

وضعیت چند شکلی پروموتور ژن UCP2 در جمعیت سالم ایرانی

جواد حیدری^۱، سید محمد اکرمی^{۱*}، رامین حشمت^۱، پروین امیری^۱، حسین فخرزاده^۱، محمد پژوهی^۱

چکیده

مقدمه: uncoupling protein2 (UCP2) عضوی از خانواده پروتئین‌های حامل پروتون از غشای میتوکندری می‌باشد. UCP2 از ژن‌های مطرح در زمینه چاقی و دیابت نوع دو است. پلی مورفیسم GA، در ناحیه پروموتور این ژن بررسی شده است. **روش‌ها:** تعداد ۷۵ نفر داوطلب ۶۴-۲۵ ساله که چاق نبوده و دیابت نداشتند، طی یک مطالعه مقطعی و مبتنی بر جمعیت منطقه ۱۷ تهران بصورت تصادفی انتخاب شدند و از نمونه‌های خون کامل آنها، استخراج DNA صورت گرفت؛ سپس از طریق PCR و RFLP وضعیت پلی مورفیسم و میزان آلل‌های A و G. جمعیت مورد مطالعه مشخص شد. ارتباط بین این ژنوتیپ و متغیرهای بالینی و بیوشیمیایی نظیر BMI و کلسترول و تری گلیسرید بررسی گردید. نتایج حاصله به لحاظ وضعیت همخوانی با استفاده از آزمون هتروژنیته با نتایج سایر مطالعات از جمعیت‌های کشورهای دیگر مقایسه شد. **یافته‌ها:** شیوع آلل‌های ناحیه پروموتور ژن UCP2 در جمعیت سالم تهران ۹/۴٪ AA، ۵۴/۶٪ GA و ۳۶٪ GG به دست آمد. **نتیجه‌گیری:** در افراد سالم داشتن آلل G به نفع افزایش HDL می‌باشد (P= ۰/۰۲). از سوی دیگر در این مطالعه اختلاف معنی داری بین شیوع آلل‌های پروموتور ژن UCP2 در جمعیت ایرانی با نتایج مطالعات انجام شده در کشورهای ایتالیا، اتریش، دانمارک و آلمان وجود نداشت. اما اختلاف معنی داری با جمعیت سالم ژاپنی گزارش شده در دو مطالعه مختلف بدست آمد که می‌تواند نشانه قرابت ژنتیکی بیشتر ایرانی‌ها با قفقازی‌های اروپایی باشد.

واژگان کلیدی: UCP2، پلی مورفیسم، PCR – RFLP

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

* **نشانی:** تهران، خیابان کارگر شمالی، بیمارستان دکتر شریعتی، طبقه پنجم، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم؛ تلفن: ۸۸۰۲۶۹۰۲-۳؛
نمابر: ۸۸۰۲۹۳۹۹؛ پست الکترونیک: akramism@tums.ac.ir

مقدمه

تولید انرژی برای حفظ ساختار و عملکرد سلول، ضروری است. انرژی از طریق سوخت غذا و تبدیل به آب و CO_2 ایجاد می‌شود. ارگانیزم، برای تولید انرژی از فرایندی به نام فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریال استفاده می‌کند که در طی آن سوخت متابولیک و اکسیژن به CO_2 ، آب و ATP تبدیل می‌شود. در مسیر سنتز ATP، الکترون که از احیای NADH حاصل می‌شود در طی زنجیره تنفسی تحت عمل اکسیداسیون قرار گرفته و سبب می‌شود که H^+ از ماتریکس میتوکندریال خارج شود و در مسیر سنتز ATP قرار گیرد. پروتون می‌تواند جدا از مسیر سنتز ATP، از مسیرهای دیگری نیز وارد میتوکندری شود و وارد مرحله تشکیل ATP نشود، در واقع انرژی به صورت حرارت به هدر می‌رود. این مسیر به واسطه پروتیین‌هایی به نام uncoupling proteins انجام پذیر است. تا کنون ۵ نوع UCP شناخته شده‌اند: UCP_1 ، UCP_2 ، UCP_3 ، UCP_4 و UCP_5 که بروز بافتی متفاوت و اعمال گوناگونی دارند [۱]. UCP_2 در بافت چربی قهوه ای، بافت چربی سفید، ساختار اسکلتی، قلب، کلیه، ریه، طحال، تیموس، مغز استخوان و سیستم گوارشی وجود دارد. ژن مربوطه در کروموزوم ۱۱ (11q13) قرار دارد. عملکرد آن کاهش تعداد رادیکال های آزاد اکسیژن می‌باشد و در واقع به عنوان عامل آنتی اکسیدان عمل می‌کند، احتمالاً در تعیین میزان متابولیک پایه و مقاومت به چاقی نیز نقش دارد [۱]. عملکرد دیگر UCP_2 تنظیم ترشح انسولین می‌باشد. UCP_2 از طریق فعالیت در نشت پروتون، سبب کاهش در تولید ATP شده و توانایی سلول β در ترشح انسولین را کاهش می‌دهد و ممکن است در ایجاد دیابت نوع دو نقش داشته باشد [۳، ۲].

