ارتباط متقابل پلی مورفیسم CETP Taq1B و مقدار چربی دریافتی بر سطح HDL-c با توجه به وضعیت پروفایل لیپید در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲

زهرا کلانتر: کارشناس ارشد علوم بهداشتی در تغذیه، گروه تغذیه سلولی و مولکولی دانشکده تغذیه و رژیم شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. zahrakalantar63@yahoo.com
مریم محمودی: استادیار، گروه تغذیه سلولی و مولکولی دانشکده تغذیه و رژیم شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. mahmoodi_maryam@yahoo.com
گیتی ستوده: دانشیار، گروه تغذیه جامعه دانشکده تغذیه و رژیم شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. gsotodeh@tums.ac.ir
آناهیتا منصوری: استادیار، مرکز تحقیقات تغذیه و بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران. mansoori_anahita@yahoo.com
محمود جلالی: استاد، گروه تغذیه سلولی و مولکولی دانشکده تغذیه و رژیم شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. jalalikh@sina.tums.ac.ir
محمدرضا اشراقیان: استاد، گروه آمار و اپیدمیولوژی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. تلفن: ۰۲۱۴۲۹۳۳۲۲۱ eshraghian@tums.ac.ir
* **فریبا کوهدانی**: دانشیار، گروه تغذیه سلولی و مولکولی دانشکده تغذیه و رژیم شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران (*نویسنده مسئول). fkoohdan@tums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۲۷

چکیده

زمینه و هدف: اختلال لیپید از مشکلات اصلی افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ و از دلایل اصلی بیماری‌های قلبی و عروقی می‌باشد. در این مطالعه ارتباط بین پلی مورفیسم CETP Taq1B و HDL-*c* در افراد دارای اختلال لیپیدی و طبیعی مبتلا به دیابت نوع ۲ ساکن تهران با دریافت‌های مختلف چربی بررسی شد.

روش کار: در این مطالعه مقطعی مقایسه‌ای ۱۸۴ نفر مبتلا به دیابت نوع ۲ بررسی شدند. اطلاعات از تکمیل پرسش‌نامه بسامد خوراک، انجام بررسی‌های تن‌سنجی و اندازه‌گیری سطوح لیپیدی سرم به دست آمد. پلی مورفیسم با روش PCR-RFLP بررسی شد. از آزمون‌های Chi-Square، ANOVA و ANCOVA جهت تجزی و تحلیل آماری استفاده شد.

یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ B1B1 بر اساس وضعیت پروفایل لیپید افراد تفاوت معنی دار داشت (p=۰/۰۱۴). بین پلی مورفیسم و سطح HDL-*c* ارتباط معنی‌داری دیده نشد. برهمکنش بین پلی مورفیسم و مقدار مصرف چربی کل بر سطح HDL-*c* در افراد بدون اختلال لیپید وجود داشت (P*interaction*=۰/۰۲۸)، اما در افراد دارای اختلال لیپید برهمکنشی دیده نشد. در افرادی که چربی کل پایین تری دریافت می کردند، در ژنوتیپ B2B2 نسبت به ژنوتیپ B1B1 سطح HDL-*c* به طور معنی داری بالاتر بود (p=۰/۰۳۰).

نتیجه‌گیری: ژنوتیپ B1B1 احتمال ابتلا به اختلال لیپید در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ را بالا می‌برد. دریافت چربی کل رژیم غذایی بر ارتباط بین پلی‌مورفیسم CETPTaq1B و سطح HDL-*c* در بیماران بدون اختلال لیپید موثر است.

کلیدواژه‌ها: اختلال لیپید، پلی مورفیسم CETP Taq1B، چربی رژیمی، HDL کلسترول، دیابت نوع ۲

مقدمه

دیابت نوع ۲ یک بیماری چند علیتی ناشی از عوامل سبک زندگی، محیط و فاکتورهای ژنتیکی است (۱). شیوع دیابت در جهان رو به افزایش است. ۲۸۵ میلیون نفر بین سنین ۲۰ تا ۷۹ سال در سال ۲۰۱۲ مبتلا به این بیماری بوده‌اند و بنابر تخمین سازمان جهانی بهداشت تا سال ۲۰۳۰ به ۴۳۹ میلیون نفر خواهد رسید (۲). در ایران نیز آمار نشان می‌دهند که در حدود ۷/۷ درصد افراد ۲۵ تا ۶۵ سال مبتلا به دیابت هستند و طبق بررسی‌های انجام شده ایران جزو کشورهایی است که بروز دیابت در آن رو به افزایش می‌باشد (۳).

اختلال لیپید از مشکلات اصلی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشد و آن‌ها را در معرض خطر بالا برای بیماری‌های آترواسکلروز قرار می‌دهد (۴، ۵). اختلال لیپید در دیابتی‌ها با سطح بالای TG (تری گلیسیرید) و VLDL (کلسترول با دانسیته بسیار پایین) و سطح پایین HDL-c (کلسترول با دانسیته بالا) همراه با LDL-c (کلسترول با دانسیته پایین) کوچک، چگال تر و آتروژن تر همراه است (۶, ۷). حدود ۵۰ درصد بیماران دیابتی نوع ۲ به دلیل بیماری‌های قلبی-عروقی

می‌میرند که دلیل اصلی آن گرفتگی عروق است (۸). فاکتورهای محیطی مانند دریافت چربی (۹) و ژنتیک بر غلظت لیپوپروتئین‌های پلاسما تأثیر می‌گذارند (۱۰). چندین ژن شامل ژن لیپوپروتئین لیپاز (۱۱)، ژن آپولیپوپروتئین AI و ژن آپولیپوپروتئین AII (۱۲) و همچنین ژن پروتئین انتقال دهنده کلسترول استر (CETP) در کنترل متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین‌ها به‌ویژه HDL-c، در بدن انسان نقش دارند (۱۳). به این ترتیب که CETP از طریق انتقال کلسترول استریفیه شده از HDL-c به لیپوپروتئین‌های دارای آپولیپوپروتئین B مانند LDL و VLDL و تعویض آن با TG شرکت می‌کند؛ بنابراین آتروژنسیتی را در آن‌ها بالا برده و موجب تسریع کاتابولیسم HDL-c غنی از TG از طریق هپاتیک لیپاز می‌شود و به این صورت بر غلظت HDL-c اثر منفی می‌گذارد. از طرف دیگر CETP کلسترول استر را از HDL3 به HDL2 منتقل می‌کند و انتقال کلسترول استر را از بافت‌های محیطی به کبد تسهیل می‌کند و در روند انتقال معکوس کلسترول شرکت می‌کند (۱۴).

