

ارتباط پلی مورفیسم ژن آدنوزین دامیناز با چاقی در جمعیت ایرانی

عذرا طباطبایی ملاذی^۱، پروین امیری^۱، مهسا نمک چیان^۱، رویا سعید نژاد^۱، حسین فخر زاده^۱، رامین حشمت^۱، ناهید مهربان^۱، آرین آریانی کاشانی^۱، پریچهر یغمایی^۱، جواد توکلی بزاز^۱، باقر لاریجانی^۱، مهسا محمد آملی^{۱*}

چکیده

مقدمه: آدنوزین دامیناز (ADA)، یک پلی مورفیسم آنزیمی است که نقش مهمی در تعدیل فعالیت بیولوژیک انسولین دارد. به نظر می‌رسد که فعالیت بیش از حد گیرنده A1 آدنوزین سبب بروز آدیپوزیتی در دیابت نوع ۲ شده و آدنوزین در تسهیل عملکرد انسولین بر روی آدیپوسیت‌ها موثر باشد. احتمالاً پلی مورفیسم ژن ADA، با شدت و میزان چاقی در دیابت نوع ۲ مرتبط است.

روش‌ها: در این مطالعه سعی شده تا نقش پلی مورفیسم آدنوزین دامیناز در افراد چاق ایرانی که به‌طور تصادفی انتخاب شده‌اند، بررسی شود.

یافته‌ها: افزایش معنی داری در فراوانی ژنوتیپ AA آدنوزین دامیناز در افراد چاق در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد (AA در مقایسه با CA+CC، $P = 0/01$ ، OR: ۳/۴، $CI \%$: ۱/۰۸ - ۱۲/۸). همچنین افزایش قابل ملاحظه‌ای در آلل A و فراوانی ژنوتیپ AA ژن ADA در افراد با سطح بالای پلاسمایی کلسترول در مقایسه با گروه کنترل سالم ($P = 0/0007$ ، OR: ۸/۴، $CI \%$: ۱/۶ - ۴۱/۶) و AA در مقایسه با CA+CC، $P = 0/005$ ، $CI \%$: ۱/۲ - ۷/۷، $OR = 3/0$] وجود داشت. اختلاف آماری معنی داری در فراوانی آلل‌های پلی مورفیسم ژن ADA بیماران چاق با سطوح بالای پلاسمایی کلسترول در مقایسه با بیماران چاق و سطوح پایین‌تر پلاسمایی کلسترول مشاهده شد ($P = 0/01$ ، OR: ۲/۶، $CI \%$: ۱/۰۸ - ۶/۸). در ضمن افزایش معنی داری در فراوانی ژنوتیپ AA ژن ADA در بیماران چاق با سطوح پلاسمایی TG بیشتر یا مساوی ۱۵۰ mg/dl در مقایسه با گروه سالم کنترل مشاهده شد (AA در مقایسه با CA+CC، $P = 0/008$ ، OR: ۴/۵، $CI \%$: ۱/۲ - ۱۸/۷).

نتیجه‌گیری: نتایج مطالعه ما به نقش ADA در بروز چاقی و همراهی آن با سطوح غیر طبیعی تری‌گلیسرید (TG) و کلسترول اذعان دارد. پیشنهاد می‌شود گیرنده‌های آدنوزین به عنوان نقاط هدف مهمی برای طراحی درمان‌های نوین چاقی و دیس لیپیدی مد نظر باشند.

واژگان کلیدی: آدنوزین دامیناز، پلی مورفیسم، چاقی

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

* **نشانی:** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد، تلفن ۸۸۲۲۰۰۳۷-۳۸، نمابر: ۸۸۲۲۰۰۵۲، پست الکترونیک: emrc@tums.ac.ir

مقدمه

آدنوزین دامیناز (ADA)، یک پلی مورفیسم آنزیمی است که در تمام بافت‌های پستانداران وجود دارد [۱]. ADA باعث دامیناسیون غیرقابل برگشت آدنوزین به اینوزین و به دنبال آن منجر به تنظیم غلظت داخل سلولی و خارج سلولی آدنوزین می‌شود. لذا به نظر می‌رسد که ADA نقش مهمی در تعدیل و تنظیم فعالیت بیولوژیک انسولین دارد [۲].