اولین بار UCP_2 در سال ۱۹۹۷ در بیشتر بافت ها به خصوص پانکراس توصیف شد. UCP_2 به طور منفی ترشح انسولین را تنظیم می‌کند. شواهدی وجود دارد که افزایش بروز ژن UCP_2 ، سبب مهار ترشح انسولین ناشی از تحریک گلوکز می‌شود و در صورت عدم وجود UCP_2 ، ترشح انسولین افزایش می‌یابد [۴]. Joseph و همکاران نقش ژن UCP_2 و ظرفیت ترشحی انسولین را بررسی

کردند. در همین مطالعه ژن UCP_2 در موش ها سرکوب شد و مشاهده گردید در موش های هموزیگوت ($\text{UCP}_2^{-/-}$)، افزایش پاسخ سلول های بتای پانکراس به گلوکز و رژیم پرچربی وجود داشت و محتوای انسولین و حتی توده سلول بتا نیز افزایش یافت و پیشنهاد کردند که عملکرد UCP_2 ممکن است در طی پیشرفت دیابت نوع دو نقش داشته باشد [۵].

در مطالعه ای دیگر توسط Otabe و همکاران، در نژاد قفقازی های فرانسه رابطه ای بین پلی مورفیسم های UCP_2 با چاقی وجود نداشت [۶].

در مطالعه Krempler و همکاران، پلی مورفیسم G/A از پروموتور ژن UCP_2 در افراد دیابتی و چاق اتریش بررسی شده و نتیجه گرفتند که ژنوتیپ G/G به عنوان عامل خطر چاقی بوده و با دو برابر کاهش میزان خطر دیابت نوع دو در افراد چاق با سنین متوسط همراه است [۷].

در مطالعه Dalgaard و همکاران در دانمارک، پلی مورفیسم های UCP_2 با تغییرات BMI، سطح FPG و انسولین ناشتا بررسی و مشاهده شد که پلی مورفیسم 866G/A با چاقی و قند خون در افراد دانمارکی رابطه ای نداشت [۸].

با توجه به این که UCP_2 واسطه نشت پروتون از میتوکندری می‌باشد و سبب کاهش در سنتز ATP می‌شود، ممکن است در تکامل چاقی و دیابت نقش داشته باشد. مطالعات متعددی در زمینه نقش UCP_2 در دیابت و چاقی وجود دارد که نتایج یکسانی نداشته اند. در بررسی از بانک اطلاعاتی pubmed فقط در سال های ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ مقالات انسانی ۱۱ عدد بوده است و در سال های ۲۰۰۰ تا ۲۰۰۵ فقط ۲۱ مقاله یافت شد.

در این مطالعه وضعیت پلی مورفیسم UCP_2 در جمعیت سالم ایرانی بررسی شده و توزیع آن با سایر جمعیت های مطالعه شده مورد مقایسه قرار می گیرد.

روش ها

این مطالعه بر روی ۷۵ فرد سالم داوطلب ایرانی انجام شد. این در قالب بررسی مونیکا (MONICA) سازمان بهداشت جهانی در ایران و در پایگاه تحقیقات جمعیتی

