

ارتباط بین پلی‌مورفیسم‌های rs10499859 A>G و rs13246513 C>T ژن CD36 و سندرم متابولیک در جمعیت مطالعه‌ی قند و لیپید تهران

دکتر آریتا زاده وکیلی^۱، بیتا فام^۱، دکتر مریم السادات دانشپور^۱، دکتر مهدی هدایتی^۱، دکتر فریدون عزیزی^۲

(۱) مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی غدد درون‌ریز، پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، (۲) مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تهران، ولنجک، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دکتر فریدون عزیزی؛ e-mail: azizi@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: CD36 یک گیرنده‌ی غشایی است که جذب و استفاده‌ی اسیدهای چرب را در ماهیچه‌های قلبی و اسکلتی تنظیم می‌نماید. هدف پژوهش حاضر، بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم‌های rs10499859 A>G و rs13246513 C>T ژن یاد شده با سندرم متابولیک بود. **مواد و روش‌ها:** در بررسی مورد-شاهدی حاضر ۱۴۰ فرد مبتلا به سندرم متابولیک و ۱۸۷ فرد سالم به طور تصادفی از جمعیت مورد مطالعه‌ی قند و لیپید تهران انتخاب شدند. متغیرهای تن‌سنجی و بیوشیمیایی افراد اندازه‌گیری و پلی‌مورفیسم‌ها به روش PCR-RFLP تعیین ژنوتیپ گردیدند. یافته‌ها: فراوانی ژنوتیپ‌ها و ال‌ها بین گروه شاهد و مورد تفاوت معنی‌داری نداشت. ارتباط بین ال‌های A و T این دو پلی‌مورفیسم با افزایش میزان کلسترول - HDL پیش از تعدیل اثر سن و جنس معنی‌دار بود (P=۰/۰۱۶، ۰/۰۲۷). با اعمال مدل ژنتیک غالب (Dominant) حاملین ال A پلی‌مورفیسم rs10499859 A>G افزایش معنی‌داری در نمایه‌ی توده‌ی بدن (BMI) نسبت به مقادیر مشاهده شده در حاملین ال G، دارا بودند (P=۰/۰۰۹). حضور ال G، تحت مدل مغلوب و پیش از تعدیل اثر عوامل مداخله‌گر، با افزایش فشار خون دیاستولی همراه بود (P=۰/۰۲۱). نتیجه‌گیری: یافته‌های بررسی حاضر نشان داد در جمعیت یاد شده تغییرات ژنتیکی ژن CD36 با شاخص‌های سندرم متابولیک، از جمله میزان کلسترول - HDL و نمایه‌ی توده‌ی بدن ارتباط دارد، هر چند با توجه به مشارکت عوامل متعدد محیطی و ژنتیکی در بروز سندرم متابولیک، نقش هر یک از پلی‌مورفیسم‌ها به تنهایی اندک می‌باشد.

واژگان کلیدی: سندرم متابولیک، پلی‌مورفیسم‌های CD36، rs10499859، rs13246513، کلسترول - HDL، تهران

دریافت مقاله: ۹۱/۴/۵ - دریافت اصلاحیه: ۹۱/۷/۲۲ - پذیرش مقاله: ۹۱/۷/۲۵

مقدمه

ژنتیکی نیز هستند.^{۲،۴} شیوع سندرم متابولیک نه تنها در کشورهای توسعه یافته، بلکه در کشورهای در حال توسعه نیز رو به گسترش است، بنابراین ارتقا سطح دانش در زمینه‌ی بررسی عوامل ژنتیکی که با بروز سندرم متابولیک در ارتباط هستند، ضروری است. یافته‌های پژوهش‌های ژنتیکی اخیر بیانگر ارتباط وسیع بین ناحیه‌ی ژنی ۷q۲۱،۱۱-۷q۱۱،۲ روی کروموزوم شماره ۷ با شاخص‌های

سندرم متابولیک (MetS) شامل مجموعه‌ای از عوامل خطرزا می‌باشد که احتمال بروز بیماری‌های قلبی - عروقی و دیابت نوع ۲ را افزایش می‌دهد.^{۱،۲} تمام شاخص‌های سندرم متابولیک از جمله فشار خون، چاقی، مقاومت به انسولین و اختلالات لیپیدی علاوه بر عوامل محیطی تحت تاثیر عوامل

مجاور ۳ ژن واقع شده است. این دو پلی مورفیسم به سبب آن که بیشتر نیز به عنوان واریته های موثر بر سندرم متابولیک گزارش شده اند و همچنین فراوانی الل های نادرشان، که بیش از ۰/۰۵ گزارش شده، انتخاب گردیده اند.