Hoshino و همکاران [۳] افزایش قابل ملاحظه‌ای از فعالیت سرمی دامیناز در بیماران دیابتی را گزارش نمودند. اخیراً نیز kurtul و همکاران [۴] افزایش قابل ملاحظه فعالیت ADA در سرم بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با گروه سالم کنترل را گزارش کردند. در ضمن سطوح بالای آدنوزین آندوژن خارج سلولی در حیوانات چاق مشاهده شده است [۵].

در مطالعه‌ای که به منظور تعیین دوز اثر بخشی یک نوع آنالوگ آدنوزین در آدیپوسیت‌های انسان صورت گرفت، ارجحیت اثر آدنوزین در حساسیت به انسولین، با هدف مهار لیپولیز و تحریک انتقال گلوکز مورد بررسی قرار گرفت [۶] و مشاهده گردید که حذف آدنوزین با استفاده از ADA، به‌طور قابل ملاحظه‌ای سبب تحریک لیپولیز و نیز افزایش بارز غلظت انسولین مورد نیاز برای مصرف گلوکز (Half-maximal stimulation of glucose transport) می‌شود. امروزه آگونیست‌های آدنوزین به عنوان عوامل جدید تعدیل‌کننده متابولیسم در شرایطی مانند دیابت و سایر موارد مقاومت به انسولین مطرحند.

محل ژن ADA، روی بازوی بلند کروموزوم ۲۰ (۱۱q۱۳-۱۲q۲۰) می‌باشد [۷]. این لوکوس از نظر ژنتیکی یکی از لوکوس‌های مرتبط با دیابت نوع ۲ می‌باشد. شواهدی از ارتباط بین درصد چربی بدن و نشانگرهای موجود در این لوکوس (ADA) در انسان وجود دارد [۸]. Borecki و همکاران [۹] در مطالعه خود شواهد ارتباط بین پلی مورفیسم پروتئین ADA و نمایه توده بدنی (BMI) را مشاهده نمودند.

دو آلل هم غالب ADA*۱ و ADA*۲ ژن ADA، منجر به تغییر فعالیت آنزیمی در ADA می‌شوند [۱۰] که به نظر

می‌رسد در درجه چاقی افراد دیابتی نوع ۲ دخیل باشند [۱۱]. پلی مورفیسم‌های دیگری نیز برای ژن ADA [۱۱] مشخص شده‌اند، که آنالیز linkage disequilibrium ژن ADA در انسان مشخص می‌نماید که درجه بالایی از پیوستگی بین پلی مورفیسم تک نوکلئوتیدی در ناحیه مرز بین اولین آکسون و بخشی از اینترون ۱ ژن ADA وجود دارد [۷]. یک تغییر تک نوکلئوتیدی (A/C) در ناحیه ۴۲۲۳ در اولین اینترون ژن ADA که باعث بوجود آمدن سایت برش برای آنزیم آندونوکلاز MspI می‌شود، مشخص شده است. تقریباً ۵۰٪ فراوانی برای آلل‌های این پلی مورفیسم در جمعیت ایتالیایی گزارش شده است [۷].

در مطالعه حاضر، نقش پلی مورفیسم A/C ۴۲۲۳ ADA را در جمعیت ایرانی چاق که به طور تصادفی انتخاب شده‌اند، مورد بررسی قرار داده ایم.

روش‌ها

افراد چاق (۷۰ نفر) با نمایه توده بدنی ≥ 30 که از ناحیه ۱۷ تهران انتخاب شده بودند و در محدوده سنی ۶۴ - ۲۵ سال قرار داشتند و ۶۸ فرد سالم نیز به عنوان گروه شاهد از همان جمعیت، انتخاب شدند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تأیید قرار گرفت. رضایت‌نامه کتبی از تمام افراد تحت مطالعه اخذ شد.

برای تمام افراد مورد مطالعه سنجش TG، کلسترول، LDL و HDL صورت گرفت. از افراد تحت مطالعه، نمونه خون در لوله حاوی EDTA گرفته شد و DNA آن استخراج گردید.