شامل ۳۰ ثانیه حرارت 95°C برای دناتوراسیون، ۳۰ ثانیه در حرارت 68°C برای عمل ملحق شدن^۱ و ۳۰ ثانیه در حرارت 72°C برای تکثیر DNA بود و در نهایت به مدت ۷ دقیقه برای تکثیر نهایی در حرارت 72°C قرار داده شد. محصول PCR روی ژل آگاروز ۱٪ با وجود باند 360 bp مشاهده شد. سپس ۳ میکرولیتر از محصول PCR با $4\text{ }\mu\text{l}$ آب، $1/5\text{ }\mu\text{l}$ آنزیم $10\text{ u}/\mu\text{l}$ MluI (شرکت Invitrogen) و $1/5\text{ }\mu\text{l}$ بافر مخلوط و برای یک شب در انکوباتور در حرارت 37°C قرار گرفت. اجزای هضم شده در ژل آگاروز ۲٪ که حاوی ماده Ethidium bromide می باشد، جدا شده و زیر نور ماورای بنفش، مشاهده شد. محصولات PCR هضم شده طول های 360 bp و 290 و 70 دارند. اگر نمونه ها در ژل آگاروز فقط حاوی قطعات 70 و 290 bp بود نشانه وجود آلل G، اگر نمونه ها فقط حاوی قطعات 360 bp بود نشانه وجود آلل A و اگر همه قطعات 360 و 290 و 70 bp وجود داشت نشانه آلل GA بود. نتایج ژنوتیپ پلی مورفیسم های UCP2-866 با متد PCR-RFLP در شکل ۱ نشان داده شده است.

نحوه تجزیه و تحلیل اطلاعات

یافته های حاصل از آزمایش های مربوط به انجام PCR و تشخیص پلی مورفیسم مربوطه با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۱/۵ مورد بررسی قرار گرفته و سایر نتایج حاصل از مطالعه فوق نیز از بانک اطلاعات اصلی به این داده ها اضافه گردید. مقایسه میانگین متغیرهای بیوشیمیایی نمونه ها بر اساس ژنوتیپ های مختلف با استفاده از آزمون ANOVA و در موارد مقایسه های دوگانه از آزمون Bonferroni استفاده شد. همسانی نتایج مربوط به فراوانی ژنوتیپ ها و آلل ها در جمعیت ایرانی در مقایسه با سایر مطالعات با استفاده از نرم افزار STATA 8 و با آزمون هتروژنیته با استفاده از محاسبه آماری Chi

دانشگاه علوم پزشکی تهران (منطقه ۱۷ شهرداری) و جهت بررسی شیوع عوامل خطر ساز بیماری های قلبی در افراد ۲۵ تا ۶۴ ساله انجام شد [۹]. از تمامی شرکت کنندگان رضایت نامه کتبی گرفته شد و نمونه خون ناشتای آنها اخذ و فشار خون سیستولیک و دیاستولیک و اندازه دور کمر و باسن اندازه گیری و W/H Ratio محاسبه شد. با اندازه گیری قد و وزن BMI نیز محاسبه و بعنوان یک متغیر وارد مطالعه گردید. آزمایش های مربوط به کلسترول، HDL، TG، اسید فولیک و FBS در آزمایشگاه مرکز تحقیقات غدد دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. نمونه خون کامل در لوله های حاوی EDTA جهت بررسی های بعدی جمع آوری شد. دیابت بر اساس $\text{FBS} \geq 126\text{ mg/dl}$ ، نمونه خون تصادفی $\leq 200\text{ mg/dl}$ ، یا سابقه تشخیص دیابت توسط پزشک و مصرف داروهای پایین آورنده قند خون یا تزریق انسولین و از سوی دیگر چاقی به صورت $\text{BMI} \geq 30$ تعریف شد. افراد دارای بیماری دیابت یا چاقی از مطالعه خارج شدند.

استخراج DNA و تعیین ژنوتیپ به وسیله PCR-RFLP

استخراج DNA از خون کامل به روش نمک اشباع NaCl. ۵ مولار انجام گردید. ابتدا نمونه های DNA با واکنش PCR افزایش یافته و سپس روی محصولات آن RFLP (restriction fragment length polymorphism) انجام شد. برای انجام این مراحل از پروتکل مطالعه Esterbauer استفاده شد [۱۰]. توالی پرایمرهای forward به ترتیب 5'-CACGCTGCTTCTGCCAGGAC-3' و 5'-AGGCGTCAGGAGATGGACCG-3' بودند. ترکیب مواد برای واکنش PCR حاوی $1\text{ }\mu\text{l}$ DNA، $1\text{ }\mu\text{l}$ 25 Mm dNTP ، $0.16\text{ }\mu\text{l}$ از پرایمرهای forward و $0.2\text{ }\mu\text{l}$ reverse، $0.5\text{ u}/\mu\text{l}$ Taq DNA (شرکت GIBCO BRL) و $14/24\text{ }\mu\text{l}$ آب بود. ابتدا DNA ژنومیک به مدت ۵ دقیقه در حرارت 96°C دناتوره و سپس ۳۶ سیکل PCR انجام شد که هر سیکل