در جمعیت با پروفایل لیپیدی طبیعی غلظت CETP پلاسما بسیار متغیر است و از فاکتورهای محیطی شامل سیگار، الکل، فعالیت بدنی و ژنتیک متأثر می‌شود (۱۵-۱۹). همچنین فعالیت CETP از دریافت چربی رژیم تأثیر می‌پذیرد که این خود سطوح لیپوپروتئین‌ها را تغییر می‌دهد. ارتباط اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع بر فعالیت CETP در مطالعات انسانی نیز دیده شده است. این یافته‌ها نشان می‌دهند که مقدار و نوع چربی فعالیت CETP را تنظیم می‌کند (۱۵، ۱۶).

پلی مورفیسم رایج در اینترون ۱ ژن CETP، Taq1B (rs 708272) است که این پلی مورفیسم به صورت یک تغییر پایه‌ای خاموش با تبدیل گوانین به آدنین در جایگاه نوکلئوتید ۲۷۷ در اولین اینترون این ژن اتفاق می‌افتد (۱۷). آلل شامل جایگاه اندونوکلئاز Taq1، B1 نام دارد؛ در حالی که آلل بدون این جایگاه B2 نام دارد. آلل غیر شایع B2 با افزایش سطح HDL-c، کاهش فعالیت CETP ارتباط دارد (۱۳). با توجه به نتایج به دست آمده از مطالعات مختلف، تغییرات در چربی رژیم غذایی روی غلظت CETP پلاسما و در نتیجه HDL-c اثر می‌گذارد (۱۵، ۱۶). در مطالعه Li و همکاران ارتباط متقابل بین پلی مورفیسم CETP Taq1B و کل چربی دریافتی، چربی حیوانی دریافتی، چربی اشباع دریافتی (SFA) و چربی تک غیراشباع دریافتی (MUFA) با غلظت HDL-c پلاسما در مردان مبتلا به دیابت معنی‌دار بود (۱۸)، اما در یک پژوهش کارآزمایی بالینی ژنوتیپ CETP Taq1B اثر معنی‌داری بر تغییر فراسنج‌های لیپید هنگامی‌که چربی رژیم تغییر می‌کند را نشان داده نشد (۱۹).

بنابراین در این مطالعه علاوه بر مقایسه فراوانی ژنوتیپ CETP Taq1B، ارتباط بین ژنوتیپ CETP Taq1B و HDL-c در افراد دارای اختلال لیپیدی (TG و TC بالا) و بدون اختلال لیپید مبتلا به دیابت نوع ۲ ساکن تهران با دریافت‌های مختلف نوع و مقدار چربی مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

این مطالعه بخشی از یک مطالعه بزرگ‌تر با ۸۱۶ شرکت‌کننده می‌باشد. این مطالعه به صورت مقطعی مقایسه‌ای انجام شد و در آن ۱۸۴ شرکت‌کننده مبتلا به دیابت نوع ۲ با عدم مصرف داروهای کاهنده لیپید انتخاب شدند. سپس با توجه به وضعیت پروفایل لیپید به دو گروه تقسیم شدند؛ افراد دیابتی نوع ۲ مبتلا به اختلال لیپید (TG≥150 و TC≥200میلی‌گرم بر دسی لیتر) و افراد دیابتی نوع ۲ بدون اختلال لیپید (TG<150 و TC<200 میلی‌گرم بر دسی لیتر) بود. به این ترتیب ۵۵ نفر مبتلا به دیابت نوع ۲ و اختلال لیپید و ۱۲۹ نفر مبتلا به دیابت نوع ۲ که از لحاظ وضعیت لیپید طبیعی بودند، مورد بررسی قرار گرفتند.

روش ارزیابی اطلاعات عمومی، تن‌سنجی، اطلاعات مربوط به رژیم غذایی، اطلاعات مربوط به فعالیت بدنی و همچنین آزمایش‌های بیوشیمیایی قبلاً منتشر شده است (۲۰).

بررسی ژنوتیپ: از DNA ژنومی استخراج شده (۲۱) قطعات ژنی مورد نظر با استفاده از روش

Polymerase Chain Reaction (PCR) تکثیر شد و با تکنیک Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ژنوتیپ‌ها تعیین شدند. یک قطعه ۵۳۵ جفت بازی از اینترون ۱ ژن CETP با استفاده از روش PCR و با پرایمرهای زیر تکثیر شد:

Forward 5'-CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGT G-3'

Reverse 5'-TG AGC CCA GCC GCA CAC TAA C-3'

واکنش PCR در حجم ۲۵ µl و غلظت ۰/۲ µM از هر پرایمر، ۱۰ میکرولیتر مستر میکس 2x (Ampilicon co.) و میزان ۵۰ نانوگرم از DNA، در ۳۵ سیکل شامل ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ سانتی‌گراد، ۳۰ ثانیه در دمای ۵۸ سانتی‌گراد و ۴۰ ثانیه در دمای ۷۲ سانتی‌گراد در دستگاه PEQlab انجام شد. به‌منظور شناسایی جهش مورد نظر، از آنزیم محدودکننده Taq I (Thermo Scientific) استفاده شد. به اندازه ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR به همراه ۱۰ واحد آنزیم ۱x در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و در دمای ۶۵ سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شد. پس از اتمام واکنش، کل مخلوط بر روی ژل آگارز ۲٪ - حاوی سایبرگرین (۱ میکرولیتر به ازای ۱۰ میلی‌لیتر ژل آگارز) (DNA safe stain, SinaClon co.) - در بافر 1X TAE با ولتاژ ۱۰۰ ولت در حدود ۴۰ دقیقه رانده شد. از ladder 100 bp (سیناژن) جهت تشخیص باندهای PCR استفاده شد. سپس با نور UV مشاهده و از آن عکس‌برداری گردید. حضور جایگاه برای آنزیم Taq1 در اینترون ۱ به‌عنوان B1 و نبود آن به‌عنوان B2 شناخته می‌شود. قطعه ۵۳۵bp نشان‌دهنده نبود جایگاه Taq1 (ژنوتیپ B2B2)، دو قطعه ۳۶۱bp و ۱۷۴bp نشان‌دهنده حضور جایگاه (ژنوتیپ B1B1) و سه قطعه ۵۳۵ bp و ۳۶۱ و ۱۷۴ نشان‌دهنده هتروزیگوت بودن جایگاه محدود (ژنوتیپ B1B2) است.

برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نسخه ۱۶ نرم‌افزار SPSS استفاده شد. نرمال بودن توزیع متغیرها با استفاده از آزمون kolmogorov smirnov سنجیده شد و ازآنجاکه متغیرها دارای توزیع نرمال نبودند از log آن‌ها در مقایسه‌ها استفاده شد. از آنالیزهای Chi-Square جهت مقایسه فراوانی آلل‌ها و ژنوتیپ‌ها و همچنین مقایسه متغیرهای کیفی مورد بررسی بین افراد دارای اختلال لیپید و افراد بدون اختلال لیپید و از آزمون رگرسیون لجستیک برای نشان دادن این‌که اختلاف بین کدام ژنوتیپ است استفاده شد. از روش ANOVA برای مقایسه میانگین غلظت فراسنج‌های لیپید در ژنوتیپ‌های مختلف استفاده شد. مدل آنالیز واریانس دو طرفه (two-way ANOVA) برای دیدن برهمکنش استفاده شد. جهت کنترل مخدوش گرها از آزمون ANCOVA استفاده شد. t-test برای تعین تفاوت آماری بین میانگین‌ها در گروه‌های مختلف استفاده شد. بین متغیرهایی که به‌عنوان مخدوش گر فرض شدند آزمون collinearity انجام شد. $P<0/05$ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

این مطالعه با هدف بررسی ارتباط متقابل پلی مورفیسم CETP Taq1B و مقدار چربی کل دریافتی بر سطح HDL-c در افراد دارای اختلال لیپید (TG و TC بالا) و بدون اختلال لیپید (TG و TC طبیعی) مبتلا به دیابت نوع ۲ انجام شد. گروه‌ها ازنظر متغیرهای کیفی و کمی با هم مقایسه شدند (جدول ۱). به دلیل این‌که داده‌ها دارای توزیع نرمال نبودند از لگاریتم آن‌ها در تحلیل‌ها استفاده شد.

مطالعه حاضر نشان داد که توزیع ژنوتیپ در دو گروه دارای اختلال لیپید و بدون اختلال لیپید ازنظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/014$) (جدول ۲) که این اختلاف که در تعادل هاردی-واینبرگ قرار نداشت. همچنین ۲۰ درصد افراد مبتلا به اختلال لیپید و ۶/۲ درصد افراد بدون اختلال لیپید دارای ژنوتیپ B1B1 بودند که بر اساس آزمون رگرسیو لجستیک این اختلاف معنی‌دار بود ($OR=4/044$ و $P=0/006$).

بین پلی مورفیسم و سطح HDL-c در هیچ‌یک از گروه‌های مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری دیده

جدول ۱- مقایسه متغیرهای کمی و کیفی بین افراد دارای اختلال لیپید (TG≥150mg/dl و TC≥200mg/dl) و افراد بدون اختلال لیپید (TG<150mg/dl و TC<200mg/dl)

متغیر	افراد دارای اختلال لیپید (TC≥200mg/dl و TG≥150mg/dl) n=۵۵	افراد بدون اختلال لیپید (TC<200mg/dl و TG<150mg/dl) n=۱۲۹	P
جنس			۰/۶۸۶
مرد	۲۰(۳۶/۴)[1]	۵۱(۳۹/۵)	
زن	۳۵(۶۳/۶)	۷۸(۶۰/۵)	
استعمال سیگار			۰/۸۷۷
دارد	۱۰(۱۸/۲)	۲۲(۱۷/۱)	
ندارد	۴۵(۸۱/۸)	۱۰۷(۸۲/۹)	
مصرف الکل			۰/۶۲۴
دارد	۱(۱/۸)	۴(۳/۱)	
ندارد	۵۴(۹۸/۲)	۱۲۵(۹۶/۹)	
سابقه خانوادگی دیابت			۰/۰۶۴
دارد	۵۱(۹۲/۷)	۱۰۶(۸۲/۲)	
ندارد	۴(۷/۳)	۲۳(۱۷/۸)	
زمان تشخیص دیابت			۰/۹۱۱
۵< سال	۴(۷/۳)	۱۰(۷/۸)	
۵≥ سال	۵۱(۹۲/۷)	۱۱۹(۹۲/۲)	
سن(سال)	۵۳/۹±۰/۷[2]	۵۲/۸±۰/۵	۰/۱۴۲
وزن(kg)	۷۸/۱±۱/۹	۷۵/۷±۱/۳	۰/۲۴۲
دور کمر(cm)	۹۴/۰۱±۱/۳	۹۰/۸±۱/۱	۰/۰۶۳
BMI (kg/m^2)	۲۹/۹±۴/۴	۲۸/۶±۵/۲	۰/۰۵۱
فعالیت بدنی(METs/wk)	۳۷/۷±۰/۶	۳۸/۷±۰/۴	۰/۲۱۴
انرژی(kcal/d)	۲۷۱۰±۱۲۶/۳	۲۶۲۴±۸۷/۶	۰/۴۸۶
چربی کل (٪انرژی)	۳۵/۸±۱/۱	۳۵/۳±۰/۶	۰/۹۶۷
چربی اشباع(٪انرژی)	۹/۵±۰/۲	۹/۷±۰/۲	۰/۴۳۳
چربی غیر اشباع(٪انرژی)			
PUFA	۸/۵±۰/۴	۸/۵±۰/۲	۰/۷۶۵
MUFA	۱۱/۸±۰/۴	۱۲/۰۹±۰/۲	۰/۳۴۳
کربوهیدرات(٪انرژی)	۵۳/۱±۰/۹	۵۲/۸±۰/۷	۰/۹۶۵
فیبر(g)	۱۶/۳±۰/۶	۱۶/۹±۰/۵	۰/۵۶۳
کلسترول دریافتی(g)	۲۲۶/۸±۱۲/۹	۲۳۴/۲±۱۷/۸	۰/۷۹۷
HDL-c (mg/dl)	۵۲/۸± ۱/۴	۵۲/۵±۱/۰	۰/۶۹۲
LDL-c (mg/dl)	۱۴۴/۷±۴/۶	۱۰۴/۰±۲/۳	۰/۰۰۰
TG/HDL	۴/۳±۲/۰	۲/۰±۰/۰۷	۰/۰۲۷
TC/HDL	۴/۵±۰/۱	۳/۲±۰/۰۶	۰/۰۰۲
LDL/HDL	۲/۸±۰/۰۸	۲/۰±۰/۰۵	۰/۰۰۳