آنالیز مولکولی پلی مورفیسم ژن دامینه آدنوزین

برای تعیین پلی مورفیسم دو اللی در اینترون ۱ ژن ADA از روش RFLP⁻¹ PCR استفاده شد. توالی پرایمرها به قرار زیر بود:

۵' FOR: ۴۰۷۶- Upstream: پرایمر
 ۳' -TATCTCACGGAATCCTCTGG

1- Polymerase chain reaction- restriction fragment length polymorphism

۲ ± ۲۵ بود. میانگین کلسترول و تری گلیسرید گروه چاق به ترتیب ۳۹ ± ۲۱۲ و ۸۹ ± ۱۸۴ mg/dl بود.

فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ با استفاده از موازنه هاردی وین‌برگ در گروه کنترل تأیید شد (P = ۰/۱).

فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن دامیناز آدنوزین در افراد چاق در مقایسه با گروه کنترل: توزیع آلل‌ها و ژنوتیپ‌های پلی مورفیسم ژن ADA در افراد چاق (۳۰) هیچ اختلاف آماری معنی داری برای فراوانی آلل ADA بین دو گروه وجود نداشت ولی افزایش معنی داری در فراوانی ژنوتیپ AA در افراد چاق در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد [AA در مقایسه با CA + CC، P = ۰/۰۱، OR: ۳/۴، CI: (۱/۰۸ - ۱۲/۸)؛ CI: ۹۵٪] (جدول ۱).

در مطالعه ما در گروه افراد چاق (n = ۷۰)، ۲۱ نفر با چاقی بیش از حد (BMI ≥ ۳۵) بودند. در مقایسه فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن ADA در بیماران با چاقی بیش از حد در مقایسه با گروه کنترل، افزایش آماری معنی داری در فراوانی ژنوتیپ AA ژن ADA در گروه بیماران مشاهده شد [P = ۰/۰۳، OR: ۳/۹، CI: (۰/۷ - ۱۹)؛ CI: ۹۵٪] (جدول ۱).

در آزمون رگرسیون لجستیک برحسب سن و جنس، اختلاف آماری معنی دار در فراوانی آلل و ژنوتیپ بین گروه سالم و افراد چاق مشاهده نشد.

فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن دامیناز آدنوزین در بیماران با سطوح غیرطبیعی پلاسمایی کلسترول و تری گلیسرید: در مطالعه ما فراوانی آلل و ژنوتیپ پلی مورفیسم ژن ADA در بین دو گروه افراد چاق با کلسترول ≥ 240 mg/dl یا < 240 mg/dl و نیز با گروه کنترل سالم مقایسه شد. افزایش آماری معنی داری در فراوانی ژنوتیپ AA ژن ADA در بیماران با سطوح بالای پلاسمایی کلسترول در مقایسه با بیماران با سطوح پایین پلاسمایی کلسترول [AA در مقایسه با CA+CC، P = ۰/۰۴، OR: ۳/۴، CI: (۰/۷ - ۱۳/۹)؛ CI: ۹۵٪] و نیز در مقایسه با گروه کنترل [P = ۰/۰۰۷، OR: ۸/۴، CI: (۱/۶ - ۴۱/۶)؛ CI: ۹۵٪] مشاهده شد. در بررسی فراوانی آلل A ژن ADA افزایش معنی داری در بیماران چاق با سطوح بالای پلاسمایی

پرایمر - REV: ۴۵۸۷Downstream: - ۵ - TGCATCAGAGAGGGACAGTT - ۳ محصولات PCR توسط یک آنزیم خاص (Restriction enzyme) به نام MspI برش زده شد که پس از هضم آنزیمی باعث تولید قطعات: ۳۳۳، ۱۰۸، ۲۸، ۴۳ جفت باز (bps) در حضور آلل A و نیز قطعات: ۱۸۶، ۱۴۷، ۱۰۸، ۲۸، ۴۳ جفت باز (bps) در حضور آلل C می‌شود. برای انجام واکنش PCR، ۱۰۰ ng از DNA ژنومی در حجم نهایی ۲۰ μ l که محتوی ۳ mM MgCl₂، ۰/۲۵ mM (Bioline) dNTP'S، ۵ pmol از هر پرایمر و ۱ واحد از Taq پلی مراز بود، به کار رفت.

