مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی بیستم، شماره‌ی ۶، صفحه‌های ۳۳۱ ـ ۳۲۰ (بهمن ـ اسفند ۱۳۹۷)

مقاله‌ی پژوهشی

تاثیر جراحی Laparoscopic Gastric Plication بر روی پروفایل پروتئینی خون افراد چاق با استفاده از شات‌گان پروتئومیکس

پریسا ساوه دورودی[۱]، دکتر محمد طالب پور[۲]، دکتر علیرضا قاسم پور[۱]

۱) پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران، ۲) بخش جراحی لاپاروسکوپیک، بیمارستان سینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** پژوهشکده گیاهان و مواد اولیه دارویی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران، دکتر علیرضا قاسم‌پور؛ e-mail: a-ghassempour@sbu.ac.ir

چکیده

مقدمه: درحال حاضر جراحی چاقی به عنوان موثرترین روش درمان برای افراد چاق مفرط در نظر گرفته می‌شود. در پژوهش حاضر، تاثیر **Laparoscopic Gastric Plication (LGP)** به عنوان یک تکنیک جدید، بر روی پروفایل پروتئینی سرم بیماران پس از جراحی مورد مطالعه قرار گرفت. مواد و روش‌ها: سرم خونی ۱۶ آزمودنی مبتلا به چاقی مفرط با متوسط **BMI** ۴۱/۲±۵/۳ کیلوگرم بر متر مربع که تحت عمل جراحی **LGP** قرار گرفته بودند، پیش از جراحی و در دو نوبت پس از جراحی (۱ تا ۲ ماه پس از جراحی (**T۱**) و ۴ تا ۵ ماه پس از جراحی (**T۲**)) مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌ها با بکارگیری ممبران **PVDF** و آنزیم تریپسین به مخلوط پپتیدی تبدیل شده و با استفاده از کروماتوگرافی مایع-طیف سنج جرمی آنالیز شدند. یافته‌ها: در مطالعه حاضر، ۱۵۶ پروتئین شناسایی و اندازه‌گیری کمی شد. از این میان، نتایج آنالیز آماری تی جفت شده ($p<۰/۰۵$ تعدیل شده) نشان داد که ۲۴ پروتئین در **T۱**، تفاوت معنادار در سطوح پروتئینی داشتند که از این میان ۱۲ پروتئین افزایش سطح و ۱۲ پروتئین کاهش سطح نشان دادند و در **T۲**، ۱۶ پروتئین شامل ۱۰ پروتئین با افزایش سطح و ۶ پروتئین با کاهش سطح شناسایی شد. نتیجه‌گیری: با توجه به تاثیر قابل ملاحظه جراحی چاقی بر روی پروفایل پروتئینی می‌توان بایومارکرهای شناخته شده را مورد هدف قرار داد و به بررسی عوامل تاثیرگزار بر روی آن‌ها جهت یافتن راهی نوین در درمان چاقی در آینده پرداخت.

واژگان کلیدی: پروتئومیکس، جراحی چاقی، چاقی، طیف سنجی جرمی

دریافت مقاله: ۹۷/۹/۱۷ـ دریافت اصلاحیه: ۹۷/۱۲/۲۰ ـ پذیرش مقاله: ۹۷/۱۲/۲۵

مقدمه

جراحی چاقی، موثرترین روش درمان برای افراد چاق مفرط که روش‌های غیر جراحی نظیر اصلاح رژیم غذایی و تغییر شیوه زندگی بر روی آن‌ها ناموفق بوده است، می‌باشد؛ به گونه‌ای که علاوه بر کاهش وزن قابل توجه و پایدار، می‌تواند منجر به بهبود بیماری‌های مرتبط با چاقی نظیر دیابت نوع ۲ گردد.[۱]

در سال ۲۰۰۷، تکنیک Laparoscopic gastric plication (LGP) که بدون برداشتن هیچ بخشی از معده و استفاده از جسم خارجی است، معرفی گردید.[۲] مطالعه انجام شده بر روی ۶۰ بیمار چاق مفرط مبتلا به دیابت نوع ۲ که تحت عمل جراحی LGP قرار گرفته بودند، نشان داد که علاوه بر کاهش وزن قابل توجه، گلوکز خون در طی ۶ ماه پس از جراحی به طور معناداری کاهش یافته و بهبود دیابت را در ۹۲ درصد افراد پس از گذشت یک سال از عمل جراحی به دنبال داشته است.[۳] علاوه بر این مشاهده شده که اکثر کاهش وزن مشاهده شده به بافت چربی بدن مربوط است و کاهش بافت بدون چربی حداقل بوده و در نتیجه LGP می‌تواند سبب بازگشت ترکیب بدنی[i] به حالت طبیعی گردد.[۴]

سرم خون منبع غنی از پروتئین‌های متعدد ترشح شده در پاسخ به یک شرایط فیزیولوژیک خاص است. از آن‌جایی

i- Body composition

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

که بروز یک بیماری می‌تواند سبب تغییر کمی و کیفی در غلظت برخی پروتئین‌های موجود در خون شود، می‌توان تفاوت در بیان پروتئین در حالت‌های مختلف را با مطالعه سرم خون دریافت. شاتگان پروتئومیکس[i] به عنوان یکی از متداولترین تکنیک‌های پروتئومیکس، بدین منظور مورد استفاده قرار می‌گیرد. در این تکنیک، هضم مخلوط پروتئینی توسط آنزیم پروتئاز، جداسازی پپتیدهای حاصل با استفاده از روش‌های چندبعدی جداسازی و آنالیز پپتیدها با کمک دستگاه طیف‌سنج جرمی متوالی انجام می‌شود. امروزه جداسازی مخلوط پپتیدی با استفاده از روش‌های کروماتوگرافی مایع انجام می‌گردد که نسبت به ژل الکتروفورز دو بعدی افزایش حساسیت، افزایش تکرار پذیری، افزایش تعداد پروتئین‌های شناسایی شده را به ارمغان می‌آورد. در نهایت شناسایی کیفی پروتئین‌ها با کمک پایگاه‌های اطلاعاتی و اندازه‌گیری کمی توسط یکی از روش‌های نشان‌دار کردن یا بی‌نشان‌دار کردن صورت می‌گیرد.[۵،۶]

گزارش‌های بسیار کمی از نظر مطالعه پروتئومیکس در مورد افرادی که تحت عمل جراحی چاقی قرار گرفته‌اند و ساز و کار مولکولی مربوطه وجود دارد.[۷،۸] بررسی پروتئومیکس پلاسمای خون ۷ بیمار که تحت عمل جراحی بای‌پس معده به طریق Roux-en-Y قرار گرفتند نشان داد، پس از عمل جراحی، سطوح تعدادی از آپولیپوپروتئین‌ها تغییر می‌کند که از میان آنان، آپولیپوپروتئین A4 که دارای خاصیت ضد التهابی و شناخته شده به عنوان فاکتور سیری می‌باشد، بیشترین میزان تغییر را داشته است. بر اساس نتایج، فرض شد که این پروتئین در کاهش وزن و بهبود التهاب و بیماری‌های قلبی-عروقی پس از عمل نقش دارد.[۸] در مطالعه دیگری ۱۵ فرد مبتلا به دیابت نوع ۲ تحت عمل جراحی بای‌پس معده و یا اسلیو قرار گرفته و پروتئومیکس پلاسمای خون ۳ روز پیش از عمل و ۳ روز پس از آن مطالعه گردید. نتایج نشان داد که پروتئین متصل شونده به رتینول-٤ (RBP-4) و فتوئین A (Fetuin A) تنها پس از عمل جراحی بای‌پس معده کاهش یافته که می‌توانند در بهبود دیابت پس از این نوع عمل جراحی موثر باشند.[۹] اخیرا به صورت بسیار جامع پروفایل پروتئینی دو گروه ۲۰ و ۲۷ نفره تحت عمل جراحی بای‌پس معده به طریق Roux-en-Y پیش از جراحی و در سه زمان پس از آن بررسی شد. ۱۱٤ پروتئین با تغییرات معنادار شناسایی گردید و مشخص شد اکثر پروتئین‌های تغییر یافته در التهاب سیستمی و متابولیسم لیپید نقش دارند.[۱۰]