مواد و روش ها

برای مطالعه ی مورد- شاهده ی حاضر، با استفاده از فرمول محاسبه ی کمینه حجم نمونه برای مشاهده ی نادرترین الل مورد بررسی ۲۲۷ نفر در فاصله ی سنی ۱۹ تا ۷۰ سال به طور تصادفی از جمعیت مورد بررسی قند و لیپید تهران (TLGS)ⁱⁱ انتخاب شدند. مطالعه ی قند و لیپید تهران پژوهشی است که به منظور تعیین عوامل خطر ساز برای بیماری های غیرواگیر در جمعیت شهری تهران، و همچنین اتخاذ اقدام های مبتنی بر جمعیت، برای تغییر شیوه ی زندگی و ممانعت از سیر پیش رونده ی دیابت قندی و اختلالات چربی خون از سال ۱۳۷۸ آغاز و تاکنون در حال انجام است. در بررسی حاضر آزمودنی ها از راه نمونه گیری خوشه ای تصادفی چند مرحله ای انتخاب شده اند. جزئیات مربوط به طراحی پروژه ی یاد شده و روش های کاربردی برای انجام آزمایش ها در گذشته عنوان گردیده است.^{۱۶} این بررسی به تصویب شورای پژوهشی پژوهشکده ی علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی رسیده و رضایت نامه ی آگاهانه توسط شرکت کنندگان امضا شده است. برنامه ی جمع آوری داده های بالینی پیش از این یاد شده است.^{۱۷،۱۸} میزان قند خون ناشتا، تری گلیسرید (TG)، کلسترول تام (Chol) و کلسترول - HDL به روش کالریتری آنزیمی اندازه گیری شد (شرکت پارس آزمون - ایران). میزان کلسترول - LDL در افراد با غلظت تری گلیسرید کمتر از ۴۰۰ میلی گرم در صد میلی لیتر از راه معادله ی فریدوالد محاسبه گردید. زیر واحدهای کلسترول - HDL به روش رسوب پلی آنیونی تفکیک شدند. دامنه ی تغییرات (CV) برای گلوکز سرمی، کلسترول تام، کلسترول - HDL و تری گلیسرید کمتر از ۵٪ در نظر گرفته شد. برای آنالیز پلی مورفیسم های ژن CD36، DNA ژنومی به روش نمک اشباع/ پروتئیناز K استخراج شد.^{۱۹} واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) برای تکثیر قطعه ی ۵۵۵ bp از پلی مورفیسم rs1۳۲۴۶۵۱۳C>T و قطعه

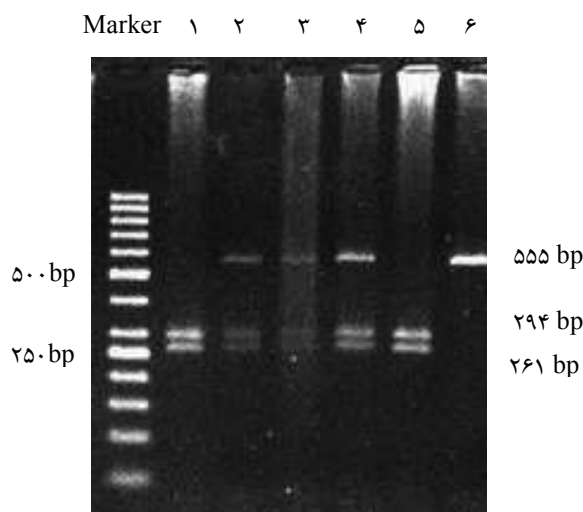
سندرم متابولیک می باشد.^{۴-۷} ژن CD36 که در این ناحیه واقع شده، گیرنده ای غشایی از خانواده ی گیرنده های رفتگر Bⁱ را کد می کند. مولکول CD36، گلیکوپروتئینی با وزن ۸۸ کیلو دالتون است که در انواع مختلفی از سلول ها از جمله سلول های قلبی، ماهیچه ای، چربی، ماکروفاژها و سلول های اندوتلیال بیان می شود.^{۸،۹} این گیرنده به لیگاندهای بسیاری از جمله کلسترول - HDL و کلسترول - LDL اکسید شده، لیپوپروتئین های طبیعی و اسیدهای چرب با زنجیره ی بلند متصل می شود. علاوه بر موارد یاد شده، CD36 نقش مهمی در جذب کلسترول توسط انتروسیته ها دارد. عملکردهای یاد شده، پیشنهادکننده ی نقش حیاتی این گلیکوپروتئین در سوخت و ساز لیپیدها و مقاومت به انسولین، به عنوان یکی از اصلی ترین فاکتورهای مرتبط با سندرم متابولیک می باشد.^{۱۰،۱۱} یافته های پژوهش های مختلف بیانگر ارتباط بین تغییرات ژنتیکی CD36 با میزان لیپیدهای سرمی و سوخت و ساز گلوکز می باشد.^{۱۲-۱۴} پژوهشی که روی جمعیت دیابتی فرانسه انجام گرفته، نشان دهنده ی ارتباط بین پلی مورفیسم ناحیه ی پروموتور این ژن با حساسیت به انسولین بود.^{۱۴} بررسی دیگری روی نمونه ی بزرگی از جمعیت آمریکایی - آفریقایی نیز نشان داد برخی تغییرات نسبتاً شایع ژن CD36 با بروز سندرم متابولیک و سطح کلسترول - HDL سرمی مرتبط می باشد.^۴