مراحل PCR به ترتیب زیر انجام شدند: دناتوراسیون اولیه ۷ دقیقه در ۹۵ °C، سپس برای ۴۰ چرخه در شرایط زیر قرار گرفت: ۳۰ ثانیه در ۹۵ °C، ۴۵ ثانیه در ۶۵ °C و در نهایت ۳۰ ثانیه در ۷۲ °C و extension نهایی در ۷۲ °C به مدت ۷ دقیقه. محصول PCR (۵۱۲ bps) بر روی ژل آگارز ۳/۵٪ که با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده بود، مورد بررسی قرار گرفت. محصولات PCR توسط MspI در یک حجم نهایی ۱۵ μ l که شامل ۷ μ l محصول PCR، ۱ x NE بافر، ۱۰ واحد MspI بود، مورد هضم آنزیمی قرار گرفت و در دمای ۳۷ °C برای مدت ۲۴ ساعت انکوبه شد. در نهایت محصولات هضم شده بر روی ژل آگارز که با اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شده بود، مشاهده گردید.

قدرت ارتباط بین گروه‌ها و آلل‌های مختلف پلی مورفیسم ژن ADA با استفاده از نسبت شانسن (OR) و فاصله اطمینان ۹۵٪ (CI) برآورد شد. میزان معنی دار بودن با آزمون‌های آماری Chi-square و Fisher Exact محاسبه شد. همه روش‌های آماری با استفاده از نرم افزار STATA (ویرایش ۸) انجام گرفت.

یافته‌ها

نسبت مرد به زن در افراد چاق ۱۵ به ۵۵ و در گروه سالم (کنترل) ۲۷ به ۴۱ بود. میانگین سن افراد گروه چاق 44 ± 11 (میانگین \pm انحراف معیار) و در گروه سالم 36 ± 11 سال بود. متوسط وزن افراد گروه چاق 85 ± 10 کیلوگرم بود. متوسط BMI در دو گروه چاق و کنترل به ترتیب $34 \pm 3/5$ و

با گروه کنترل مشاهده شد [AA در مقایسه با CA + CC، $P = ۰/۰۰۸$ ، OR: ۴/۵، ۹۵٪ CI (۱/۲ - ۱۸/۷)] (جدول ۱).
 با استفاده از آزمون رگرسیون لجستیک، اختلاف آماری معنی‌داری بین فراوانی ژنوتیپ و آلل گروه‌ها بر حسب سن و جنس مشاهده نشد.
 افزایش سطوح پلاسمایی تری‌گلیسرید و کلسترول در افراد چاق، واضحاً با فراوانی ژنوتیپ و آلل ژن ADA همراه بود. در آنالیز رگرسیون لجستیک همراهی چاقی و پلی مورفیسم ژن ADA در جمعیت مورد مطالعه ما مستقل از سطوح کلسترول و تری‌گلیسرید بود.

کلسترول در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت [$P = ۰/۰۰۵$ ، OR: ۳/۰، ۹۵٪ CI (۱/۲ - ۷/۷)]، در مقایسه فراوانی آلل ADA در بیماران چاق دارای سطوح بالای پلاسمایی کلسترول با افراد چاق دارای سطوح پایین پلاسمایی کلسترول نیز اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت [$P = ۰/۰۱$ ، OR: ۲/۶، ۹۵٪ CI (۱/۰۸ - ۶/۸)] (جدول ۱).
 ما فراوانی ژنوتیپ و آلل ADA در افراد چاق با سطوح تری‌گلیسرید ≥ ۱۵۰ mg/dl در مقایسه با بیماران با تری‌گلیسرید کمتر از ۱۵۰ mg/dl و نیز با گروه کنترل را بررسی نمودیم. افزایش قابل ملاحظه‌ای در فراوانی ژنوتیپ AA ژن ADA در افراد چاق با تری‌گلیسرید بالا در مقایسه