در جراحی LGP برخلاف اسلیو و بای‌پس معده هیچ بخشی از معده برداشته نمی‌شود و بدون تغییر در آناتومی معده و فیزیولوژی دستگاه گوارش می‌باشد. فهم این نکته که چگونه یک روش جراحی سبب بهبود دیابت، کاهش اشتها و به دنبال آن کاهش وزن می‌گردد، می‌تواند به توسعه روش‌های دیگر که کم‌خطرتر و کم‌هزینه‌تر بوده منجر شود. بدین ترتیب، در این مطالعه سعی بر آن است که تغییرات پروفایل پروتئینی افراد پس از عمل جراحی LGP با استفاده از تکنیک شاتگان پروتئومیکس مورد بررسی قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

جمعیت طرح و تهیه سرم خونی

این مطالعه از نوع مشاهده‌ای آینده‌نگر[ii] بوده و روی ۱٦ بیمار مبتلا به چاقی مفرط که تحت عمل جراحی LGP توسط یک جراح (محمد طالب پور) از اذر ۹۳ تا اردیبهشت ۹٤ قرار گرفته‌اند انجام شد. با توجه به مطالعات مشابه پیشین، این حجم از نمونه که افراد شرکت کننده در پژوهش، ویژگی‌های اولیه نزدیک به هم و قابل قبول برای قرار دادن در مطالعه را داشتند، انتخاب شدند. معیارهای ورود به مطالعه، بیماران با سن بیشتر از ۱۸ سال و BMI بیشتر از ٤۰ کیلوگرم بر متر مربع و یا بین ۳۵ تا ٤۰ کیلوگرم بر متر مربع همراه با بیماری‌های همراه و یا بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر متر مربع به همراه سندرم متابولیک بود. معیارهای خروج از مطالعه به شرح زیر می‌باشد: هرگونه شرایط روحی که بر قدرت تصمیم‌گیری بیمار بتواند اثر بگذارد (که توسط روانپزشک تعیین گردید)، سوء مصرف مواد و الکل، وجود بیماری بدخیم کنترل نشده، نارسایی قلب، کلیه و کبد. لازم به ذکر است، بیماران پس از جراحی از برنامه غذایی و مکمل دارویی یکسان استفاده کردند.

پس از توضیح دادن هدف و اهمیت پژوهش حاضر برای شرکت‌کنندگان، با تاکید بر محرمانه و بی‌نام بودن اطلاعات، فرم رضایت‌نامه آگاهانه جهت شرکت در مطالعه از آن‌ها گرفته شد. مراحل این پژوهش توسط کمیته اخلاق دانشگاه

i -Shotgun proteomics

ii -Prospective observational

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

شهید بهشتی با کد IR.SBU.ICBS.97/1019 مورد تایید قرار گرفت.

نمونه خونی افراد به صورت ناشتا (۵ میلی‌لیتر) و در سه نوبت جمع‌آوری گردید: پیش از عمل جراحی، ۱ تا ۲ ماه پس از عمل جراحی (T۱)، ٤ تا ٥ ماه پس از عمل جراحی (T۲). لوله‌های حاوی نمونه خونی به مدت ٤٠ دقیقه در دمای اتاق نگه‌داری شده، سپس به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ٤٠٠٠ دور در دقیقه سانتریفیوژ شده و سرم آن‌ها جدا گردید. سرم‌های جداشده تا زمان انجام آزمایشات مورد نیاز در در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. اندازه‌گیری کلسترول، تری‌گلیسرید، HDL و LDL نیز در آزمایشگاه تشخیص طبی انجام شد.

آماده‌سازی نمونه سرم‌های خونی جهت مطالعات پروتئومیکس

طبق روش MStern Blotting سرم‌های خونی جهت آنالیز با سیستم کروماتوگرافی-اسپکترومتری جرمی متوالی[i] آماده شدند.[۱۱] ابتدا ۳ میکرولیتر از هر نمونه سرم خونی در ۱۰۰ میکرولیتر اوره ۸ مولار حل شد. سپس با استفاده از سیستم نانودراپ (Thermo Scientific، امریکا)، غلظت پروتئینی نمونه‌ها در طول موج ۲۸۰ نانومتر اندازه‌گیری گردید. با توجه به غلظت‌های اندازه‌گیری شده، حجم مورد نیاز معادل ۱۵ میکروگرم از هر نمونه به چاهک‌های پلیت ۹٦ خانه انتقال داده شد. سپس احیای باندهای دی‌سولفیدی و آلکیلاسیون گروه‌های SH در پروتئین‌های سرم خونی به ترتیب با استفاده از محلول ۰/۵ مولار تریس (۲-کربوکسی اتیل) فسفین (۱:۵۰ و غلظت نهایی ۱۰ میلی‌مولار) و محلول ۰/۵ مولار کلرواستامید (۱:۱۰ و غلظت نهایی ۵۰ میلی‌مولار) انجام شد. سپس به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط در هم‌زن چرخنده[ii] با سرعت ۷۵۰ دور در دقیقه قرار گرفت. در ادامه، نمونه‌ها به پلیت ۹٦ خانه دارای ممبران پلی‌وینیلیدین-فلوئورید[iii] (PVDF) منتقل شدند که توسط ۱۵۰ میکرولیتر اتانول ۷۰ درصد فعال‌سازی و با ۳۰۰ میکرولیتر محلول اوره ۸ مولار آماده شده بودند. برای سهولت در انتقال حلال و مراحل شستشو از vacuum manifold استفاده گردید. پس از وارد کردن نمونه‌ها شستشوی هر خانه با استفاده از ۳۰۰ میکرولیتر محلول ۵۰ میلی‌مولار تری‌اتیل آمونیوم بی‌کربنات انجام شد. هیدرولیز پروتئین‌ها و تبدیل آن‌ها به پپتید با اضافه کردن ۱۰۰ میکرولیتر بافر هضم کننده به هر چاهک صورت گرفت. این محلول شامل ۵ درصد استونیتریل، ۵ درصد تری فلوئورواتانول و نسبت ۱:٦۰ آنزیم تریپسین به نمونه (Sequencing-grade, Promega, Madison, WI) در ۵۰ میلی‌مولار تری‌اتیل آمونیوم بی‌کربنات است. پلیت به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد در انکوباتور مرطوب شده قرار گرفت و پس از آن باقی‌مانده بافر هضم-کننده خارج شد. در ادامه، پپتیدها توسط ۱۵۰ میکرولیتر محلول ٤٠ درصد استونیتریل و ۰/۱ درصد فرمیک اسید دو مرتبه شسته شدند و در پلیت جدید جمع آوری گردیدند. پس از خشک شدن پلیت در سانتریفیوژ تحت خلاء، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگه‌داری شد.

آنالیز پپتیدهای حاصل با استفاده از سیستم کروماتوگرافی-اسپکترومتری جرمی (LC-MS/MS)

پیش از آنالیز توسط دستگاه طیف سنج جرمی، پپتیدها در محلول ۲ درصد استونیتریل، ۰/۱ درصد فرمیک اسید و ۰/۱ درصد تری‌فلورو استیک‌اسید حل شدند. دستگاه UPLC-nanoESI MS/MS مجهز به سیستم NanoRSLC (Dionex، امریکا) جهت آنالیز نمونه‌ها به کار رفته است. سیستم به صورت آنلاین توسط PicoTip 360-20-10 emitter جهت یونیزاسیون نانواسپری به دستگاه طیف‌سنج جرمی Q Exactive HF (Thermo Scientific، امریکا) متصل بود. نمونه‌ها در یک ترتیب تصادفی و با سه بار تکرار به دستگاه تزریق شدند. در هر تزریق، ۱ میکروگرم از نمونه پپتیدی که توسط دستگاه نانودراپ در طول موج ۲۸۰ نانومتر تعیین غلظت گردیده بود، به ستون ۲ سانتی-متری (Dionex Acclaim PepMap RSLC C18) تزریق شده و سپس جداسازی پپتیدها با ستون ۷۵ سانتی‌متری C18 (Dionex Acclaim PepMap RSLC C18) انجام گرفت. لازم به ذکر است، هر دو ستون در دمای ٦٠ °C نگه-داری شدند. برنامه شویشی گرادیان با ۹۸ درصد حلال A (۰/۱ درصد فرمیک‌اسید) و ۲ درصد حلال B (۰/۱ درصد فرمیک‌اسید در استونیتریل) با سرعت جریان ثابت ۳۰۰ نانولیتر بر دقیقه شروع شده و در مدت زمان ۵ دقیقه میزان حلال B به ۸ درصد و پس از گذشت ٤٠ دقیقه به ۳۰ درصد رسید. اسپکترومتری جرمی در حالت مثبت[iv] و اسکن طیف‌ها

i -Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)
ii -Rotation Mixer
iii -Polyvinylidene Fluoride
iv -Positive mode

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

با بکارگیری تکنیک Top 15 data dependent ms/ms scan انجام شد. محدوده روبش در Full ms scan از جرم ۳۷۵ تا m/z ۱۵۰۰ با قدرت تفکیک[i] ۱۲۰۰۰۰ و در ms/ms scan با قدرت تفکیک ۱۵۰۰۰ انجام گرفت. شکست یون‌های مادر با کمک روش Higher-energy C-trap Dissociation با انرژی ۲۷ الکترون ولت انجام شد.

