبنای گرم.....
75	نمودار 2-4: ترکیب وزنی مادران مورد مطالعه بر مبنای کیلوگرم.....
76	نمودار 3-4: ترکیب قد مادران مورد مطالعه
77	نمودار 4-4: ترکیب BMI مادران مورد مطالعه
79	نمودار 5-4: ترکیب جنسیتی کودکان در گروه های مورد مطالعه
81	نمودار 6-4: ترکیب وجود ماکروزومی در گروه های مورد مطالعه

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
شکل 2-1: مدل بیوژنز microRNA ونحوه عملکرد آن (71).....	35
شکل 2-2: مکانیسم های تنظیم بیان ژن miRNA ها. مهار ترجمه mRNA	37
شکل 2-3 : توده های microRNA در کروموزوم شماره 14 (A). توده های microRNA در کروموزوم شماره 19 (B).....	45
شکل 3-1: نحوه اتصال stem loop به microRNA.....	58

بررسی ارتباط میان سطح سرمی **MicroRNA-27a** با دیابت حاملگی و ماکروزومی نوزاد

چکیده

سابقه و هدف: درد دیابت حاملگی یکی از مهمترین مسائل بهداشت عمومی است. یکی از اشکال اصلی دیابت، دیابت بارداری می باشد که به عنوان عدم تحمل گلوکز در دوران بارداری که برای اولین بار ایجاد می گردد تعریف می شود. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان سرمی **MicroRNA-27a** و ارتباط آن با دیابت بارداری و ماکروزومی بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی از 20 مادر مبتلا به دیابت بارداری که به بیمارستان علوی اردبیل مراجعه نمودند و تشخیص دیابت بتارداری برای آنها قطعی گردید، بعد از اخذ رضایت نامه و تکمیل پرسش نامه طراحی شده نمونه خون اخذ و استخراج و آنالیز **MicroRNA-27a** انجام گردید. جهت کنترل نیز به تعداد مادران گروه شاهد از مادران غیر مبتلا به دیابت بارداری انتخاب شده و آزمایشات لازم برای گروه شاهد در نمونه های خونی آنها نیز انجام شد. ارتباط **MicroRNA-27a** با دیابت بارداری در دو گروه شاهد و کنترل بررسی گردید و در ادامه پس از تولد نوزاد ارتباط **MicroRNA-27a** با ماکروزومی نوزاد نیز مورد بررسی قرار گرفت. بعد از پایان کار این اطلاعات در نرم افزار آنالیز آماری تجزیه و تحلیل شد.

نتایج: در این مطالعه میانگین بدست آمده برای سطح سرمی **MicroRNA-27a** در گروه مورد $1/158 \pm 0/25$ و در گروه شاهد $0/49 \pm 0/11$ بود. نتایج نشان داد که بین دوگروه مورد مطالعه اختلاف آماری معنی داری از لحاظ سطح سرمی **MicroRNA-27a** وجود دارد. میانگین کلی سن بارداری بیماران در این مطالعه $38/95 \pm 0/36$ هفته و میانگین کلی وزن نوزادان افراد مورد مطالعه $3681/25 \pm 466/12$ گرم و میانگین BMI افراد شرکت کننده در مطالعه $25/61 \pm 3/78$ بود. اختلاف آماری معنی داری در سطح سرمی **MicroRNA-27a** بین جنسیت نوزادان در گروه بیماران وجود نداشت. در این مطالعه (20٪) 8 نوزادان ماکروزوم بودند (در هر گروه 4 نفر). بین دوگروه از لحاظ وجود ماکروزومی اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت.

نتیجه گیری:

نتایج بدست آمده از این مطالعه بیانگر نقش مشخص **microRNA-27a** در دیابت بارداری می باشد.

کلمات کلیدی: **microRNA-27a** - دیابت بارداری - ماکروزومی