جدول ۱- فراوانی ژنوتیپ و آلل ADA در افراد چاق و گروه کنترل

P ^۷	افراد چاق با TG ≥ ۱۵۰		P ^۵	افراد چاق با کلسترول ≥ ۲۴۰		افراد با چاقی بیش از حد (BMI ≥ ۳۵) (n = ۲۱)	افراد چاق (BMI = ۳۰-۳۵) (n = ۷۰)	گروه کنترل (n = ۶۸)	ژنوتیپ
	بلی (n = ۳۴)	خیر (n = ۳۶)		بلی (n = ۱۵)	خیر (n = ۵۵)				
	۹ (٪۲۷) ^ε	۶ (٪۱۷)		۶ (٪۴۰) ^{**}	۹ (٪۱۶)	۵ (٪۲۴) [*]	۱۵ (٪۲۲) [#]	۵ (٪۷) ^{#**ε}	AA
۰/۴	۱۳ (٪۳۸)	۱۹ (٪۵۳)	۰/۰۴	۷ (٪۴۷)	۲۵ (٪۴۶)	۸ (٪۳۸)	۳۱ (٪۴۴)	۳۹ (٪۵۸)	CA
	۱۲ (٪۳۵)	۱۱ (٪۳۰)		۲ (٪۱۳)	۲۱ (٪۳۸)	۸ (٪۳۸)	۲۴ (٪۳۴)	۲۴ (٪۳۵)	CC
	۰/۰۲	۰/۳		۰/۰۰۲	۰/۲	۰/۰۸	۰/۰۵		P (در مقایسه با گروه کنترل)
									آلل (n)
۰/۴	۳۱ (٪۴۶)	۳۱ (٪۴۴)	۰/۰۱	۱۹ (٪۶۳) [*]	۴۳ (٪۳۹)	۱۸ (٪۴۳)	۶۱ (٪۴۴)	۴۹ (٪۳۶) [*]	A
۴۱ (٪۵۶)	۶۷ (٪۶۱)	۳۷ (٪۵۴)	۱۱ (٪۳۷)	۲۴ (٪۵۷)	۴۱ (٪۵۶)	۷۹ (٪۵۶)	۸۷ (٪۶۴)		C
	۰/۱	۰/۳		۰/۰۰۵	۰/۶	۰/۴	۰/۲		P (در مقایسه با گروه کنترل)

P: AA در مقایسه با CA + CC (علایم، نشانگر اختلاف آماری معنی‌دار بین دو گروه هستند):

P^۵: افراد چاق با کلسترول ≥ ۲۴۰ mg/dl در مقایسه با گروه چاق با کلسترول < ۲۴۰ mg/dl

P^۷: افراد چاق با تری‌گلیسرید ≥ ۱۵۰ mg/dl در مقایسه با گروه چاق با تری‌گلیسرید < ۱۵۰ mg/dl

[#]P = ۰/۰۱، OR: ۳/۴، ۹۵٪ CI (۱/۰۸ - ۱۲/۷۷)

^{**}P = ۰/۰۰۰۷، OR: ۸/۴، ۹۵٪ CI (۱/۶ - ۴۱/۶)

^εP = ۰/۰۰۸، OR: ۴/۵، ۹۵٪ CI (۱/۲ - ۱۸/۷)

^{*}P = ۰/۰۳، OR: ۳/۴، ۹۵٪ CI (۰/۷ - ۱۹)

فعالیت گیرنده‌های آدنوزین سطح سلولی اعمال می‌شوند، توجه خاصی شده است [۱۲].

مطالعات نشان داده‌اند که آدنوزین، عملکرد انسولین کبدی را از طریق فعال نمودن گیرنده‌های A2B بی‌اثر می‌کند [۱۳].