شناسایی پلی مورفیسم های ژنتیک، از جمله پلی مورفیسم های تک نوکلئوتیدی (SNPs)، که با یک بیماری خاص در ارتباط هستند در برآورد احتمال بروز بیماری، به ویژه بیماری هایی که نتیجه ی عملکرد ژن های متعددی هستند، بسیار کمک کننده است. پلی مورفیسم های مرتبط با بیماری به طور معمول از راه بررسی های مورد- شاهده ی شناسایی می شوند و با تکرار بررسی در جمعیت های متفاوت، به عنوان شاخصی برای پیش بینی یا شناسایی بیماری تایید می گردند. با توجه به شیوع سندرم متابولیک در ایران (۳۲/۱٪ در بزرگسالان)^{۱۵} و عدم بررسی ارتباط تغییرات ژنتیکی CD36 با سندرم متابولیک در ایرانیان، هدف پژوهش حاضر بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم های rs1۰۴۹۹۸۵۹A>G و rs۱۳۲۴۶۵۱۳C>T از ژن یاد شده با سندرم متابولیک و شاخص های آن بود. rs1۰۴۹۹۸۵۹A>G در ناحیه ی ترجمه نشدنی ۵' ژن (5'UTR) و rs۱۳۲۴۶۵۱۳C>T در ناحیه ی

i- Scavenger receptors

ii- Tehran lipid and glucose study

در مورد پلی‌مورفیسم rs13246513C>T، پس از هضم آنزیمی TaqI، مشاهده‌ی قطعاتی به طول ۲۹۴ و ۲۶۱ جفت باز بیان‌گر حضور ال C و قطعه‌ی ۵۵۵ جفت بازی نشانه‌ی حضور ال T بود (شکل ۲).



شکل ۲- یافته‌های الکتروفورز قطعات به دست آمده از هضم آنزیمی برای شناسایی ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs13246513C>T ستون‌های ۱ و ۵: هموزیگوت CC، ستون‌های ۲-۴: هتروزیگوت CT، ستون ۶: هموزیگوت TT

سندرم متابولیک بر اساس معیار JIS^{۲۰} مبتنی بر تشخیص ۳ عامل از ۵ عامل خطر ساز زیر، تعریف شده است:

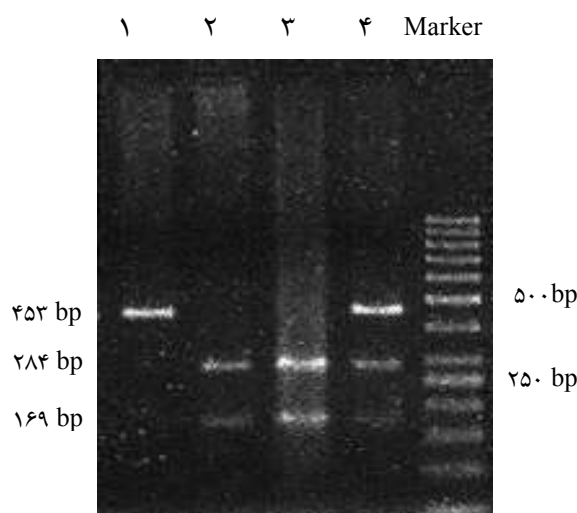
- چاقی شکمی با اندازه‌ی دور کمر ایرانی که بیشتر از ۹۵ سانتی‌متر برای جمعیت مردان و زنان تعیین شده است.^{۲۱}

- قند خون ناشتا بیشتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر یا مصرف داروی کاهنده‌ی قند خون
- میزان تری‌گلیسرید بیشتر از ۱۵۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر یا مصرف داروی کاهنده‌ی تری‌گلیسرید
- کلسترول - HDL کمتر از ۵۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر در زنان و کمتر از ۴۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر در مردان یا مصرف داروی کاهنده‌ی کلسترول

۴۵۳ bp برای rs10499859A>G در ژن CD36 با استفاده از پرایمرهای زیر (به ترتیب) به کار گرفته شد.

F: 5'-TCT ACC ACT TTG TTC TAG GCT AAT TTT T-3', R: 5'-CAA ATA TCC TAA TGC AAA TAG AAT AAA CC-3', F: 5'-CTT ATT TGG ATG GTA GGT TTG ACA CAG G-3' و R: 5'-GAG GAA AGA AAG CAA CAT TTC AAG ACT TC-3'