آنالیز طیف‌های اسپکترومتری جرمی

آنالیز طیف‌های اسپکترومتری جرمی جهت شناسایی و اندازه‌گیری کمی پروتئین‌ها با استفاده از نرم‌افزار MaxQuant انجام گرفت؛[۱۲] بدین صورت که با استفاده از الگوریتم‌های جستجو، طیف‌های حاصل با پایگاه‌های اطلاعاتی موجود مقایسه و شناسایی کیفی انجام گرفت. نرخ کشف خطا[ii] در شناسایی پپتید و پروتئین کمتر از ۱ درصد درنظر گرفته شد. اندازه‌گیری کمی نیز طبق الگوریتم‌های اندازه‌گیری کمی پروتئین نشان‌دار نشده[iii] صورت پذیرفت. درواقع شدت پپتیدهای یونیزه شده برای هر پروتئین (در مطالعه حاضر تنها پپتیدهای منحصر به فرد[iv]) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری دقیق و تکرار پذیر بین ران‌های مختلف با استفاده از الگوریتم‌های تعبیه شده در نرم‌افزار MaxQuant، ابتدا طیف‌های جرمی گرفته شده باید پردازش شوند. بدین ترتیب همسان سازی زمان‌های بازداری[v] و نرمال کردن شدت‌های حاصل در طیف‌های جرمی[vi] انجام گرفت.[۱۳]

آنالیزهای آماری و بایوانفورماتیک

خروجی حاصل از نرم‌افزار Maxquant به نرم افزار Perseus برده شده و پس از انجام دو مرحله فیلترینگ (وجود حداقل دو پپتید منحصر به فرد برای هر پروتئین و اندازه‌گیری کمی پپتیدهای منحصر به فرد در حداقل ۷۰ درصد نمونه‌ها)، از میان پروتئین‌های شناسایی شده، تنها پروتئین‌های با حداقل میزان خطا باقی ماندند. سپس با استفاده از آنالیز مولفه اصلی، وجود نمونه‌ی خارج از محدوده بررسی گردید. در نهایت با انجام آزمون تی جفت شده پروتئین‌هایی که تغییراتشان پس از عمل جراحی در مقایسه با پیش از عمل جراحی به صورت معنادار بوده است، شناسایی گردید. مقدار p تعدیل شده (بر اساس Permutation-based FDR) کمتر از ۰/۰۵ معنادار تلقی گردید. سپس اندازه تغییرات بیان[vii] پروتئین‌ها محاسبه گردید و به این ترتیب پروتئین‌هایی که سطوح آن‌ها پس از عمل جراحی افزایش و یا کاهش داشته است، مشخص شدند.[۱۴] علاوه بر این، شبکه‌های برهم‌کنشی پروتئین‌هایی که تغییرات معنادار داشتند، توسط نرم‌افزار Ingenuity Pathway Analysis (IPA; Ingenuity Systems، امریکا) مورد بررسی قرار گرفت.[۱۵] بدین منظور پروتئین‌هایی که تغییرات معنادار داشتند به همراه اندازه تغییرات بیان مربوطه در نرم فزار IPA وارد گردیدند.

یافته‌ها

اطلاعات مربوط به بیماران که تحت عمل جراحی LGP قرار گرفته بودند، در جدول ۱ آورده شده است. قابل ذکر است که ۷ بیمار در T۲ به دلیل مهاجرت شرکت نکردند، هرچند که ویژگی‌های اولیه افراد شرکت‌کننده در T۱ و T۲ تفاوت معناداری با هم نداشتند. در T۱ متوسط BMI از ۵/۳ ± ۴۱/۲ به ۴/۹ ± ۳۶/۶ کیلوگرم بر متر مربع و در T۲ به ۵/۴ ± ۳۲/۵ کیلوگرم بر متر مربع کاهش یافت. درصد کاهش اضافه وزن در T۱ و T۲ به ترتیب ۲۷ و ۵۳/۶ درصد بود.

با بکارگیری تکنیک شات‌گان پروتئومیکس و هیدرولیز مخلوط پروتئینی با استفاده از آنزیم تریپسین و استفاده از کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنج جرمی جهت جداسازی و شناسایی پپتیدها، ۲۲۷ پروتئین شناسایی گردید که از این میان، پس از انجام مراحل فیلترینگ برای نگه داشتن پروتئین های با کیفیت جهت اندازه‌گیری کمی، ۱۵۶ پروتئین باقی ماند. نتایج آنالیز آماری تی جفت شده نشان داد که ۲۴ پروتئین در T۱ و ۱۶ پروتئین در T۲ تفاوت معنادار ($p<0/05$ تعدیل شده) در مقدار داشتند. در مقایسه دو بازه زمانی T۱ و T۲ با یکدیگر، پروتئینی با تغییرات معنادار شناسایی نگردید. جهت نمایش پروتئین‌های تغییر یافته به همراه اندازه تغییرات بیان مربوطه از volcano plot استفاده گردید که در نمودار ۱ آورده شده است.

i -Resolution
ii -False discovery rate (FDR)
iii -label-free quantification
iv -Unique peptides
v -Alignment of retention time
vi -Normalization of mass intensity
vii -Fold Change

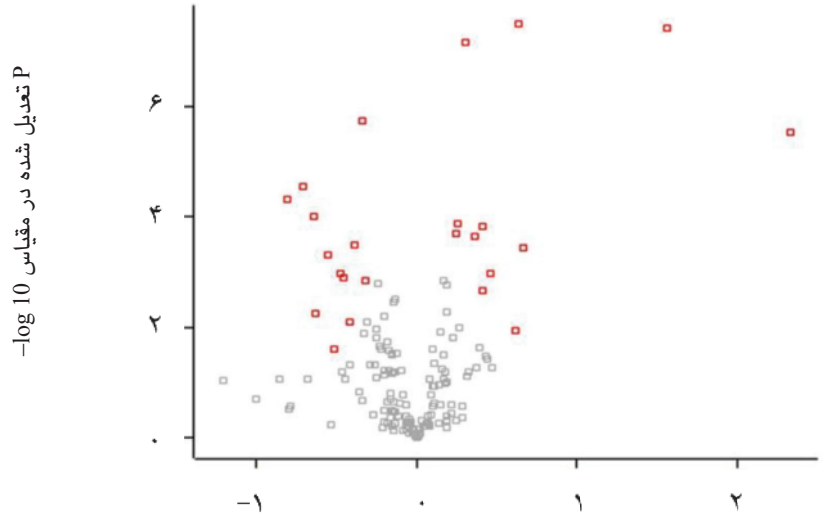
[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