در آدیپوسیت‌ها، آدنوزین نقشی تسهیل‌کننده در فعالیت انسولین دارد. در مطالعات تجربی مشاهده شده که افزایش

بحث

آدنوزین، یک نوکلئوزید پورینی است که در پلاسمای و سایر مایعات خارج سلولی وجود دارد. آدنوزین هورمون موضعی مهمی (نظیر پروستاگلاندین) است که نقش در تنظیم جریان خون، انتقال جریان عصبی، فیزیولوژی عضله صاف و تجمع پلاکتی دارد. اخیراً به تأثیرات متفاوت آدنوزین که از طریق

پروسه چاقی باشد. اخیراً مطالعه Kurtul و همکاران [۱۹] نشان داده که فعالیت سرمی ADA در افراد چاق در مقایسه با گروه کنترل غیر چاق، افزایش بارزی دارد. براساس یافته‌های ما، توجه به این موضوع ضروری است که گیرنده‌های آدنوزین می‌توانند نقاط هدف مهمی برای روش‌های درمانی جدید در فرآیند چاقی و دیس لیپیدی باشند. در مطالعه حاضر، میزان فعالیت ADA سرم در افراد چاق و گروه کنترل بررسی نشده است. هر چند پلی‌مورفیسم A/C ۴۲۲۳ ژن ADA، یک پلی‌مورفیسم عملکردی است، اما چنانچه بررسی‌هایی در آینده به منظور بررسی اثر آلل A بر فعالیت آنزیمی آدنوزین دامیناز در سرم افراد با ژنوتیپ‌های مختلف صورت پذیرد، بسیار مفید خواهد بود. همچنین این امکان وجود دارد که این پلی‌مورفیسم دارای عملکرد نبوده اما دارای پیوستگی با سایر پلی‌مورفیسم‌های عملکردی ژن ADA باشد. لذا لازم است که در آینده مطالعات بیشتری برای بررسی عملکرد این پلی‌مورفیسم انجام گیرد. در ضمن مطالعه با حجم نمونه بیشتر و در سایر جمعیت‌ها می‌تواند به تایید یافته‌های ما کمک کند.

سپاسگزاری

مطالعه حاضر با حمایت مالی مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام گرفته است.

فعالیت گیرنده A۱ آدنوزین، ممکن است منجر به آدیپوزیتی در افراد دیابتی نوع ۲ شود [۵]. سایر مطالعات نشان داده‌اند که افزایش آدنوزین منجر به افزایش حساسیت انسولین در آدیپوسیت‌ها می‌شود [۱۶-۱۴]. با غیر فعال نمودن آدنوزین خارج سلولی (که به صورت خودبخودی از آدیپوسیت‌ها رها می‌شود) ADA در حساسیت انسولین برای انتقال گلوکز اختلال ایجاد می‌کند [۱۷].

با توجه به این که متابولیسم انرژی در آدیپوسیت‌ها رخ می‌دهد، به نظر می‌رسد که آدنوزین احتمالاً نقش در کنترل جریان انرژی در آدیپوسیت‌ها از طریق کنترل نمودن فعالیت آدنیلات سیکلاز دارد [۱۸]. دیده شده که انکوباسیون آدیپوسیت‌ها به وسیله ADA، مهار آدنیلات سیکلاز را که از طریق تخریب آدنوزین رها شده از سلول‌ها صورت می‌گیرد، تقویت می‌کند. لذا به نظر می‌رسد که تجمع تصاعدی اسیدهای چرب آزاد داخل سلولی ناشی از افزایش لیپولیز، می‌تواند سبب کاهش فسفریلاسیون اکسیداتیو و میزان ATP در آدیپوسیت‌ها شود [۱۸]. ADA سبب افزایش احتباس ATP در آدیپوسیت‌ها که خود مرتبط با افزایش ثابت لیپولیز است، می‌شود [۱۸].

یافته‌های حاصل از مطالعه ما، تاییدی بر نقش ADA در فرآیند چاقی و نیز همراهی آن با سطوح غیرطبیعی کلسترول و تری‌گلیسرید است. این امر می‌تواند یافته مهمی با توجه به نقش ADA در متابولیسم بافت چربی و