محلول واکنش PCR با حجم نهایی ۱۵ میکرولیتر شامل ۲۰۰ نانوگرم DNA ژنومی، ۴۰ پیکومول از الیگو نوکلئوتیدها، ۰/۲ میلی‌مول در لیتر از dNTP، ۱/۵ میلی‌مول در لیتر از MgCl₂، ۱۰ میلی‌مول در لیتر از Tris (PH 8.4) و ۰/۲۵ واحد از آنزیم Taq پلیمراز بود. واکنش تکثیر براساس برنامه‌ی یاد شده پس از مرحله‌ی واسرشت اولیه در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه انجام گرفت: ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، ۶۰ درجه‌ی سانتی‌گراد rs10499859A>G و ۵۵ درجه‌ی سانتی‌گراد (rs13246513C>T) به مدت ۴۵ ثانیه، دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و ۳۰ تکرار (Corbett co. Australia) برای تعیین ژنوتیپ، محصولات PCR تحت هضم اندونوکلازهای محدودالثر قرار گرفتند. قطعات به دست آمده از هضم آنزیمی با HinCII برای SNP rs10499859A>G شامل ۲۸۴ و ۱۶۹ جفت باز برای ال G و ۴۳۵ bp برای ال A بود (شکل ۱).



شکل ۱- یافته‌های الکتروفورز قطعات به دست آمده از هضم آنزیمی برای شناسایی ژنوتیپ پلی‌مورفیسم rs10499859A>G ستون ۱: هموزیگوت AA، ستون‌های ۲-۳: هموزیگوت GG، ستون ۴: هتروزیگوت AG

- فشار خون سیستولی بیشتر از ۱۳۰ میلی متر جیوه و یا فشار خون دیاستولی بیشتر از ۸۵ میلی متر جیوه یا مصرف داروی پایین آورنده ی فشار خون افرادی که ۲-۰ مشخصه از مشخصات یاد شده را دارا بودند به عنوان شاهد در نظر گرفته شدند.

متغیرهای پیوسته به صورت خطای استاندارد میانگین، متغیرهای توصیفی به صورت میانه و همچنین متغیرهای گروه بندی شده به صورت فراوانی و درصد بیان شدند. مقایسه ی فراوانی الل ها و ژنوتیپ ها در دو گروه مورد - شاهد و بررسی برقراری تعادل هاردی - واینبرگ برای فراوانی ژنوتیپ ها به وسیله ی آنالیز مجذور خی بررسی شد. برای مقایسه ی میانگین متغیرهای تن سنجی از مدل خطی استفاده گردید. میزان میانگین و خطای استاندارد متغیرهای بیوشیمیایی و مقایسه ی آن ها در تمام گروه ها (گروه مورد - شاهدی و ژنوتیپ ها) از راه آنالیز آزمون تی مورد بررسی قرار گرفت. لگاریتم و یا Cox متغیرهایی که در جامعه ی مورد مطالعه توزیع غیر نرمال نداشتند، محاسبه شد. آنالیز آماری من - ویتنی با در نظر گرفتن پنج مدل ژنتیکی مختلف استفاده شد: مدل Co-dominant (سه گروه ژنوتیپی جداگانه)، مدل Dominant (گروه هتروزیگوت با هموزیگوت

برای الل مغلوب)، مدل Recessive (ژنوتیپ هتروزیگوت با هموزیگوت برای الل غالب)، مدل Log-additive (با معیارهای عددی تعیین شده برای هر گروه ژنوتیپی: مقیاس ۰ برای ژنوتیپ غالب هموزیگوت، ۱ برای ژنوتیپ هتروزیگوت و ۲ برای ژنوتیپ مغلوب)، و مدل over-dominant (ژنوتیپ های هموزیگوت غالب و مغلوب در یک گروه). مناسب ترین مدل ژنتیکی برای هر یک از پلی مورفیسم ها به کمک معیار Akaike انتخاب گردید. آنالیز رگرسیون خطی برای بررسی اثر عوامل مداخله گر از جمله سن، جنسیت و میزان نمایه ی توده ی بدن به کار گرفته شد. آنالیزهای آماری به کمک نرم افزار SPSS ویرایش ۱۶ (SPSS, Inc. Chicago) انجام و سطح معنی داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته ها

متغیرهای بیوشیمیایی و فراوانی ژنوتیپ های ۲۲۷ فرد انتخابی در جدول شماره ۱ آورده شده است. همان طور که انتظار می رفت، اختلاف میانگین متغیرهای بیوشیمیایی تعریف شده به عنوان شاخص های سندرم متابولیک، در دو گروه مورد و شاهد معنی دار بود ($P < 0.05$).