۱ تعداد (درصد) آزمون کای دو (χ^2)

۲ mean±SE (میانگین ± خطای استاندارد)، آزمونt -test

Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP), Body Mass Index (BMI), Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA), Mono Unsaturated Fatty Acid (MUFA) ,High Density Lipoprotein cholesterol (HDL-c), Low Density Lipoprotein cholesterol (LDL-c), Triglyceride (TG),Total Cholesterol (TC)

نشد (شکل ۱). با این حال افراد با ژنوتیپ B2B2 سطح HDL-c بالاتری در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر داشتند و افراد با ژنوتیپ B1B2 در هر دو گروه دارای کمترین سطح HDL-c بودند اما این تفاوت‌ها معنی‌دار نبودند (P>۰/۰۵).

جهت بررسی اثر چربی بر رابطه بین پلی

جدول ۲- مقایسه فراوانی ژنوتیپ و آلل های مختلف پلی مورفیسم CETP Taq1B در افراد دارای اختلال لیپید (TG≥150mg/dl و TC≥200mg/dl) و افراد بدون اختلال لیپید (TG<150mg/dl و TC<200mg/dl)

ژنوتیپ	افراد دارای اختلال لیپید (TG≥150mg/dl و TC≥200mg/dl) n=۵۵ (درصد) تعداد	افراد بدون اختلال لیپید (TG<150mg/dl و TC<200mg/dl) n=۱۲۹ (درصد) تعداد	P
B_1B_1	۱۱(۲۰)	۸(۶/۲)	
B1B2	۳۴(۶۱/۸)	۱۰۰(۷۷/۵)	
B2B2	۱۰(۱۸/۲)	۲۱(۱۶/۳)	۰/۰۱۴
کل	۵۵(۱۰۰)	۱۲۹(۱۰۰)	
آلل			
B1	۲۷(۴۹/۱)	۶۱(۴۷/۳)	۰/۸۳۲
B2	۲۸(۵۰/۹)	۶۸(۵۲/۷)	

از آزمون کای دو (χ^2) استفاده شد

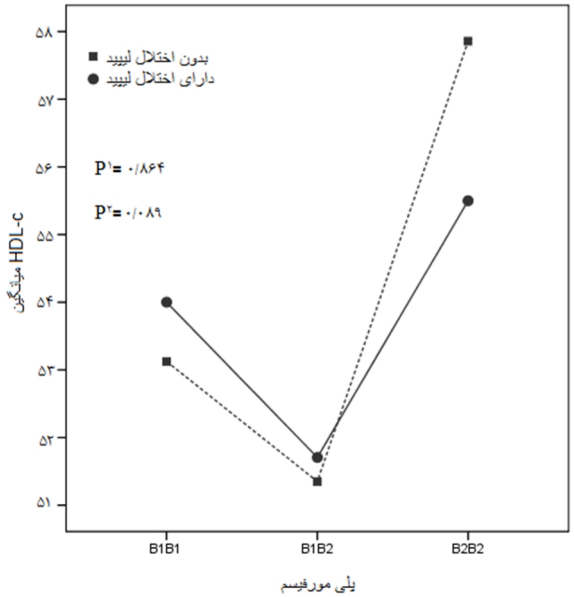
Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP)

مورفیسم و سطح HDL-c افراد بر اساس میانه درصد دریافت چربی از انرژی کل (۳۴/۹٪) به دو گروه تقسیم شدند. برهمکنش معنی‌دار بین ژنوتیپ و مقدار مصرف چربی کل بر HDL-c در افراد بدون اختلال لیپید وجود داشت (Pinteraction=۰/۰۲۸) به‌طوری‌که این ارتباط در ژنوتیپ B1B1 در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها تفاوت قابل‌مشاهده داشت (شکل ۲)، به‌علاوه HDL-c افرادی که ژنوتیپ B2B2 داشتند در مقایسه با افرادی که ژنوتیپ B1B1 داشتند هنگامی‌که چربی کمتر از حد میانه دریافت می‌کردند، به‌طور معنی‌داری بالاتر بود (P=۰/۰۳۰) (شکل ۲)؛ در حالی که این ارتباط هنگامی‌که چربی بالاتر از میانه دریافت شده بود، دیده نشد (آمار مربوط به این قسمت نشان داده نشده است). در افراد دارای اختلال لیپید هیچ برهمکنش معنی‌داری دیده نشد (شکل ۲). همچنین بین پلی مورفیسم و دریافت SFA، PUFA (چربی چند غیراشباع) و MUFA بر سطح HDL-c برهمکنش معنی‌داری دیده نشد (نتایج نشان داده نشده‌اند).