جدول ۱- مشخصات افراد شرکت‌کننده در مطالعه

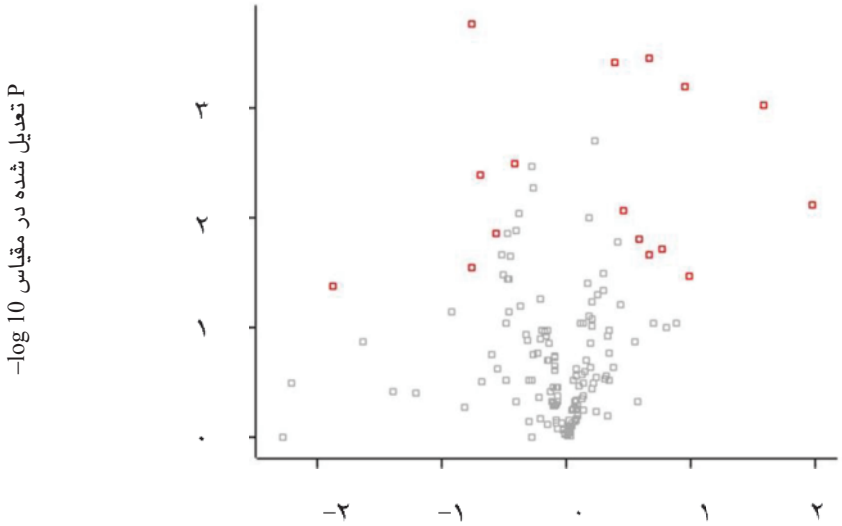
متغیر	قبل از عمل جراحی N=۱۶	پس از عمل جراحی (۱ تا ۲ ماه) N=۱۶	پس از عمل جراحی (۴ تا ۵ ماه) N=۹	p قبل عمل نسبت به ۱ تا ۲ ماه بعد عمل	p قبل عمل نسبت به ۴ تا ۵ ماه بعد عمل
سن (سال)	۳۷/۹±۱۰/۲	-	۳۶/۹±۱۱/۹	-	-
جنسیت (مرد: زن)	۱۱:۵	۱۱:۵	۶:۳	-	-
BMI (کیلوگرم بر متر مربع)	۴۱/۲±۵/۳	۳۶/۶±۴/۹	۳۲/۵±۵/۴	<۰/۰۰۰۱*	<۰/۰۰۰۱*
کاهش اضافه وزن (درصد)	-	۲۷±۶/۳	۵۳/۶±۱۵	-	-
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۳۰/۶۳±۵۳/۷۸	۱۰۶/۸۸±۴۰/۹۸	۹۱/۸۹±۲۴/۷	۰/۰۳۰*	۰/۰۴۶*
کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۷۶/۶۹±۳۶/۲۰	۱۶۶/۳۸±۲۸/۷۷	۱۶۵/۸۹±۳۰/۲۵	۰/۵۰۶	۰/۱۵۱
HDL-C (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۴۵/۵±۱۲/۴۴	۳۹/۳۱±۸/۳۸	۴۶/۶۷±۷/۳۱	۰/۰۷۲	۰/۰۳۴*
LDL-C (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۰۵/۲۳±۲۷/۰۳	۱۰۵/۲۵±۲۳/۳۹	۱۰۱±۲۷/۳۴	۰/۸۶۲	۰/۹۹۷

*سطح معنی دار ۰/۰۵> p در نظر گرفته شد. محاسبه مقادیر p با استفاده از آنالیز آماری تی جفت شده انجام شد.

BMI= Body Mass Index, HDL-C= High Density Lipoprotein Cholesterol, LDL-C= Low Density Lipoprotein Cholesterol



اندازه تغییرات بیان یک تا دو ماه پس از جراحی (T1)
نسبت به پیش از عمل در مقیاس Log2



اندازه تغییرات بیان چهار تا پنج ماه پس ازجراحی (T2)
نسبت به پیش از عمل در مقیاس Log2

نمودار ۱- نمایش تغییرات پروتئین‌های اندازه‌گیری شده با استفاده از Volcano Plot. الف) مقایسه T۱ با پیش از عمل و ب) مقایسه T۲ با پیش از عمل. هر نقطه نمایانگر پروتئین‌های اندازه‌گیری شده می‌باشد و نقاط قرمز رنگ پروتئین‌های با تغییرات معنادار (p<۰/۰۵ تعدیل شده) را نشان می‌دهد.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

اندازه تغییرات بیان در مقیاس لگاریتمی بر روی محور ایکس نشان داده شده است. هر نقطه یک پروتئین را نشان می‌دهد و نقاط قرمز رنگ، معرف پروتئین‌هایی هستند که تغییرات معنادار (p<۰/۰۵ تعدیل شده) داشته‌اند. پروتئین-هایی که اندازه تغییرات بیان مثبت دارند، پس از عمل جراحی مقدارشان افزایش یافته و آن‌هایی که اندازه تغییرات بیان منفی دارند، پس از عمل جراحی مقدارشان کاهش یافته است.

همان‌طور که در نمودار ۱-الف مشاهده می‌شود، از میان پروتئین‌های تغییر یافته در T۱، ۱۲ پروتئین افزایش مقدار و ۱۲ پروتئین کاهش مقدار نشان دادند. در T۲ نیز ۱۰ پروتئین با افزایش مقدار و ٦ پروتئین با کاهش مقدار شناسایی شد (نمودار ۱-ب). اسامی پروتئین‌ها به همراه مقادیر دقیق p تعدیل شده و اندازه تغییرات بیان در جدول ۲ آورده شده است.

جدول۲- پروتئین‌های شناسایی شده با تغییرات معنی‌دار (p<۰/۰۵ تعدیل شده) پس از عمل جراحی نسبت به پیش از عمل

شناسه‌ی پروتئین	نام پروتئین	نام ژن	-Log10 (p تعدیل شده)	اندازه تغییرات بیان پروتئین* بعد عمل نسبت به قبل عمل در مقیاس log2
یک تا دو ماه پس از جراحی (T1) نسبت به قبل از عمل جراحی				
Q06033	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	ITIH3	۷/٤۳۸	۱/٥٦
P35542	Serum amyloid A-4 protein	SAA4	۱/٦۰٥	-۰/٥۱
P01861	Ig gamma-4 chain C region	IGHG4	۲/۹٦٥	-۰/٤۸
P05090	Apolipoprotein D	APOD	۲/٦۷	۰/٤۱
P05156	Complement factor I	CFI	٥/۷٥٥	-۰/۳۳
Q9UGM5	Fetuin-B	FETUB	٤/۳۲٥	-۰/۸۱
P04278	Sex hormone-binding globulin	SHBG	٥/٥٤٤	۲/۳۳
O95445	Apolipoprotein M	APOM	۲/۹٦۷	۰/٤٦
P00738	Haptoglobin	HP	۳/٤۸٥	-۰/۳۸
P01011	Alpha-1-antichymotrypsin	SERPINA3	۳/۸۳۹	۰/٤۱
P01023	Alpha-2-macroglobulin	A2M	۳/۸۸٤	۰/۲٦
P02743	Serum amyloid P-component	APCS	٤/٥٥۹	-۰/۷۱
P02750	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein	LRG1	۷/٤۹٦	۰/٦۳
P02753	Retinol-binding protein 4	RBP4	۳/۳۲۲	-۰/٥٥
P02766	Transthyretin	TTR	٤/۰۰۹	-۰/٦٤
P05160	Coagulation factor XIII B chain	F13B	۲/۸۳۷	-۰/۳۲
P19652	Alpha-1-acid glycoprotein 2	ORM2	۲/۹۰۹	-۰/٤٥
P19823	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H2	ITIH2	۳/۷۰۳	۰/۲٤
P19827	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H1	ITIH1	۷/۱۷۷	۰/۳۰
P20742	Pregnancy zone protein	PZP	۱/۹٥۲	۰/٦۱
P27918	Properdin	CFP	۲/۰۸۷	-۰/٤۲
P80108	Phosphatidylinositol-glycan-specific phospholipase D	GPLD1	۲/۲٤٤	-۰/٦۳
Q13790	Apolipoprotein F	APOF	۳/٤۳	۰/٦۷
Q96PD5	N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase	PGLYRP2	۳/٦٥۹	۰/۳٦
چهار تا پنج ماه پس از جراحی (T2) نسبت به قبل از عمل جراحی				
Q06033	Inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H3	ITIH3	۳/۰۲۲	۱/٥۹
P05156	Complement factor I	CFI	۲/٤۹٤	-۰/٤۲
Q9UGM5	Fetuin-B	FETUB	۱/۸٥۸	-۰/٥۷
P04278	Sex hormone-binding globulin	SHBG	۲/۱۰۷	۱/۹۷
P02654	Apolipoprotein C-I	APOC1	۱/٤٦۷	۰/۹۸
P01008	Antithrombin-III	SERPINC1	۱/۸۰٥	۰/٥۸
P01023	Alpha-2-macroglobulin	A2M	۳/٤۰٦	۰/۳۹
P02647	Apolipoprotein A-I	APOA1	۱/۷۰۸	۰/۷۷
P02743	Serum amyloid P-component	APCS	۱/٥۳۸	-۰/۷٦
P02750	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein	LRG1	۳/٤٥۱	۰/٦۷
P04430	Ig kappa chain V-I region BAN	IGKV1-16	۱/٦٥٥	۰/٦٦
P05155	Plasma protease C1 inhibitor	SERPING1	۲/۰٦٦	۰/٤٥
P0DOY3	Immunoglobulin lambda constant 3	IGLC3	۱/۳٦٦	-۱/۸۸
P69905	Hemoglobin subunit alpha	HBA1	۲/۳۸۹	-۰/٦۹
Q08380	Galectin-3-binding protein	LGALS3BP	۳/۷٥٦	-۰/۷٦
Q13790	Apolipoprotein F	APOF	۳/۱۹٥	۰/۹٥