جدول ۱ - ویژگی های بیوشیمیایی و تن سنجی جمعیت مورد مطالعه به تفکیک ابتلا و عدم ابتلا به سندرم متابولیک*

متغیرها	کل جمعیت (۳۲۷=تعداد)	گروه شاهد (۱۸۷=تعداد)	گروه مورد (۱۴۰=تعداد)	P†
سن (سال)	۴۲/۱±۱۹/۴	۳۳/۶±۱۸/۵	۵۲/۹±۱۴/۳	۰/۰۰۱>
جنس (درصد)	۱۳۷(۴۳٪)	۸۷(۵۰/۶٪)	۵۰(۳۷/۱٪)	۰/۰۴
نمایه ی توده ی بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۷/۱±۵/۴۱	۲۴/۵±۴/۷	۳۰/۳±۴/۴	۰/۰۰۱>
اندازه ی دور کمر (سانتی متر)	۸۹/۸±۱۴/۷	۸۱/۶±۱۳/۵	۱۰۱±۷/۴	۰/۰۰۱>
قند خون ناشتا (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۹۸/۹±۳۰/۴	۸۹/۴±۱۵/۹	۱۱۱±۳۹	۰/۰۰۱>
کلسترول تام (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۱۹۰±۴۱	۱۷۸±۴۰	۲۰۷±۳۶	۰/۰۰۱>
تری گلیسرید (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۱۵۷±۱۰۴	۱۱۵±۶۰/۴	۲۱۳±۱۲۲	۰/۰۰۱>
کلسترول - HDL (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۴۶/۳±۱۱/۴	۴۹/۲±۱۱/۴	۴۲/۶±۱۰/۴	۰/۰۰۱>
HDL 2 (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۱۷/۱±۸/۳	۱۹/۴±۸/۷	۱۳/۹±۶/۷	۰/۰۰۱>
HDL 3 (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۲۹/۵±۵/۹	۳۰/۲±۵/۹	۲۸/۶±۵/۹	۰/۰۲
کلسترول - LDL (میلی گرم در صد میلی لیتر)	۱۱۲±۳۳	۱۰۶±۳۳	۱۱۹±۳۱/۹	۰/۰۰۱
CRP (نانوگرم در دسی لیتر)	۱۹۹۶±۲۳۸۰	۱۶۵۰±۲۲۶۸	۲۴۵۳±۲۴۵۵	۰/۰۰۳
فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)	۷۳/۹±۱۰/۹	۷۰/۲±۹/۵	۷۸/۸±۱۰/۷	۰/۰۰۱>
فشار خون سیستولی (میلی متر جیوه)	۱۱۷±۲۲	۱۰۸±۱۷	۱۲۹±۲۱/۱	۰/۰۰۱>

* اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده اند، † مقدار P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار است.

بررسی فراوانی ژنوتیپ‌ها و ال‌ها برای پلی‌مورفیسم‌های مورد بررسی نشان داد تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مبتلا به سندرم متابولیک و افراد سالم وجود ندارد (جدول ۲).

جدول ۲- فراوانی ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم‌های ژن CD36 در دو گروه مورد و شاهد

کل جمعیت (درصد)	شاهد (درصد)	مورد (درصد)
rs ۱۳۲۴۶۵۱۳C>T		
CC	۸۹(۲۷/۲) *	۴۴(۲۷/۸)
CT	۱۷۱(۵۲/۳)	۸۲(۵۱/۹)
TT	۶۷(۲۰/۵)	۳۲(۲۰/۳)
rs ۱۰۴۹۹۸۵۹A>G		
AA	۹۴(۳۲/۳)	۴۲(۲۹/۶)
AG	۱۵۹(۵۴/۶)	۷۷(۵۴/۲)
GG	۳۸(۱۳/۱)	۲۳(۱۶/۲)

(درصد)*

توزیع الی و ژنوتیپی پلی‌مورفیسم rs ۱۰۴۹۹۸۵۹A>G در تعادل هاردی-واینبرگ بود ولی فراوانی ژنوتیپ‌های rs ۱۳۲۴۶۵۱۳ خارج از تعادل بودند ($P=0/0264$ و $4/93$). میانگین متغیرهای تعریف شده به عنوان شاخص‌های سندرم متابولیک به جز کلسترول - HDL بین حاملین الی تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳). یافته‌ها نشان داد میزان کلسترول - HDL در حاملین ال A برای پلی‌مورفیسم rs ۱۰۴۹۹۸۵۹A>G و T برای rs ۱۳۲۴۶۵۱۳ به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P=0/027$ ، میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر).