بحث و نتیجه‌گیری

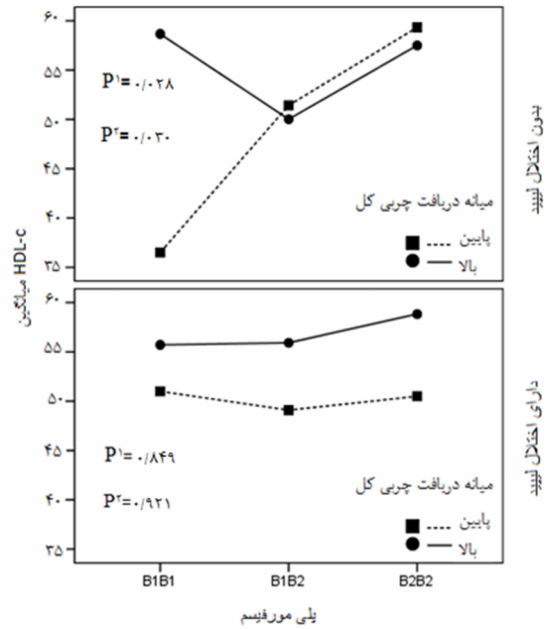
یافته‌های به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که تفاوت توزیع فراوانی ژنوتیپ‌ها بین افراد دارای اختلال لیپید و بدون اختلال لیپید ازنظر آماری معنی‌دار بود (جداول ۳ و ۴). این یافته نشان می‌دهد ژنوتیپ B1B1 احتمالاً می‌تواند عامل خطر محسوب شود و خطر ابتلا به اختلال لیپید را در افراد دیابتی بالا ببرد. Wu و همکاران نشان دادند که ژنوتیپ B1B1 در گروه مبتلا به CHD فراوانی بیش‌تری در مقایسه با گروه شاهد دارد (۲۲). مطالعه حسن‌زاده و همکاران روی افراد سالم و مبتلا به اختلال لیپید ژنوتیپ B1B1 را در گروه مورد ۲۴/۵ درصد و در گروه شاهد ۱۸/۲ درصد گزارش کردند که این اختلاف معنی‌دار بود به‌علاوه برای ژنوتیپ B2B2 نقش محافظت‌کننده دیده شد (۲۳).

باوجود این‌که بین فراسنج‌های لیپید و پلی مورفیسم CETP Taq1B ارتباط معنی‌داری نشان داده نشد اما افراد با ژنوتیپ B2B2 دارای HDL-c بالاتری بودند، بنابراین ژنوتیپ B2B2 نقش محافظت‌کننده خود را در برابر پایین بودن سطح HDL-c نشان می‌دهد. گزارش شده که روابط ژن-فاکتورهای محیطی و ژن-رژیم غذایی ممکن است روی ارتباط بین فراسنج‌های لیپید و پلی مورفیسم CETP Taq1B مؤثر باشند (۲۴). در مطالعه حاضر نیز مشاهده می‌شود که با ورود متغیر دریافت چربی کل، ارتباط پلی مورفیسم و سطح HDL-c در افراد بدون اختلال لیپید تحت تأثیر قرار گرفت، بنابراین ممکن است دریافت چربی کل از رژیم غذایی بر این ارتباط در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ که دارای پروفایل لیپید طبیعی هستند، مؤثر باشد. مکانیسم این اثر نامشخص است. مطالعه Li و همکاران بر روی ۷۸۰ مرد



شکل ۱- مقایسه میانگین لگاریتم HDL-c در سه ژنوتیپ مربوط به پلی مورفیسم CETP Taq1B دو گروه دارای اختلال لیپید (TG≥150mg/dl و TC≥200mg/dl) و بدون اختلال لیپید (TG<150mg/dl و TC<200mg/dl)

P¹ : مقایسه میانگین لگاریتم HDL-c بین ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم CETP Taq1B تعدیل شده برای انرژی و دریافت اسیدهای چرب اشباع شده (SFA) در گروه دارای اختلال لیپید، با استفاده از آزمون ANCOVA، P² : مقایسه میانگین لگاریتم HDL-c بین ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم CETP Taq1B تعدیل شده برای انرژی و دریافت اسیدهای چرب اشباع شده (SFA) در گروه بدون اختلال لیپید، با استفاده از آزمون ANCOVA، High Density Lipoprotein cholesterol (HDL-c) , Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP)



شکل ۲- مقایسه میانگین HDL-c افراد دارای ژنوتیپ های مختلف و دریافت های مختلف چربی کل بین دو گروه دارای اختلال لیپید (TG≥150mg/dl و TC≥200mg/dl) و بدون اختلال لیپید (TG<150mg/dl و TC<200mg/dl) و برهمکنش بین پلی مورفیسم و دریافت چربی کل

دریافت چربی کل بر اساس میانه درصد دریافتی از انرژی کل (۳۴/۹٪) به دو گروه تقسیم شد.

P¹ : برهمکنش پلی مورفیسم CETP Taq1B و مقدار دریافت چربی کل بر لگاریتم HDL-c ، تعدیل شده برای انرژی و دریافت اسیدهای چرب اشباع شده (SFA)، با استفاده از آزمون ANCOVA، P² : مقایسه میانگین لگاریتم HDL-c در میانه پایین دریافت چربی کل بین ژنوتیپ های مختلف پلی مورفیسم CETP Taq1B تعدیل شده برای انرژی و دریافت اسیدهای چرب اشباع شده (SFA)، با استفاده از آزمون ANCOVA، High Density Lipoprotein cholesterol(HDL-c), Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP)

مبتلا به دیابت نوع ۲ نشان داد که بین پلی مورفیسم و دریافت چربی کل بر سطح HDL-c برهمکنش وجود دارد (۱۸)، در حالی که مطالعه حاضر نشان داد که این برهمکنش ممکن است

تحت تأثیر وضعیت پروفایل لیپید در این بیماران باشد.