¹ Annealing

² Base pair

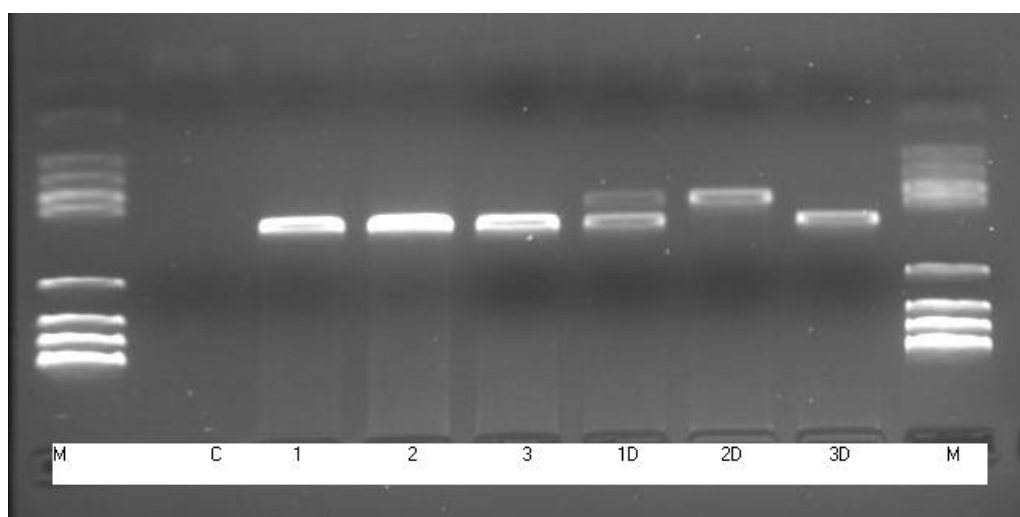
گروه مورد مطالعه شامل ۷۵ فرد سالم و با $BMI \leq 30$ بود. از این تعداد، ۳۴ نفر مرد (۴۵/۳٪) و ۴۱ نفر زن (۵۴/۷٪) با میانگین سنی $35 \pm 11/5$ سال بودند. مشخصات اولیه افراد سالم با متغیرهای متعدد بیوشیمیایی و با توجه به ژنوتیپ آنها در جدول ۱ آمده است.

یافته‌ها

جدول ۱ - مشخصات بالینی گروه مورد مطالعه و نتایج آزمایشگاهی با توجه به ژنوتیپ آنها

-866 AA	- 866GA	- 866GG	
۳۶/۲ ± ۱۲/۱	۳۵/۹ ± ۱۲/۲	۳۴/۴ ± ۱۰/۷	سن (سال) *
۱۲۶/۸ ± ۱۵/۷	۱۲۲/۵ ± ۲۹/۶	۱۲۲/۴ ± ۲۰	* (mmHg) Mean SBP
۸۵ ± ۱۱	۷۹/۳ ± ۱۷/۸	۸۰ ± ۱۱/۸	* (mmHg) Mean DBP
۸۰/۳ ± ۱۰/۴	۸۴ ± ۱۰/۶	۸۴/۶ ± ۱۰/۴	دور کمر (cm) *
۰/۸۴ ± ۰/۰۷	۰/۸۵ ± ۰/۰۷	۰/۸۴ ± ۰/۰۷	* WHR
۲۳/۴ ± ۳	۲۴/۸ ± ۲/۹	۲۵/۲ ± ۲/۸	* ($kg m^{-2}$) BMI
۱۶۳/۲ ± ۲۸/۵	۱۹۸/۴ ± ۴۳	۱۹۴/۴ ± ۴۷/۹	* (mg/dl) کلسترول
۴۵ ± ۱۲/۸	۵۸/۳ ± ۱۵/۷	۶۴/۷ ± ۲۰	† (mg/dl) HDL
۱۷۲/۵ ± ۱۳۹	۵۶ ± ۹۱/۷	۱۲۷/۳ ± ۴۸/۸	* (mg/dl) تری‌گلیسرید
۳/۹ ± ۰/۷	۴/۱ ± ۱/۳	۳/۴۵ ± ۰/۹	† (mg/dl) اسیداوریک
۷۲/۸ ± ۶/۹	۷۴/۶ ± ۶/۹	۷۴/۲ ± ۱۶/۹	* FBS (mg/dl)
۲/۵ ± ۰/۴	۲/۸ ± ۰/۵	۲/۵ ± ۰/۴	* ($\mu mol/lit$) هوموسیستین
۱/۲ ± ۰/۳	۱/۱۹ ± ۰/۵	۱/۱۸ ± ۰/۵	* (nmol/lit) اسید فولیک
۵/۴ ± ۰/۵	۵/۳ ± ۰/۶	۵/۳ ± ۰/۵	* (pmol/lit) B12 ویتامین