جدول ۳- ارتباط متغیرهای بیوشیمیایی با پلی‌مورفیسم‌های CD36*

rs ۱۳۲۴۶۵۱۳C>T			rs ۱۰۴۹۹۸۵۹A>G			متغیرها
P	C حاملین	T حاملین	P†	A حاملین	G حاملین	
0/۱۳۷	۲۷/۳±۵/۳۵	۲۶/۱±۵/۶	0/۲۰۸	۲۷/۵±۵/۷	۲۶/۶±۵/۱۶	نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر مترمربع)
0/۰۵۲	۹۴/۱(۶۹، ۲۲۸)‡	۹۰/۱(۷۵، ۲۸۶)	0/۳۸۵	۹۱(۶۹، ۲۶۴)	۸۸(۷۰، ۲۸۶)	قند خون ناشتا (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)
0/۱۴۵	۹۳/۵(۵۲، ۱۳۵)	۹۱/۱(۴۸، ۱۲۳)	0/۸۰۱	۹۳(۶۰، ۱۳۵)	۹۳(۴۸، ۱۱۸)	اندازه دور کمر (سانتی‌متر)
0/۳۰۳	۱۴۲±۱/۶	۱۳۳±۱/۸	0/۱۶۲	۱۳۴±۱/۸	۱۵۴±۱/۶	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)
0/۸۶۷	۱۹۰±۴۰	۱۸۶±۴۲	0/۱۸۶	۱۸۹±۴۰	۱۹۹±۵۳	کلسترول تام (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)
0/۰۱۶	۴۳/۸±۹/۶	۴۷/۲±۱۱/۹	0/۰۲۷	۴۷/۱±۱/۳	۴۳/۹±۱/۳	کلسترول - HDL (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)
0/۲۰۴	۱۱۱±۳۳	۱۱۶±۳۵	0/۶۴۴	۱۱۱±۳۳	۱۱۴±۴۲	کلسترول - LDL (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)
0/۱۴۲	۷۱/۷±۱/۲	۷۳/۷±۱/۲	0/۰۲۱	۷۳/۵±۱/۱۵	۹۶/۲±۱/۲	فشار خون دیاستولی (میلی‌متر جیوه)
0/۲۷۷	۱۱۲(۶۸، ۱۹۳)	۱۱۳(۸۰، ۱۸۷)	0/۴۴۱	۱۱۳(۸۰، ۱۸۷)	۱۱۱(۶۸، ۱۶۶)	فشار خون سیستولی (میلی‌متر جیوه)

* اعداد به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شده‌اند، † مقدار $P<0/05$ از نظر آماری معنی‌دار است. ‡ ضریب اطمینان ۹۵٪.

۴۳/۹±۱/۲۷: حاملین G در مقابل ۴۷/۱±۱/۲۶: حاملین A) و ($P=0/016$) میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر C carrier: ۴۳/۸±۹/۶۱ در مقابل T carrier: ۴۷/۲±۱۱/۹؛ این ارتباطات پس از تعدیل عوامل مداخله‌گر مانند MetS، سن، جنسیت و میزان نمایه‌ی توده‌ی بدن تحت مدل dominant معنی‌دار باقی نماند ($P=0/098$ و $P=0/751$). میزان متوسط هر یک از متغیرهای بیوشیمیایی در گروه‌های ژنوتیپی برای هر یک از پلی‌مورفیسم‌ها با در نظر گرفتن مدل ژنتیکی مناسب برای آنالیز مداخله‌گرها در جدول ۴ آورده شده است. ارتباط پلی‌مورفیسم rs ۱۳۲۴۶۵۱۳C>T با میزان نمایه‌ی توده‌ی بدن، تری‌گلیسرید و کلسترول تام قبل و بعد از تعدیل عوامل مداخله‌گر معنی‌دار نبود. هیچ‌گونه ارتباطی بین پلی‌مورفیسم rs ۱۰۴۹۹۸۵۹A>G و میزان BMI قبل از تعدیل عوامل مداخله‌گر مشاهده نشد ($p=0/208$ ، $26/6 \pm 5/16$ کیلوگرم بر مترمربع: G carrier: در مقابل ۲۷/۵±۵/۷۱: A carrier)، در صورتی‌که یافته‌های آنالیزها حاکی از وجود ارتباط بین آن‌ها پس از تعدیل اثر MetS به عنوان مداخله‌گر می‌باشد ($P=0/009$). حاملین G در این پلی‌مورفیسم با اعمال مدل ژنتیکی Recessive، ارتباط افزایشی با میزان فشار خون دیاستولی نشان دادند ($P=0/021$ ، میلی‌متر جیوه ۹۶/۲±۱/۲۱: G carrier: در مقابل ۷۳/۵±۱/۱۵: A carrier)، ولی این ارتباط پس از تعدیل عوامل مداخله‌گر MetS، جنسیت و سن معنی‌دار نبود ($P=0/133$). پلی‌مورفیسم rs ۱۰۴۹۹۸۵۹A>G با سایر متغیرها ارتباط معنی‌داری نشان نداد.

جدول ۴- ارتباط پلی مورفیسم های ژن CD36 با شاخص های سندرم متابولیک پس از تعدیل عوامل مداخله گر

متغیرها	SNP	مدل ژنتیکی	P*	P†	P‡
نمایه ی توده ی بدن (کیلو گرم بر مترمربع)	A>G	Dominant	۰/۰۰۹		
کلسترول - HDL (میلی گرم در صد میلی لیتر)	A>G	Dominant		۰/۰۹۸	
فشار خون دیاستولی (میلی متر جیوه)	A>G	Recessive	۰/۱۳۳		۰/۷۱۵

*تعدیل اثر سندرم متابولیک، †تعدیل سن، جنس و سندرم متابولیک، ‡تعدیل اثر نمایه ی توده ی بدن، سن، جنس و سندرم متابولیک

بحث

در بررسی حاضر ارتباط بین پلی مورفیسم های rs1۰۴۹۹۸۵۹A>G و rs1۳۲۴۶۵۱۳C>T در ژن کد کننده ی CD36 با شاخص های سندرم متابولیک بررسی شده است. یافته ها بیانگر ارتباط پلی مورفیسم های انتخابی با برخی از معیارهای سندرم متابولیک به ویژه غلظت کلسترول - HDL می باشد. حاملین ال های A و T از این دو پلی مورفیسم با میزان کلسترول - HDL ارتباط افزایشی نشان دادند. اگرچه ارتباطات پس از تعدیل اثر عوامل مداخله گر سن و جنس، از نظر آماری معنی دار نبود. این بررسی اولین بررسی روی ارتباط بین ژن CD36 با سندرم متابولیک در جمعیت تهرانی می باشد.