افراد دیابتی مبتلا به اختلال لیپید در مطالعه حاضر دارای این ویژگی‌ها بودند: ۱- بالاتر بودن فراوانی ژنوتیپ B1B1 و در نتیجه افزایش فعالیت CETP (۱۳، ۲۳، ۲۵)، در نتیجه افزایش لیپوپروتئین‌های غنی از TG و افزایش سنتز کلسترول و افزایش کلسترول کبدی و در نتیجه کاهش گیرنده‌های LDL (۲۶)؛ ۲- نسبت TG/HDL بالاتر نسبت به افراد بدون اختلال لیپید و در نتیجه مقاومت به انسولین بالاتر (۲۷) که در نهایت احتمالاً این عوامل می‌توانند بر برهمکنش بین پلی مورفیسم و دریافت چربی کل بر فراسنج‌های لیپید تأثیرگذار باشد. به‌علاوه مطالعه حاضر نشان داد که این ارتباط متقابل بین پلی مورفیسم و دریافت چربی کل در افراد دارای ژنوتیپ B1B1 نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر محسوس‌تر است. ژنوتیپ B1B1 با افزایش فعالیت CETP همراه است و به همین دلیل موجب پایین بودن سطح HDL-c می‌شود (۱۳، ۲۵). از طرف دیگر بر اساس مطالعات انجام شده دریافت بالای چربی کل موجب افزایش سطح HDL-c می‌شود (۹، ۲۸)؛ بنابراین می‌توان گفت که در افرادی که دارای ژنوتیپ B1B1 هستند و به اختلال لیپید دچار نیستند، احتمالاً با افزایش دریافت چربی کل می‌توان سطح HDL-c را در آن‌ها بالا برد و در نهایت می‌توان این‌طور نتیجه گرفت که ممکن است نقش منفی ژنوتیپ B1B1 به‌عنوان عاملی که موجب پایین بودن سطح HDL-c می‌شود با دریافت بالای چربی کل از بین برود. مطالعه Aitken و همکاران روی ۳۵ فرد با ژنوتیپ B1B1 در مقایسه با ۳۵ فرد دارای یک یا دو آلل B2 با مداخله رژیم‌های چربی اشباع و چند غیراشباع، هیچ برهمکنشی را بین ژنوتیپ‌های Taq1B و مقدار دریافت SFA و چربی‌های چند غیراشباع (PUFA) از رژیم غذایی بر سطح فراسنج‌های لیپید نشان نداد که نتایج آن با یافته‌های مطالعه حاضر همسو می‌باشد (۱۹). فعالیت CETP با بالا رفتن دریافت SFA افزایش می‌یابد (۱۵). مطالعه Tholstrup و همکاران گزارش کردند که MUFA موجب افزایش فعالیت CETP نمی‌شود (۲۹)، در حالی که دو مطالعه دیگر تأثیر کاهشی دریافت MUFA و PUFA را بر فعالیت CETP نشان دادند (۱۵, ۱۶). این مطالعات نشان دادند که دریافت SFA موجب کاهش گیرنده‌های کبدی LDL می‌شود که موجب افزایش بازگشت کلسترول به کبد می‌شود. افزایش کلسترول کبدی تنظیم‌کننده گیرنده‌های کبدی Xα (LXRα) می‌باشند که منجر به افزایش فعالیت CETP می‌شوند (۲۶, ۳۰). همچنین MUFA و PUFA با انجام عملی متضاد با SFA یعنی افزایش فعالیت گیرنده‌های کبدی LDL، موجب کلیرانس کبدی کلسترول شده و فعالیت CETP را تعدیل می‌کنند (۲۶).

از یافته‌های مطالعه حاضر این‌طور به نظر می‌رسد که در دریافت پایین چربی کل، ارتباط پلی مورفیسم و HDL-c بهتر نشان داده می‌شود؛ بنابراین می‌توان گفت که احتمالاً نقش ژنوتیپ B2B2 به‌عنوان یک عامل محافظت‌کننده در برابر پایین بودن سطح HDL-c بدون وابستگی به مقدار دریافت چربی کل است. مطالعه Li و همکاران روی جمعیت مردان مبتلا به دیابت که ارتباط این پلی مورفیسم را با HDL-c در افرادی که چربی کل، چربی حیوانی، SFA و MUFA بالاتری دریافت کرده بودند نشان داد و مکانیسم این رابطه را نامشخص گزارش کرد که با مطالعه حاضر همسو نمی‌باشد (۱۸). مطالعه حاضر روی جمعیت شامل مردان و زنان مبتلا به دیابت نوع ۲ که داروی کاهنده لیپید مصرف نمی‌کردند انجام شد، در حالی که در مطالعه Li ارتباط پلی مورفیسم CETP Taq1B روی سطح HDL-c را تنها در جمعیت مردان مبتلا به دیابت نوع ۲ بررسی شده است و مصرف داروهای کاهنده لیپید جزو عوامل مخدوش گر کنترل نشده بود. این ویژگی‌ها می‌توانند دلیل متفاوت بودن نتایج دو مطالعه را توجیه کنند. بر اساس مطالعه‌های انجام شده داروهای کاهنده لیپید می‌توانند روی فراسنج‌های لیپید از طریق کاهش فعالیت CETP و کاهش LDL(V) پلاسما مؤثر باشند (۳۱ و ۳۲).

در مطالعه حاضر به دلیل وجود محدودیت امکان

اندازه‌گیری فعالیت CETP و همچنین اندازه‌گیری تمام انواع HDL-c جهت مشخص شدن حساسیت آن‌ها به CETP وجود نداشت.