ماخذ

- Spencer N, Hopkinson D, Harris H. Adenosine deaminase polymorphism in man. *Ann Hum Genet* 1968; 32:9-14.
- Bottini E, Gloria-Bottini F. Adenosine deaminase and body mass index in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Metabolism* 1999; 48:949-51.
- Hoshino T, Yamada K, Masuoka K, Tsuboi I, Itoh K, Nonaka K, et al. Elevated adenosine deaminase activity in the serum of patients with diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1994; 25:97-102.
- Kurtul N, Pence S, Akarsu E, Kocoglu H, Aksoy Y, Aksoy H. Adenosine deaminase activity in the serum of type 2 diabetic patients. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2004; 47:33-5.
- Xu B, Berkich DA, Crist GH, LaNoue KF. A1 adenosine receptor antagonism improves glucose tolerance in Zucker rats. *Am J Physiol* 1998; 274:E271-9.
- Heseltine L, Webster JM, Taylor R. Adenosine effects upon insulin action on lipolysis and glucose transport in human adipocytes. *Mol Cell Biochem* 1995; 144:147-51.
- Cruciani F, Bernardini L, Santolamazza P, Modiano D, Torroni A, Scozzari R. Linkage disequilibrium analysis of the human adenosine deaminase (ada) gene provides

- evidence for a lack of correlation between hot spots of equal and unequal homologous recombination. *Genomics* 2003; 82:20-33.
- 8- Lembergas AV, Perusse L, Chagnon YC, Fisler JS, Warden CH, Purcell-Huynh DA, et al. Identification of an obesity quantitative trait locus on mouse chromosome 2 and evidence of linkage to body fat and insulin on the human homologous region 20q. *J Clin Invest* 1997; 100:1240-7.
 - 9- Borecki IB, Rice T, Perusse L, Bouchard C, Rao DC. An exploratory investigation of genetic linkage with body composition and fatness phenotypes: the Quebec Family Study. *Obes Res* 1994; 2:213-9.
 - 10- Hening J, Martinik F, D'Eustachio P. confirmation of the regional localization of genes for human acid-glycosidase and adenosine deaminase by somatic cell hybridisation. *Ann Hum Genet* 1984;48:49-56.
 - 11- Bottini N, Gloria-Bottini F, Borgiani P, Antonacci E, Lucarelli P, Bottini E. Type 2 diabetes and the genetics of signal transduction: a study of interaction between adenosine deaminase and acid phosphatase locus 1 polymorphisms. *Metabolism* 2004; 53:995-1001.
 - 12- Zouali H, Hani EH, Philippi A, Vionnet N, Beckmann JS, Demenais F, et al. A susceptibility locus for early-onset non-insulin dependent (type 2) diabetes mellitus maps to chromosome 20q, proximal to the phosphoenolpyruvate carboxykinase gene. *Hum Mol Genet* 1997;6:1401-8.
 - 13- Yasuda N, Inoue T, Horizoe T, Nagata K, Minami H, Kawata T, et al. Functional characterization of the adenosine receptor contributing to glycogenolysis and gluconeogenesis in rat hepatocytes. *Eur J Pharmacol* 2003;459:159-66.
 - 14- Londos C, Honnor RC, Dhillon GS. cAMP-dependent protein kinase and lipolysis in rat adipocytes. III. Multiple modes of insulin regulation of lipolysis and regulation of insulin responses by adenylate cyclase regulators. *J Biol Chem* 1985;260:15139-45.
 - 15- Ohisalo JJ, Strandberg H, Kostianen E, Kuusi T, Ehn-holm C. Stimulation of lipoprotein lipase activity of rat adipose tissue and post-heparin plasma by N6-(phenylisopropyl)adenosine. *FEBS Lett* 1981; 132: 121-3.
 - 16- Vannucci SJ, Nishimura H, Satoh S, Cushman SW, Holman GD, Simpson IA. Cell surface accessibility of GLUT4 glucose transporters in insulin-stimulated rat adipose cells. Modulation by isoprenaline and adenosine. *Biochem J* 1992; 288:325-30.
 - 17- Green A. Adenosine receptor down-regulation and insulin resistance following prolonged incubation of adipocytes with an A₁ adenosine receptor agonist. *J Biol Chem* 1987;262:15702-7.
 - 18- Chung FZ, Weber HW, Appleman MM. Extensive but reversible depletion of ATP via adenylate cyclase in rat adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1985; 82:1614-7.
 - 19- Kurtul N, Akarsu E, Aktaran S. The relationship between serum total sialic acid levels and adenosine deaminase activity in obesity. *Saud Med J* 2006; 27:170-3.