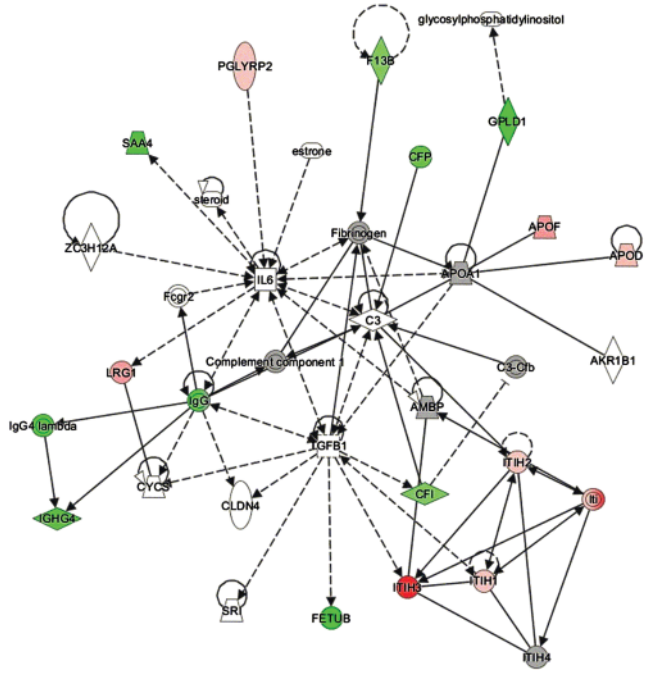
*Fold Change

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

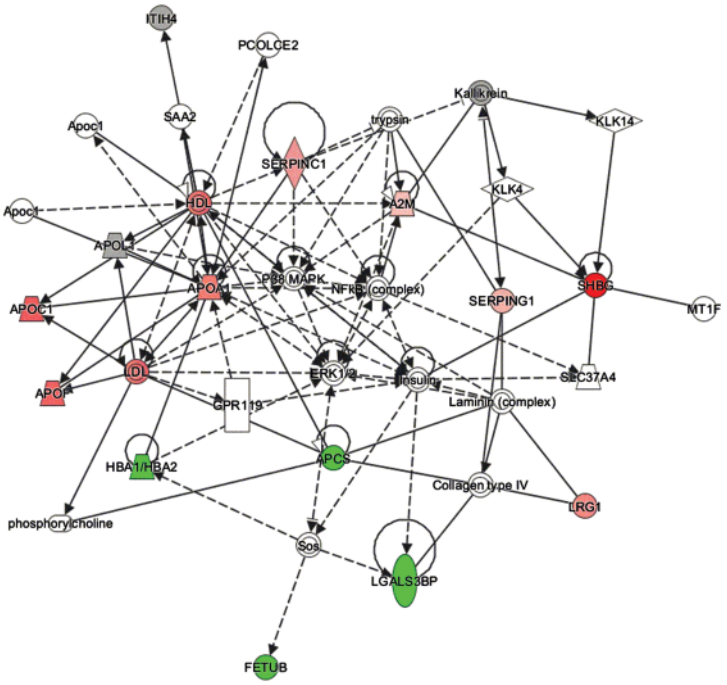
[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

در هر دو زمان پس از عمل جراحی، دو شبکه برهم‌کنشی برای پروتئین‌هایی که تغییرات معنادار داشتند، توسط نرم‌افزار IPA شناسایی گردید. اولین شبکه پیشنهادی که دارای امتیاز بالاتری می‌باشد و به عنوان محتمل‌ترین شبکه برهم‌کنشی پروتئین–پروتئین در نظر گرفته می‌شود، در شکل ۱ برای T۱ و T۲ نشان داده شده است.

الف



ب



شکل ۱- اولین شبکه برهمکنشی پروتئین–پروتئین شناسایی شده در الف) مقایسه نمونه‌های پیش از عمل با یک تا دو ماه پس از عمل (T1) و ب) نمونه‌های پیش از عمل با چهار تا پنج ماه پس از عمل (T2)

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

برهم‌کنش‌های مولکولی مستقیم بین پروتئین‌ها با خط پر نمایش داده شده است. در جایی که برهم‌کنش به صورت مستقیم وجود ندارد، پروتئین‌های پیشنهادی از سوی IPA که با مجموعه پروتئین‌های تغییر یافته ارتباط دارند، برهم-کنش به صورت غیر مستقیم را برقرار می‌کنند که با خط‌چین نشان داده شده است. نودهای نمایش داده شده به رنگ قرمز و سبز به ترتیب پروتئین‌های با افزایش مقدار و کاهش مقدار را نشان می‌دهد. نودهای خاکستری رنگ در مجموعه‌ی پروتئین‌های تغییر یافته وجود دارند اما از لحاظ آماری تغییرات معنادار نداشته‌اند. نودهای بی‌رنگ نیز به لحاظ داشتن ارتباط با پروتئین‌های تغییر یافته توسط IPA پیشنهاد شده است. عملکردهای زیستی اختصاص یافته به این مجموع از پروتئین‌ها و سایر اطلاعات مربوط به شبکه‌ها در جدول ۳ آورده شده است.

جدول۳- شبکه‌های برهمکنشی پروتئین- پروتئین پیشنهاد شده توسط IPA

پروتئین‌های موجود در شبکه	پروتئین‌های شناسایی شده با تغییر مقدار	امتیاز	محتمل‌ترین عملکرد زیستی و بیماری مرتبط	شبکه
		T1		
AKR1B1, AMBP, APOA1, APOD, APOF, C3, C3-Cfb, CFI, CFP, CLDN4, Complement component1, CYCS, estrone, F13B, Fcgr2, FETUB, Fibrinogen, glycosylphosphatidylinositol, GPLD1, IgG, IgG4 lambda, IGHG4, IL6, Iti, ITIH1, ITIH2, ITIH3, ITIH4, LRG1, PGLYRP2, SAA4, SRI, steroid, TGFB1, ZC3H12A	۱٤	۳٦	مسیرهای سیگنالینگ سلولی و برهمکنش با سایر پروتئین‌ها، توسعه و عملکرد سیستم هماتولوژی، سیستم ایمنی	۱
A2M, ACTG2, Alpha 1 antitrypsin, AMBP, APCS, APOD, APOF, APOM, CETP, chymotrypsin, dehydroisoandrosterone, HDL, homocysteine thiolactone, HP, IL1, Insulin, ITIH4, L-phenylalanine, LDL, MT1G, ORM2, P38 MAPK, phosphorylcholine, PZP, RBP4, SAA4, SERPINA3, SHBG, SLC13A1, SLC37A4, Stat3-Stat3, steroid, TCR, trypsin, TTR	۱۳	۳۳	اختلال سیستم غدد درون‌ریز، بیماری های گوارشی، اختلال متابولیک	۲
		T2		
A2M, APCS, APOA1, Apoc1, APOC1, APOF, APOL1, Collagen type IV, ERK1/2, FETUB, GPR 119, HBA1/HBA2, HDL, INSULIN, ITIH4, Kallikrein, KLK4, KLK14, Laminin (complex), LGALS3BP, MT1F, NFkB (complex), P38 MAPK, PCOLCE2, phosphorylcholine, SAA2, SERPINC1, SERPING1, SHBG, SLC37A4, Sos, trypsin	۱۲	۳٤	متابولیسم لیپید، حمل و نقل مولکولی، بیوشیمی مولکول‌های کوچک	۱
AMBP, ARNT2, BDNF, C3, CD44, CFI, ECM1, EP300, FURIN, heparin, HNF4A, hyaluronic acid, IL13, ITIH1, ITIH3, ITIH5, PPARA, PTX3, SPINT2, SREBF1, TGFB1, THBS1, TNFAIP6, VTN	۲	٤	مسیرهای سیگنالینگ سلولی و برهمکنش با سایر پروتئین‌ها، توسعه و عملکرد سیستم هماتولوژی، سیستم ایمنی	۲