یافته‌های به دست آمده از مطالعه حاضر نشان دادند که ژنوتیپ B1B1 می‌تواند خطر ابتلا به اختلال لیپید در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ افزایش دهد. سطح HDL-c در افراد با ژنوتیپ B2B2 در هر دو گروه نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها بالاتر بود. برهمکنش بین پلی مورفیسم Taq1B و مقدار دریافت چربی کل در افراد بدون اختلال لیپید وجود داشت و نشان داده شد که احتمالاً با بالا بردن دریافت چربی کل در افراد دارای ژنوتیپ B1B1 می‌توان سطح HDL-c را در آن‌ها افزایش داد. در افراد دارای اختلال لیپید برهمکنش بین پلی مورفیسم CETP Taq1B و دریافت چربی کل از رژیم وجود نداشت که می‌تواند به دلیل وجود اختلال لیپید در افراد این گروه باشد. همچنین نقش محافظت‌کننده ژنوتیپ B2B2 روی سطح HDL-c در افرادی که دریافت پایین چربی داشتند و در گروه بدون اختلال لیپید بودند نشان داده شد؛ بنابراین به نظر می‌رسد شرایطی مانند وجود اختلال لیپید روی این ارتباطات تأثیرگذار باشد. همچنین نقش ژنوتیپ B1B1 به‌عنوان عامل خطر برای پایین بودن سطح HDL-c با دریافت بالای چربی کل از بین می‌رود. در مقابل نقش ژنوتیپ B2B2 به‌عنوان عامل محافظتی در برابر پایین بودن سطح وابسته به مصرف چربی نیست. باید اضافه شود که منظور از افزایش دریافت چربی کل بر اساس یک رژیم غذایی ایزوکالریک و استفاده از انواع چربی‌های سالم (تک غیراشباع و امگا ۳) می‌باشد.

در نهایت نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان دادند که بین پلی مورفیسم CETP Taq1B و چربی کل دریافت شده از رژیم غذایی در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ که دارای سطوح طبیعی فراسنج‌های لیپید می‌باشند، برهمکنش وجود دارد؛ در حالی که چنین ارتباطی در مبتلایان به اختلال لیپید وجود نداشت؛ بنابراین از این نتایج می‌توان جهت طراحی برنامه غذایی مناسب بر اساس ژنوتیپ فرد برای پیگیری از ابتلا به اختلال لیپید و بهبود سطح فراسنج‌های لیپید در مبتلایان به دیابت نوع ۲ استفاده کرد.

تقدیر و تشکر

این پژوهش طرح تحقیقاتی به شماره (۹۲-۰۳-۱۶۱-۲۴۴۶۴) و تحت حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد. محققان این پژوهش از حمایت‌های علمی ارائه شده توسط آقای مهرداد کریمی و تمامی افرادی که در پیش برد این پژوهش همکاری نمودند، تشکر می‌کنند.

منابع

1. Hansen T, editor. Type 2 diabetes mellitus--a multifactorial disease. Annales Universitatis Mariae Curie-Sklodowska Sectio D: Medicina; 2001.

2. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes research and clinical practice. 2010;87(1):4-14.

3. Esteghamati A, Meysamie A, Khalilzadeh O, Rashidi A, Haghazali M, Asgari F, et al. Third national Surveillance of Risk Factors of Non-Communicable Diseases (SuRFNCD-2007) in Iran: methods and results on prevalence of diabetes, hypertension, obesity, central obesity, and dyslipidemia. BMC Public Health. 2009;9(1):167.

4. Wilding J. The importance of free fatty acids in the development of Type 2 diabetes. Diabetic Medicine. 2007;24(9):934-45.

5. Pyörälä K, Laakso M, Uusitupa M. Diabetes and atherosclerosis: an epidemiologic view. Diabetes/metabolism reviews. 1987;3(2):463-524.

6. Association AD. Management of dyslipidemia in adults with diabetes. Diabetes Care. 2000;23:S57.

7. Van J, Pan J, Krauss R, Wu X .Atherogenic lipid phenotype in a general group of subjects. Archives of pathology & laboratory medicine. 2007;131(11):1679.

8. Morrish N, Wang SL, Stevens L, Fuller J, Keen H, Group WMS. Mortality and causes of death in the WHO Multinational Study of Vascular Disease in Diabetes. Diabetologia. 2001;44(2):S14-S21.

9. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins. A meta-analysis of 27 trials. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1992;12(8):911-9.

10. Snieder H, van Doornen LJ, Boomsma DI. Dissecting the genetic architecture of lipids, lipoproteins, and apolipoproteins lessons from twin

studies. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 1999;19(12):2826-34.

11. Anagnostopoulou KK, Kolovou GD , Kostakou PM, Mihas C, Hatzigeorgiou G, Marvaki C, et al. Sex-associated effect of CETP and LPL polymorphisms on postprandial lipids in familial hypercholesterolaemia. Lipids Health Dis. 2009;8(24):b81.

12. Ikewaki K, Rader D, Sakamoto T, Nishiwaki M, Wakimoto N, Schaefer J, et al. Delayed catabolism of high density lipoprotein apolipoproteins AI and A-II in human cholesteryl ester transfer protein deficiency. Journal of Clinical Investigation. 1993;92(4):1650.

13. Ordovas JM, Cupples LA, Corella D, Otvos JD, Osgood D, Martinez A, et al. Association of Cholesteryl Ester Transfer Protein–TaqIB Polymorphism With Variations in Lipoprotein Subclasses and Coronary Heart Disease Risk The Framingham Study. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2000; 20(5):1323-9.

14. Shinkai H. Cholesteryl ester transfer-protein modulator and inhibitors and their potential for the treatment of cardiovascular diseases. Vascular health and risk management. 2012;8:323.

15. Jansen S, López-Miranda J, Castro P, López-Segura F, Marín C, Ordovás JM, et al. Low-fat and high–monounsaturated fatty acid diets decrease plasma cholesterol ester transfer protein concentrations in young, healthy, normolipemic men. The American journal of clinical nutrition. 2000;72(1):36-41.

16. Smaoui M, Hammami S, Attia N, Chaaba R, Abid N, Kilani N, et al. Modulation of plasma cholesteryl ester transfer protein activity by unsaturated fatty acids in Tunisian type 2 diabetic women. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. 2006;16(1):44-53.

17. Drayna D, Lawn R. Multiple RFLPs at the human cholesteryl ester transfer protein (CETP) locus. Nucleic acids research. 1987;15(11):4698.

18. Li TY, Zhang C, Asselbergs FW, Qi L, Rimm E, Hunter DJ, et al. Interaction between dietary fat intake and the cholesterol ester transfer protein TaqIB polymorphism in relation to HDL-cholesterol concentrations among US diabetic men. The American journal of clinical nutrition. 2007;86(5):1524-9.