* از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P < 0/05$)؛ † از نظر آماری معنی‌دار بود ($P > 0/05$)؛ ‡ مقادیر ± نشانگر میانگین ± انحراف معیار هستند؛ SBP: فشار خون سیستولیک؛ DBP: فشار خون دیاستولیک؛ WHR: نسبت دور کمر به دور باسن.



شکل ۱ - PCR - RFLP برای ژنوتیپ UCP2 - 866 G/A پلی‌مورفیسم

* ژل الکتروفورس ۲٪، M: مارکر $\phi \times$ Hae III، C: کنترل PCR
 † خطوط ۱ و ۲ و ۳ محصولات PCR و خطوط 1D, 2D, 3D محصولات هضم PCR می‌باشند.
 1D: آلل GA 2D: آلل GG 3D: آلل AA

جدول ۲- توزیع شیوع ژنوتیپ UCP2-866 در افراد سالم ایرانی و سایر کشورها

P	آلل		P	ژنوتیپ‌های UCP2			جمعیت مطالعه
	A	G		A/A	GA	G/G	
-----	۵۳	۹۷	-----	۷	۴۱	۲۷	ایران
	(/۳۵/۳)	(/۶۴/۷)		(/۹/۴)	(/۵۴/۶)	(/۳۶)	[مطالعه حاضر]
۰/۰۰۵	۷۴	۷۰	۰/۰۰۹	۲۱	۳۲	۱۹	ژاپن [۱۱]
	(/۵۱/۴)	(/۴۸/۶)		(/۲۹/۲)	(/۴۴/۴)	(/۲۶/۴)	
۰/۰۲۵	۱۲۵	۱۴۳	۰/۰۸۱	۲۸	۶۹	۳۷	ژاپن [۱۲]
	(/۴۶/۶)	(/۵۳/۴)		(/۲۱)	(/۵۱)	(/۲۸)	
>۰/۲	۴۵۰	۱۴۳	>۰/۲	۸۲	۲۸۶	۲۲۱	اتریش [۱۰]
	(/۳۸/۲)	(/۵۳/۴)		(/۱۴)	(/۴۹)	(/۳۷)	
۰/۲	۶۶۵	۹۶۷	۰/۱۵	۱۴۸	۳۶۹	۲۹۹	دانمارک [۸]
	(/۴۰/۷)	(/۵۹/۳)		(/۱۸/۱)	(/۴۵/۳)	(/۳۶/۶)	
>۰/۲	۱۴۳	۲۳۳	>۰/۲	۲۷	۸۹	۷۲	آلمان [۱۳]
	(/۳۸)	(/۶۲)		(/۱۴/۴)	(/۴۷/۳)	(/۳۸/۳)	
>۰/۲	۳۶۴	۷۵۴	>۰/۲	۵۲	۲۶۰	۲۴۷	ایتالیا [۱۴]
	(/۳۲/۶)	(/۶۴/۴)		(/۹/۲)	(/۴۷/۱)	(/۴۳/۷)	
>۰/۲	۱۹۴	۴۰۸	>۰/۲	۲۵	۱۴۴	۱۳۲	ایتالیا [۱۵]
	(/۳۲)	(/۶۸)		(/۸/۳)	(/۴۷/۸)	(/۴۳/۹)	
>۰/۲	۲۲۶	۴۲۸	>۰/۲	۴۱	۱۴۴	۱۴۲	ایتالیا [۱۶]
	(/۳۴/۶)	(/۶۵/۴)		(/۱۲/۵)	(/۴۴)	(/۴۳/۴)	