بحث

در پژوهش حاضر تاثیر جراحی LGP بر روی پروتئوم سرم بیمارانی که تحت عمل جراحی قرار گرفته‌اند بررسی شده است. با توجه به مطالعات پیشین که مشخص گردید در ماه‌های اولیه پس از جراحی LGP، کاهش وزن قابل توجهی رخ می‌دهد،[۱٦] دو زمان در ٦ ماه اولیه پس از جراحی جهت بررسی مد نظر قرار گرفت. با بکارگیری تکنیک شات‌گان پروتئومیکس، ۲۲۷ پروتئین شناسایی گردید و ۱٥٦ پروتئین اندازه‌گیری کمی شد. ۲٤ پروتئین در T۱، تفاوت معنادار در

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

مقدار داشتند که از این میان ۱۲ پروتئین افزایش مقدار و ۱۲ پروتئین کاهش مقدار نشان دادند و در T۲، ۱۶ پروتئین شامل ۱۰ پروتئین با افزایش مقدار و ٦ پروتئین با کاهش مقدار شناسایی شد.

تغییر در مقدار پروتئین‌های سرم بازتابی از یک فرآیند بیولوژیکی رخ داده در بدن می‌باشد. با توجه به نتایج، جراحی LGP اثر قابل ملاحظه‌ای بر روی پروتئوم سرم دارد و این نکته با توجه به این‌که بافت معده پس از جراحی LGP دستخوش هیچ‌گونه تغییری نمی‌شود و هیچ قسمتی از بخش‌های ترشحی معده جدا نمی‌گردد، درخور اهمیت است. بررسی دقیق پروتئین‌های تغییر یافته حاکی از آن است که اکثر پروتئین‌هایی که تغییرات معنادار داشتند، در کاهش وزن پس از رژیم غذایی و یا جراحی چاقی از نوع بای پس معده و اسلیو معده که محبوبیت بسیار بالایی دارند، گزارش شده است. به عنوان مثال، RBP4 که توسط سلول‌های چربی ترشح می‌شود، در افراد چاق و مبتلایان به مقاومت به انسولین افزایش می‌یابد. این آدیپوکین در متابولیسم لیپید، گلوکز، تنظیم عملکرد انسولین و هم‌چنین در فرآیندهای التهابی نقش دارد.[۱۷] پیشنهاد شده است که پایین آوردن غلظت RBP4 در سرم خون سبب بهبود حساسیت به انسولین می‌شود.[۱۸-۱۹] در مطالعه حاضر، کاهش معناداری در سطح RBP4 در زمان اول پس از جراحی مشاهده شد که همسو با مطالعات پیشین پس از جراحی گاستریک باندینگ و بای پس معده می‌باشد.[۱۹] سطح آپولیپوپروتئین‌های خون در ابتلا به بیماری های قلبی-عروقی و بیماری‌های متابولیک نقش مهمی را ایفا می‌کند. تغییرات در سطح تعدادی از آپولیپوپروتئین‌ها پس از جراحی بای‌پس معده به طریق Roux-en-Y گزارش شده است. به عنوان مثال افزایش در سطح APOD و افزایش در نسبت APOA1 به APOA2 در پلاسمای خون بیماران پس از جراحی مشاهده شد که می‌تواند منجر به افزایش آپولیپوپروتئین پرچگال ۲ (HDL2) شود که خود در بهبود بیماری‌های قلبی-عروقی پس از جراحی نقش دارد.[۸] در مطالعه حاضر نیز هم راستا با گزارش‌های ذکر شده، در T۱ سطح APOD که در انتقال سلولی لیگاندهای هیدروفوبیک کوچک مثل پروژسترون، کلسترول و اسیدهای چرب آزاد نقش دارد،[۲۰] افزایش یافته و در T۲ افزایش سطح APOA1 (بدون تغییر در سطح APOA2 و در نتیجه افزایش نسبتAPOA1 به APOA2) مشاهده گردید. APOM نیز که در هموستاز لیپیدها نقش دارد، همراه با افزایش مقدار در مطالعه حاضر در T۱ بوده است. SAA به عنوان یک آدیپوکین که از بافت چربی سفید ترشح می‌شود، از نظر بالینی شاخص مناسبی برای التهاب بوده و با افزایش خطر ابتلا به بیماری‌های قلبی-عروقی ارتباط زیادی دارد. افزایش در سطح SAA خون نشانگر مناسبی از افزایش احتمال خطر اختلالات قلبی-عروقی می‌باشد.[۲۱] هم‌چنین مشخص شده است که SAA با چاقی و متابولیسم لیپیدها در ارتباط است و با BMI همبستگی نشان می‌دهد. این پروتئین دارای ٤ ایزومر می‌باشد که سه تای آن‌ها (SAA1,SAA2,SAA4) در انسان وجود دارد[۲۲،۲۳] و نوع چهارم آن بیش از ۹۰ درصد SAA را در طی هومئوستاز تشکیل می‌دهد.[۲۱] هم‌راستا با مطالعات پیشین که گزارش شده است پس از کاهش وزن در اثر رژیم غذایی[۲٤] و عمل جراحی بای‌پس معده[۱۰] به طریق Roux-en-Y میزان SAA4 کاهش می‌یابد، در مطالعه حاضر نیز درT۱، مقدار این پروتئین کاهش یافت. SHBG با خطر ابتلا به دیابت نوع ۲، بیماری‌های قلبی-عروقی، سندروم متابولیک و سرطان‌های وابسته به تغییرات هورونی ارتباط دارد.[۲۵] مشخص شده است که میزان آن در افراد لاغر نسبت به افراد چاق (در زنان و مردان) بیشتر است[۲٦] و به عنوان یک مارکر شناخته شده در کاهش وزن به حساب می‌آید.[۲٤] هم‌راستا با مطالعات پیشین که افزایش در مقدار این پروتئین پس از کاهش وزن در اثر رژیم غذایی،[۲٤] جراحی بای‌پس معده به طریق Roux-en-Y و اسلیو معده[۲۷] مشاهده شده است، در مطالعه حاضر نیز، مقدار آن در در هر دو زمان مورد بررسی پس از جراحی افزایش یافت.

علاوه بر تغییرات این دسته از پروتئین‌ها یعنی پروتئین‌های شناخته شده در چاقی و کاهش وزن (۱۸ پروتئین از میان ۲٤ پروتئین در T۱ و ۱۰ پروتئین از میان ۱٦ پروتئین در T۲)، با بررسی دقیق گزارش‌های پیشین بر روی پروتئین‌های تغییر یافته و هم‌چنین با در نظر گرفتن عملکردهای زیستی گزارش شده برای آن ها، مشخص گردید که از میان پروتئین‌های باقی‌مانده، تغییرات ۲ پروتئین ناشی از تغییر BMI بوده و می‌تواند برای اولین بار در زمینه کاهش وزن و جراحی چاقی معرفی شوند. درحالی‌که تغییرات پروتئین‌های باقی‌مانده صرفا به دلیل جراحی بوده است. در واقع به کارگیری روش نوین آماده‌سازی نمونه (ممبران PVDF) و پیشرفت‌های اخیر در قدرت تفکیک دستگاه‌های کروماتوگرافی مایع-طیف سنج جرمی و هم‌چنین

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

الگوریتم‌های نوین جستجو در پایگاه‌های اطلاعاتی، امکان شناسایی این ۲ پروتئین که شامل FETUB و CFP می‌باشد را فراهم کرده است. FETUB به عنوان یک آدیپوکین شناخته شده و در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و مقاومت به انسولین افزایش می‌یابد.[۲۸] میزان این پروتئین به طور معناداری در هر دو زمان پس از جراحی کاهش پیدا کرد. CFP نیز در فعال‌سازی سیستم کمپلمان توسط مسیر تناوبی شرکت دارد و هم‌چنین در تغییر متالبولیسم لیپیدها، مقاومت به انسولین و التهاب خفیف موثر می‌باشد.[۲۹] کاهش معناداری در میزان آن پس از جراحی مشاهده شد.