19. Aitken WA, Alexandra WAC, Duncan AW, Harper MJ, Humphries SE, Mann JI, et al. Variation in the cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene does not influence individual plasma cholesterol response to changes in the nature of dietary fat. Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. 2006;16(5):353-63.

20. Noorshahi N, Sotoudeh G, Djalali M, Eshraghian MR, Keramatipour M, Basiri MG, et al. APOA II genotypes frequency and their interaction with saturated fatty acids consumption on lipid profile of patients with type 2 diabetes. Clinical Nutrition. 2015.

21. Alvandi E, Akrami SM, Chiani M, Hedayati M, Nayer BN, Tehrani MRM, et al. Molecular analysis of the RET proto-oncogene key exons in patients with medullary thyroid carcinoma: a comprehensive study of the Iranian population. Thyroid. 2011;21(4):373-82.

22. Wu JH, Lee YT, Hsu HC, Hsieh LL. Influence of CETP gene variation on plasma lipid levels and coronary heart disease: a survey in Taiwan. Atherosclerosis. 2001;159(2):451-8.

23. Hassanzadeh T, Firoozrai M, Zonouz AE, Zavarehee A, Paoli M. Taq1B polymorphism of cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene in primary combined hyperlipidaemia. 2009.

24. Siewert S, Gonzalez II, Lucero RO, Ojeda MS. Association of cholesteryl ester transfer protein genotypes with paraoxonase-1 activity, lipid profile and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus: A study in San Luis, Argentina. Journal of diabetes investigation. 2015;6(1):67-77.

25. Sandhofer A, Tatarczyk T, Laimer M, Ritsch A, Kaser S, Paulweber B, et al. The Taq1B-variant in the Cholesteryl Ester–Transfer Protein Gene and the Risk of Metabolic Syndrome. Obesity. 2008;16(4):919-22.

26. Wang Y, Snel M, Jonker JT, Hammer S, Lamb HJ, de Roos A, et al. Prolonged caloric restriction in obese patients with type 2 diabetes mellitus decreases plasma CETP and increases apolipoprotein AI levels without improving the cholesterol efflux properties of HDL. Diabetes Care. 2011;34(12):2576-80.

27. McLaughlin T, Reaven G, Abbasi F, Lamendola C, Saad M, Waters D, et al. Is there a simple way to identify insulin-resistant individuals at increased risk of cardiovascular disease? The American journal of cardiology. 2005;96(3):399-404.

28. Babiak J, Gong EL, Nichols AV, Forte TM, Kuehl TJ, McGill HC. Characterization of HDL and lipoproteins intermediate to LDL and HDL in the serum of pedigreed baboons fed an atherogenic diet. Atherosclerosis. 1984;52(1):27-45.

29. Tholstrup T, Sandström B, Bysted A, Hølmer G. Effect of 6 dietary fatty acids on the postprandial lipid profile, plasma fatty acids, lipoprotein lipase, and cholesterol ester transfer activities in healthy young men. The American journal of clinical nutrition. 2001;73(2):198-208.

30. Chang C-K, Snook JT. The cholesterolaemic effects of dietary fats in cholesteryl ester transfer protein transgenic mice. British Journal of Nutrition. 2001;85(06):643-8.

31. de Haan W, van der Hoogt CC, Westerterp M, Hoekstra M, Dallinga-Thie GM, Princen HM, et al. Atorvastatin increases HDL cholesterol by reducing CETP expression in cholesterol-fed APOE* 3-

Leiden. CETP mice. Atherosclerosis. 2008; 197(1):57-63.

32. van der Hoorn JW, de Haan W, Berbée JF, Havekes LM, Jukema JW, Rensen PC, et al. Niacin increases HDL by reducing hepatic expression and plasma levels of cholesteryl ester transfer protein in APOE* 3Leiden. CETP mice. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2008; 28(11):2016-22.

The interaction between CETP Taq1B polymorphism and dietary fat intake on HDL-c according to lipid profile status in type 2 diabetes mellitus patients

Zahra kalantar, MsPH graduated, Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. zahrakalantar63@yahoo.com
Maryam Mahmoodi, Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. mahmoodi_maryam@yahoo.com
Gity sotodeh, Associated Professor, Department of Community Nutrition, School of nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. gsotodeh@tums.ac.ir
Anahita Mansoori, Assistant Professor, Nutrition and Metabolic Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran. mansoori_anahita@yahoo.com
Mahmoud Djalali, Professor, Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. jalalikh@sina.tums.ac.ir
Mohamad Reza Eshraghian, Professor, Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. eshraghian@tums.ac.ir
***Fariba Koohdani**, Associate Professor, Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (*Corresponding author). fkoohdan@tums.ac.ir

Abstract

Background: Dyslipidemia is a major problem in type 2 diabetes mellitus patients (T2DM) causing atherosclerosis diseases. We investigated the relationship between CETP Taq1B polymorphism and HDL-c concentrations considering dietary fat intake in Tehranian dyslipidemic and normolipidemic T2DM patients.

Methods: In the present cross-sectional study 184 T2DM patients were investigated. We used FFQ questionnaire, anthropometric measurements and biochemical tests. PCR-RFLP was used to determine polymorphism. We performed Chi-square and ANOVA and ANCOVA for statistical analysis.

Results: The frequency of B1B1 genotype was significantly different according to patients' lipid profile status (p=0.014). There was no significant relationship between genotype and HDL-c concentrations. The interaction between CETP Taq1B polymorphism and total fat intake was significant in normolipidemic patients (Pinteraction= 0.028). There were no such a relationships in dyslipidemic patients. In addition, patients with B2B2 genotype and low total fat intake had significantly higher HDL-c concentrations in comparison with B1B1 genotype (p=0.030).

Conclusion: Patients with B1B1 genotype were more likely to be dyslipidemic. The relationship between CETP Taq1B polymorphism and HDL-c concentrations was affected by dietary total fat intake in normolipidemic T2DM patients.

Keywords: Lipid disorder, CETP Taq1B polymorphism, Dietary fat intake, HDL-c, Type 2 diabetes