شواهد بسیاری وجود دارد که کاهش میزان کلسترول - HDL یکی از مهم ترین عوامل تعیین کننده در بروز سندرم متابولیک و یک فاکتور مستقل برای بیماری های قلبی - عروقی است.^{۲۲} بنابراین، بررسی هایی برای دریافت ارتباط بین تغییرات برخی ژن ها مانند CD36، و سطح کلسترول - HDL ترتیب داده شده است. یافته های پژوهشی در سال ۲۰۰۸ روی ۲۰۲۰ نفر از افراد آفریقایی - آمریکایی نشان داد برخی از تغییرات ژنتیکی CD36 مانند rs1۰۴۹۹۸۵۹A>G با میزان کلسترول - HDL در ارتباط هستند و حضور ال نادر این پلی مورفیسم ها با افزایش کلسترول - HDL همراه است.^۴ یافته های بررسی حاضر حاکی از تناسب مستقیم بین میزان افزایش کلسترول - HDL و ال های نادر می باشد. این افزایش معادل ۲/۵ میلی گرم در صد میلی لیتر به ازای هر ال G از پلی مورفیسم rs1۰۴۹۹۸۵۹A>G گزارش شده است. همچنین، پلی مورفیسم rs1۳۲۴۶۵۱۳C>T خطر بروز سندرم متابولیک را به میزان ۳۲٪ افزایش می دهد. یافته های پژوهش حاضر برخلاف بررسی یاد شده به اهمیت حضور ال های A و T از

پلی مورفیسم های مورد نظر در زمینه ی افزایش غلظت کلسترول - HDL اشاره دارد. تفاوت در یافته ها می تواند مربوط به پیش زمینه ی ژنتیکی متفاوت در جمعیت مورد مطالعه یا تعداد کم نمونه برای بررسی حاضر باشد. یافته های به دست آمده از پژوهش هایی که به بررسی ارتباط پلی مورفیسم های ژن CD36 با میزان BMI، به عنوان معیار چاقی پرداخته اند، نشان دهنده ی ارتباط مثبت بین آن ها است و بیان می کند به احتمال زیاد بروز تغییرات ژنتیکی در این ژن از راه اثر روی تجمع بافت چربی در بدن با بیماری های متابولیکی در ارتباط است.^{۲۴،۲۵} پژوهشی روی یک جمعیت کره ای نشان داده یک پلی مورفیسم در ناحیه ی اینترون شماره ی ۳ از ژن CD36 با افزایش میزان نمایه ی توده ی بدن مرتبط بوده است.^{۲۵} یافته های بررسی حاضر نیز در همین راستا بوده و نشان می دهد BMI در حاملین ال A پس از تعدیل اثر MetS به عنوان مداخله گر، افزایش معنی داری نسبت به مقادیر مشاهده شده در حاملین ال G، دارا می باشد. در مطالعه ی حاضر فراوانی ال ها در دو گروه مورد و شاهد تفاوت قابل توجهی نداشتند که می تواند بیانگر عدم وجود ارتباط بین پلی مورفیسم های مورد بررسی با سندرم متابولیک باشد، ولی با در نظر داشتن این که سندرم متابولیک یک بیماری چند عاملی است که هر یک از عوامل ژنتیکی تنها نقش کوچکی در بروز آن دارند، چنین نتیجه ای غیر قابل انتظار نخواهد بود. همچنین، باید در نظر داشت که بخش قابل توجهی از تفاوت هایی که بین گروه ها مشاهده می شود ناشی از آن است که فاکتورهای محیطی روی گروه های سنی مختلف اثرات متفاوتی اعمال می کنند و از سوی دیگر پروفایل لیپیدی زنان و مردان نیز به سبب تفاوت در زمینه ی هورمونی آن ها، متفاوت است. محدودیت های قابل یادآوری در پژوهش حاضر به شرح ذیل می باشد: (۱) با توجه به تعداد کم نمونه، به احتمال زیاد یافته های به دست

پلی‌مورفیسم‌ها را به عنوان مارکرهای بیماری‌های قلبی - عروقی و متابولیکی در جمعیت ایرانی در نظر گرفت یا خیر. همچنین، با توجه به اهمیت نقش تغییرات ژنتیکی این ژن در بروز سندرم متابولیک بررسی سایر پلی‌مورفیسم‌های آن پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری: در بررسی حاضر از داده‌های افراد شرکت‌کننده در طرح قند ولیپید تهران که توسط پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم شهید بهشتی اجرا می‌شود، استفاده شده است. بنابراین، از تمام افراد شرکت‌کننده و کسانی که در طراحی و جمع‌آوری داده‌های TLGS مشارکت دارند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