* اعداد داخل پرانتز میزان شیوع هستند

بحث

UCP2 از ژن‌های مطرح در زمینه ایجاد دیابت و چاقی می‌باشد. UCP2 در بسیاری از بافت‌ها از جمله بافت‌های چربی و سلول‌های پانکراس بروز می‌کند. UCP2 در تنظیم متابولیسم بدن و ترشح انسولین و ترموژنز نقش دارد. مطالعات متعددی در مورد نقش متابولیک UCP2 انجام شده است از جمله در مطالعه Schrauwen که در هندوهای Pima، رابطه منفی با BMI گزارش شده است [۱۷]. مطالعه surwit نیز رابطه UCP2 و چاقی در موش‌ها را نشان داد که با افزایش UCP2، موش‌ها در برابر افزایش وزن مقاومت نشان دادند [۱۸].

مطالعات انسانی نیز در مورد نقش پروموتور ژن UCP2 و دیابت و چاقی انجام شده است.

همچنان‌که در جدول ۱ مشاهده می‌شود میانگین سطح سرمی HDL در بین سه ژنوتیپ اختلاف معنی‌دار از نظر آماری دارد ($P = 0/02$) و داشتن ژنوتیپ GG نسبت به AA بنفع افزایش HDL می‌باشد (آزمون Bonferroni). شیوع ژنوتیپ GG ۳۶٪، GA ۵۴/۶٪ و AA ۹/۴٪ در جمعیت سالم مورد مطالعه بدست آمد. نتایج این مطالعه با مطالعات ایتالیا، اتریش، دانمارک، آلمان و ژاپن مقایسه شده است. از نظر شیوع آلل‌های A و G بین جمعیت ایرانی و ژاپنی بررسی شده در دو مطالعه مجزا اختلاف آماری معنی داری وجود دارد ($P < 0/05$) ولی با کشورهای اروپایی اختلافی مشاهده نگردید.

در جدول ۲ توزیع فراوانی پلی‌مورفیسم‌های UCP2 در جمعیت سالم ایرانی و مقایسه آن با مطالعات دیگر کشورها قابل مشاهده است.

در نژادهای مختلف بین UCP2 با چاقی و دیابت ارتباط متفاوت گزارش شده است. با توجه به چند عاملی بودن اتیولوژی دیابت و چاقی، مطالعات متعددی باید در این زمینه آن صورت گیرد. از جمله این مطالعات، بررسی نقش ژنهای متعدد مانند UCP2 در بروز این بیماریها می باشند. تنوع نژادی ایجاب می کند که مطالعات در جوامع مختلف انجام شود تا اختلافات مشخص شده و نقش این ژنها در بروز بیماریها مشخص شود. عملکردهای UCP2 در بروز چاقی و دیابت می تواند راه گشایی برای ایجاد داروهای باشد که بتواند از طریق تغییر در عملکرد این ژن، در درمان این بیماریها مفید باشد.

بر اساس مطالعات ما، این مطالعه برای اولین بار در ایران انجام می شود. در این مطالعه که بر روی ۷۵ فرد سالم ایران صورت گرفت، شیوع آلل A ۳۵/۳٪ و آلل G ۶۴/۷٪ بدست آمد. در این بررسی اختلاف معنی داری بین جمعیت سالم ایرانی با کشورهای ایتالیا، اتریش، دانمارک و آلمان وجود نداشت (P > ۰/۰۵) ولی در مقایسه با کشور ژاپن از نظر شیوع آلل های A و G اختلاف معنی دار بود. و

سپاسگزاری

از تلاش های گروه محققین در طرح "مطالعه عوامل خطر بیماریهای قلب و عروق در جمعیت تحت پوشش پایگاه تحقیقات جمعیت دانشگاه علوم پزشکی تهران" که به جمع آوری نمونه ها پرداختند و نیز همکاران آزمایشگاه تقدیر و تشکر می گردد. این مقاله با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است.