همان‌طور که از جدول ۲ قابل مشاهده است، از بین پروتئین‌هایی که تغییرات معنادار داشتند ۸ پروتئین در هر دو زمان شناسایی شدند و این نشان می‌دهد که تغییرات در مورد این پروتئین‌ها به صورت پایدارتر وجود داشته است. از میان این ۸ پروتئین، پروتئین‌های ITIH3، CFI، SHBG، APCS و APOF در گزارش اخیری که به بررسی اثر کاهش وزن در اثر رژیم غذایی بر روی پروتئوم خون پرداخته است نیز گزارش شده‌اند.[۲۴] پروتئین‌های ذکرشده در مطالعه حاضر با افزایش مقدار در هر دو زمان همراه بودند که الگوی تغییرات مشابه با گزارش ذکر شده را دارند.

امروزه مشخص شده است که جهت انجام یک فرآیند بیولوژیکی خاص، پروتئین‌ها با هم به صورت یکپارچه همکاری می‌کنند. به همین خاطر برای این‌که متوجه بشویم چگونه پروتئین‌های شناسایی شده با تغییرات معنادار با یکدیگر در ارتباط هستند، شبکه برهم‌کنشی آن‌ها را مورد بررسی قرار دادیم. شکل ۱ برهم‌کنش‌های موجود بین این پروتئین‌ها در سطح مولکولی را نشان می‌دهد. بر اساس الگوریتم های IPA به هر شبکه یک امتیاز[i] اختصاص داده می‌شود (با در نظر گرفتن تعداد پروتئین‌های تغییر یافته و همین‌طور اندازه شبکه) که نشان می‌دهد احتمال این‌که پروتئین‌های شناسایی شده با تغییرات معنادار به صورت اتفاقی در آن شبکه قرار گرفته باشند، چقدر است؛[۳۰] هرچه این عدد بزرگتر باشد، این احتمال کمتر است. همان‌طور که گفته شد برهم‌کنش مجموعه‌ای از پروتئین‌ها با یکدیگر عملکردهای زیستی خاصی را سبب می‌شود. مطابق با آنچه IPA پیشنهاد می‌دهد، در زمان T۱ هر دو شبکه دارای امتیاز بالا بوده و پروتئین‌های موجود در این دو شبکه در مسیر سیگنال‌دهی سلولی، اختلال سیستم غدد درون‌ریز و بیماری‌های گوارشی دخیل هستند. در زمان T۲، شبکه اول امتیاز بسیار بالاتری نسبت به شبکه دوم دارد و نشان می‌دهد که پروتئین‌ها در متابولیسم لیپیدها درگیر هستند.

از نقاط قوت مطالعه حاضر می‌توان به استفاده از تکنیک شات‌گان پروتئومیکس جهت مطالعه پروتئوم سرم تحت تاثیر LGP برای اولین بار اشاره کرد. امروزه این تکنیک به عنوان یک ابزار قدرتمند در شناسایی و اندازه‌گیری کمی پروتئین‌ها شناخته می‌شود. بکارگیری کروماتوگرافی مایع جهت جداسازی مخلوط پپتیدها و دستگاه Orbitrap که از قدرتمندترین دستگاه‌های طیف‌سنج جرمی بوده، امکان آنالیز نمونه‌های پیچیده سرم خونی را با دقت بالا و بدون نیاز به حذف پروتئین‌ها با فراوانی بالا (نظیر آلبومین که در تکنیک های ژل کروماتوگرافی مزاحمت ایجاد می‌کنند) فراهم کرد. هم‌چنین، آماده سازی نمونه سرم‌های خونی با استفاده از تکنیکی بر پایه‌ی ممبران (MStern Blotting) که اخیرا معرفی شده است، انجام گردید. ممبران PVDF با اندازه منافذ بزرگ برای جذب سطحی پروتئین‌ها که در پلیت‌های ۹۶ خانه قرار گرفته است، کمک به انتقال سریع محلول و کاهش زمان آماده‌سازی می‌کند و برای آنالیز نمونه‌های کلینیکی با تعداد بالا نسبت به سایر روش‌ها ترجیح داده می‌شود. از جمله محدودیت‌های پژوهش حاضر می‌توان به عدم دسترسی به دستگاه‌های طیف‌سنج جرمی با قدرت تفکیک بالا در کشور، جهت انجام سایر مطالعات پروتئومیکس نظیر مقایسه با جراحی اسلیو معده که نظیر جراحی LGP محدودکننده می‌باشد، اشاره کرد. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی مسیرهای بیولوژیکی[ii] تغییر یافته بررسی شوند تا اطلاعات بیشتری راجع به مکانسیم مولکولی دخیل در کاهش وزن و بهبود بیماری‌های متابولیک پیدا کرد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد که مقدار ۲۴ پروتئین در ۱ تا ۲ ماه پس از عمل جراحی و مقدار ۱۶ پروتئین در ۴ تا ۵ ماه پس از جراحی تفاوت معنادار پیدا می‌کند. از میان این پروتئین ها، تغییرات ۸ پروتئین شامل ITIH3، FETUB، CFI، SHBG، A2M، APCS، LRG1 و APOF به صورت پایدارتر بوده است و در هر دو زمان پس از عمل جراحی نسبت به پیش از عمل شناسایی شد. از میان

i -Score

ii- Pathways

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

پروتئین‌های شناسایی شده با تغییرات معنادار، دو پروتئین شامل FETUB و CFP برای اولین بار در زمینه کاهش وزن و جراحی چاقی می‌تواند معرفی شود. شبکه برهم‌کنشی پروتئین-ها پیشنهاد می‌دهد در زمان ۱ تا ۲ ماه پس از عمل جراحی، پروتئین‌های تغییر یافته در مسیر سیگنال‌دهی سلولی، اختلال سیستم غدد درون‌ریز و بیماری‌های گوارشی و در زمان ٤ تا ٥ ماه پس از جراحی در متابولیسم لیپیدها درگیر هستند. اثر قابل ملاحظه LGP بر روی پروفایل پروتئینی نشان می‌دهد که کوچک شدن حجم معده به تنهایی نمی‌تواند منجر به کاهش وزن سریع در بیماران شود. علاوه بر این تعداد زیادی از پروتئین‌های شناسایی شده با تغییرات معنادار، پس از کاهش وزن در اثر رژیم غذایی نیز گزارش شده‌اند و این نشان می‌دهد که جراحی LGP از امنیت لازم برخوردار می‌باشد. بر پایه نتایج حاصل می‌توان مطالعات جدید با هدف یافتن روش‌های نوین در درمان چاقی را با بررسی عواملی که روی غلظت این پروتئین‌ها تاثیر می‌گذارند پایه‌گذاری کرد. به عنوان مثال پتانسیل ترکیبات طبیعی با هدف قرار دادن بایومارکرهای شناخته شده می‌تواند جهت درمان چاقی و ارائه روش‌های کم‌خطرتر و کم‌هزینه‌تر مورد بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری: بدین‌وسیله نویسندگان مقاله از دانشگاه شهید بهشتی بابت حمایت مالی و همین‌طور از دانشگاه البورگ دانمارک بابت استفاده از دستگاه طیف سنج جرمی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