مآخذ

1. Eralanson - Albertsson C. The role of uncoupling proteins in the regulation of metabolism. *Acta physiol scand* 2003; 178: 405 - 412.
2. Zhang C-Y, Baffy G, Perret P, Kraus S, Peroni O, Grujic D, and et al. uncoupling protein 2 Negatively Regulates Insulin secretion and Is a major link between obesity, β cell dysfunction and type 2 Diabetes. *Cell* 2001; 105: 745 - 755.
3. lameloise N, Muzzin P, Prentki M and Assimacopoulos-Jeannet F. uncoupling protein 2: A possible link Between fatty Acid Excess and Impaired Glucose-Induced Insulin secretion? *Diabetes* 2001; 50: 803 - 809.
4. Chan CB, Saleh M C, Koshkin V and Wheeler M B. Uncoupling proten 2 and Islet function. *Diabetes* 2004; 53 (suppl.1) : 8136 - 8142.
5. Joseph J W, Koshkin V, Zhang C.Y, Wang J, Lowell B B, Chan C B et al. Uncoupling protein 2 knockout Mice Have Enhanced Insulin secretory capacity After a High - fat Diet. *Diabetes* 2002; 51: 3211 - 3219.
6. Otabe S, Clement K, Rich N, warden C, Pecqueur C, Nererora M et al. Mutation screening of the Human UCP 2 Gene in Normoglycemic and NIDDM Morbidly obese patints. *Diabetes* 1998 ; 42: 840 - 842.
7. Krempler F, Esterbauer H, Weitgasser R, Ebenbichler C, Patsch JR, Miller K, et al. A functional Polymorphism in the promoter of UCP₂ Enhances obesity Risk but Reduces type II Diabetes Risk in Obese Middle -Aged: *Diabetes*; 2002; 51: 3331-3335.
8. Dalgaard LT, Anderson G, Larsen LH, Sorensen T, Andersen T, Drivshlm T et al. Mutational Analysis of the UCP₂ Core promoter and Relationships of Variants with obesity. *Obesity Research*; 2003; 11: 1420-1427.
9. حشمت، رامین؛ فخرزاده، حسین؛ پورابراهیم، رسول؛ نوری، معصومه؛ علاء الدینی، فرشید. مطالعه عوامل خطر بیماریهای قلب و عروق در جمعیت تحت پوشش پایگاه تحقیقات جمعیت تهران: طراحی آماری و روش نمونه گیری مجله دیابت و لیپید / ایران ۱۳۸۲؛ ویژه نامه ۱، دوره ۳: ۲۱-۲۵.
10. Esterbauer H, Schnitler C, Oberkofler H, Ebenbichler C, Paulweber B, Sandhofer F et al. A common polymorphism in the promoter of

- UCP 2 is associated with decreased risk of obesity in middle – aged humans. *Nature Genet* 2001; 28: 178 – 183.
11. Zhang B, Tanaka H, Saku K. Simple and rapid detection of uncoupling protein-2 - 866G/A polymorphism by mutagenically separated polymerase chain reaction. *Clin Chim Acta* 2004 ; 344: 205-10.
 12. Ji Q, Ikegami H, Fujisawa T, Kawabata Y, Ono M, Nishino M, et al. A common polymorphism of uncoupling protein 2 gene is associated with hypertension. *J Hypertension* 2004; 22:97-102.
 13. Schauble N, Gelber f, Siegfried w, et al. No evidence for involvement of the promoter polymorphism– 866 G/A of the UCO2 gene in childhood – onset obesity in humans. *EXP clin Endocrinol Diabetes* 2003; 111: 73–76.
 14. D' Adamo M, Perego L, Cardellini M, Marini MA, Frontin S, Andreozzi F et al. The– 866A/A genotype in the promoter of the human uncoupling protein 2 Gene is associated with Insulin Resistance and Increased Risk of Type 2 Diabetes. *Diabetes* 2004; 53: 1905-1910.
 15. Sesti G, cardellini M, Marini MA, Frontomi S, D' Adamo M, Guerra SD, et al. A common polymorphism in the promoter of UCP2 contributes to the variation in insulin secretion in Glucose Tolerant subjects. *Diabetes* 2003; 52: 1280 – 1283.
 16. Bulotta A, ludovico O, Coco A, Dipaolo R, Quattrane A, Carella M and et al. The common – 866 G/A polymorphism in the promoter Region of the UCP₂ gene is associated with reduced Risk of Type 2 Diabetes in Caucasians from Italy. *The J of Clin Endoc & Metab* 2005; 90: 1176-1180.
 17. Schrauwen P and Hesselin k Ñ UCP2 and UCP3 in muscle controlling Body metabolism . *The j of Experi Biol* 2002; 205: 2275– 2258.
 18. Surwit R D, Wang S, Petro A R, Sanchis D, Raimbault Sand Ricquier D. Diet – induced changes in uncoupling proteins in obesity – prone and obesity – resistant strains of Mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 4061– 4065.