References

1. Eldar S, Heneghan HM, Brethauer SA, Schauer PR. Bariatric surgery for treatment of obesity. Int J Obes (Lond) 2011; 35: S16-S21.
2. Talebpour M, Amoli BS. Laparoscopic Total Gastric Vertical Plication in Morbid Obesity. J Laparoendosc Adv Surg Tech A 2007; 17: 793-8.
3. Talebpour M, Talebpour A, Barzin G, Moharari RS, Khajavi MR. Effects of laparoscopic gastric plication (LGP) in patients with type 2 diabetes, one year follow-up. J Diabetes Metab Disord 2015; 14: 1-4.
4. Vahidi H, Talebpour A, Tabatabaie O, Talebpour M. Changes in the body composition after laparoscopic gastric plication: a short-term prospective case series. Surg Obes Relat Dis 2016; 12: 577-81.
5. Zhang Y, Fonslow BR, Shan B, Baek M-C, Yates JR. Protein Analysis by Shotgun/Bottom-up Proteomics. Chem Rev 2013; 113: 2343-94.
6. Wienkoop S, Weckwerth W. Relative and absolute quantitative shotgun proteomics: targeting low-abundance proteins in Arabidopsis thaliana. J Exp Bot 2006; 57: 1529-35.
7. Brandacher G, Golderer G, Kienzl K, Werner ER, Margreiter R, Weiss HG. Potential applications of global protein expression analysis (proteomics) in morbid obesity and bariatric surgery. Obes surg 2008; 18: 905-10.
8. Culnan DM, Cooney RN, Stanley B, Lynch CJ. Apolipoprotein A-IV, a putative satiety/antiatherogenic factor, rises after gastric bypass. Obesity 2009; 17: 46–52.
9. Jüllig M, Yip S, Xu A, Smith G, Middleditch M, Booth M, et al. Lower fetuin-A, retinol binding protein 4 and several metabolites after gastric bypass compared to sleeve gastrectomy in patients with type 2 diabetes. PLOS one 2014; 9: e96489.
10. Albrechtsen NJW, Geyer PE, Doll S, Treit PV, Bojsen-Møller KN, Martinussen C,et al. Plasma proteome profiling reveals dynamics of inflammatory and lipid homeostasis markers after Roux-en-Y gastric bypass surgery. Cell Syst 2018; 7: 601-12. e3.
11. Berger ST, Ahmed S, Muntel J, Polo NC, Bachur R, Kentsis A, et al. MStern blotting-high throughput PVDF membrane-based proteomic sample preparation for 96-well plates. Mol Cell Proteomics 2015; 14: 2814–23.
12. Cox J, Mann M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. Nat Biotechnol 2008; 26: 1367-72.
13. Tyanova S, Temu T, Cox J. The MaxQuant computational platform for mass spectrometry-based shotgun proteomics. Nat protoc 2016; 11: 2301.
14. Tyanova S, Temu T, Sinitcyn P, Carlson A, Hein MY, Geiger T, et al. The Perseus computational platform for comprehensive analysis of (prote)omics data. Nat Methods 2016; 13: 731.
15. Ingenuity Systems available from: URL: https://www.qiagenbioinformatics.com/.
16. Talebpour M, Motamedi SMK, Talebpour A, Vahidi H. Twelve year experience of laparoscopic gastric plication in morbid obesity: development of the technique and patient outcomes. Ann Surg Innov Res 2012; 6: 7.
17. 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. N ENGL J MED 2006; 354: 2552-63.
18. Mitterberger MC, Mattesich M, Klaver E, Lechner S, Engelhardt T, Larcher L, et al. Adipokine profile and insulin sensitivity in formerly obese women subjected to bariatric surgery or diet-induced long-term caloric restriction. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2010; 65: 915-23.
19. Haider DG, Schindler K, Prager G, Bohdjalian A, Luger A, Wolzt M, et al. Serum retinol-binding protein 4 is reduced after weight loss in morbidly obese subjects. J Clin Endocrinol Metab 2007; 92: 1168-71.
20. Rassart E, Bedirian A, Do Carmo S, Guinard O, Sirois J, Terrisse L, et al. Apolipoprotein d. Biochim Biophys Acta 2000; 1482: 185-98.
21. Hua S, Song C, Geczy CL, Freedman SB, Witting PK. A role for acute-phase serum amyloid A and high-density lipoprotein in oxidative stress, endothelial dysfunction and atherosclerosis. Redox Rep 2009; 14: 187-96.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

22. Yang R-Z, Lee M-J, Hu H, Pollin TI, Ryan AS, Nicklas BJ, et al. Acute-phase serum amyloid A: an inflammatory adipokine and potential link between obesity and its metabolic complications. PLoS med 2006; 3: e287.
23. Poitou C, Viguerie N, Cancello R, De Matteis R, Cinti S, Stich V, et al. Serum amyloid A: production by human white adipocyte and regulation by obesity and nutrition. Diabetologia 2005; 48: 519-28.
24. Geyer PE, Wewer Albrechtsen NJ, Tyanova S, Grassl N, Iepsen EW, Lundgren J, et al. Proteomics reveals the effects of sustained weight loss on the human plasma proteome. Mol Syst Biol 2016; 12: 1-16.
25. Azrad M, Gower BA, Hunter GR, Nagy TR. Intra-abdominal adipose tissue is independently associated with sex-hormone binding globulin in premenopausal women. Obesity 2012; 20: 1012-5.
26. Fernández-Real J-M, Grasa M, Casamitjana R, Pugeat M, Barret C, Ricart W. Plasma total and glycosylated corticosteroid-binding globulin levels are associated with insulin secretion. J Clin Endocrinol Metab 1999; 84: 3192-6.
27. Boonchaya-anant P, Laichuthai N, Suwannasrisuk P, Houngngam N, Udomsawaengsup S, Snabboon T. Changes in testosterone levels and sex hormone-binding globulin levels in extremely obese men after bariatric surgery. Int J Endocrinol 2016; 2016.
28. Meex RC, Hoy AJ, Morris A, Brown RD, Lo JC, Burke M, et al. Fetuin B Is a Secreted Hepatocyte Factor Linking Steatosis to Impaired Glucose Metabolism. Cell Metab 2015; 22: 1078-89.
29. Gauvreau D, Roy C, Tom FQ, Lu H, Miegueu P, Richard D, et al. A new effector of lipid metabolism: Complement factor properdin. Mol Immunol 2012; 51: 73-81.
30. Ingenuity Systems- QIAGEN available from: URL: http://qiagen.force.com/KnowledgeBase/KnowledgeIPAPage.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]

Original Article

Effect of Laparoscopic Gastric Plication on the Blood Protein Profile of Obese Subjects Using Shotgun Proteomics

Savedoroudi P[1], Talebpour M[2], Ghassempour A[1]

[1]Medicinal Plants and Drugs Research Institute, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran, [2]Laparoscopic Surgery Ward, Sina Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: a-ghassempour@sbu.ac.ir

Received: 08/12/2018 **Accepted**: 16/03/2019

Abstract

Introduction: Nowadays, bariatric surgery is considered to be the most effective technique in the treatment of morbid obesity. In the current study, the effect of Laparoscopic Gastric Plication (LGP), a new technique, on the serum protein profile of obese patients has been investigated following surgery. Materials and Methods: Serum of 16 obese subjects with mean body mass index (BMI) of 41.2±5.3 kg/m2, who underwent LGP was investigated before surgery and at two timepoints post-surgery (T1-1 to 2 months after surgery and T2-4 to 5 months after surgery). Peptide mixtures prepared using Polyvinylidene Fluoride (PVDF) membrane and trypsin enzyme were analyzed by Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Results: In the present study 157 proteins were quantified, and twenty-four proteins showed statistically significant different levels at T1 post-surgery, using paired two -sample t-test (adjusted p-value<0.05); of these, levels of 12 increased, while those of 12 decreased. At T2 post-surgery, 16 proteins were differentially regulated (adjusted p-value<0.05), 10 upregulated proteins and 6 downregulated proteins. Conclusion: Due to the significant effect of bariatric surgery on the protein profile of patients, it is possible to study the impact of effective factors on the identified biomarkers and find a new strategy for obesity treatment in the future.

Keywords: Proteomics, Bariatric surgery, Obesity, Mass spectrometry

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1397.20.6.4.7]