- Klein BE, Klein R, Lee KE. Components of the metabolic syndrome and risk of cardiovascular disease and diabetes in Beaver Dam. *Diabetes Care* 2002; 25: 1790-4.
- Malik S, Wong ND, Franklin SS, Kamath TV, L'Italien GJ, Pio JR, et al. Impact of the metabolic syndrome on mortality from coronary heart disease, cardiovascular disease, and all causes in United States adults. *Circulation* 2004; 110: 1245-50.
- Ford ES, Giles WH, Dietz WH. Prevalence of the metabolic syndrome among US adults: findings from the third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 2002; 287: 356-9.
- Love-Gregory L, Sherva R, Sun L, Wasson J, Schappe T, Doria A, et al. Variants in the CD36 gene associate with the metabolic syndrome and high-density lipoprotein cholesterol. *Hum Mol Genet* 2008; 17: 1695-704.
- Malhotra A, Elbein SC, Ng MC, Duggirala R, Arya R, Imperatore G, et al. Meta-analysis of genome-wide linkage studies of quantitative lipid traits in families ascertained for type 2 diabetes. *Diabetes* 2007; 56: 890-6.
- Arya R, Blangero J, Williams K, Almasy L, Dyer TD, Leach RJ, et al. Factors of insulin resistance syndrome-related phenotypes are linked to genetic locations on chromosomes 6 and 7 in nondiabetic mexican-americans. *Diabetes* 2002; 51: 841-7.
- An P, Freedman B I, Hanis C L, Chen YD, Weder AB, Schork NJ, et al. Genome-wide linkage scans for fasting glucose, insulin, and insulin resistance in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Blood Pressure Program: evidence of linkages to chromosome 7q36 and 19q13 from meta-analysis. *Diabetes* 2005; 54: 909-14.
- Coburn CT, Knapp FF Jr, Febbraio M, Beets AL, Silverstein RL, Abumrad NA. Defective uptake and utilization of long chain fatty acids in muscle and adipose tissues of CD36 knockout mice. *J Biol Chem* 2000; 275: 32523-9.
- Collot-Teixeira S, Martin J, McDermott-Roe C, Poston R, McGregor JL. CD36 and macrophages in atherosclerosis. *Cardiovasc Res* 2007; 75: 468-77.
- Hirano K, Kuwasako T, Nakagawa-Toyama Y, Janabi M, Yamashita S, Matsuzawa Y. Pathophysiology of human genetic CD36 deficiency. *Trends Cardiovasc Med* 2003; 13: 136-41.

آمده از قدرت کافی برای تشخیص برخوردار نیستند، (۲) با وجود تعداد زیاد پلی‌مورفیسم‌های ژن CD36، تنها دو مورد از آن‌ها مورد بررسی قرار گرفت، (۳) به دلیل آن‌که فقط فراوانی ژنوتیپی و اللی پلی‌مورفیسم $rs10499859A>G$ از قانون هاردی - واینبرگ تبعیت می‌کرد و پلی‌مورفیسم دیگر در تعادل نبود، بررسی هاپلوتپ دو SNP مقدور نبود.

بر اساس یافته‌های به دست آمده پلی‌مورفیسم‌های $rs10499859$ و $rs13246513$ در ژن CD36 با میزان کلسترول - HDL ارتباط دارند. لازم است مطالعه‌های ژنتیکی روی جمعیت‌های بزرگ‌تر صورت پذیرد تا یافته‌های این بررسی تایید گردد و مشخص شود آیا می‌توان این

- Febbraio M, Abumrad NA, Hajjar DP, Sharma K, Cheng W, Pearce SF, et al. A null mutation in murine CD36 reveals an important role in fatty acid and lipoprotein metabolism. *J Biol Chem* 1999; 274: 19055-62.
- Morii T, Ohno Y, Kato N, Hirose H, Kawabe H, Hirao K, et al. CD36 single nucleotide polymorphism is associated with variation in low-density lipoprotein-cholesterol in young Japanese men. *Biomarkers* 2009; 14: 207-12.
- Meex SJ, van der Kallen CJ, van Greevenbroek MM, Eurlings PM, El Hasnaoui M, Evelo CT, et al. Up-regulation of CD36/FAT in preadipocytes in familial combined hyperlipidemia. *FASEB J* 2005; 19: 2063-5.
- Lepretre F, Linton KJ, Lacquemant C, Vatin V, Samson C, Dina C, et al. Genetic study of the CD36 gene in a French diabetic population. *Diabetes Metab* 2004; 30: 459-63.
- Zabetian A, Hadaegh F, Azizi F. Prevalence of metabolic syndrome in Iranian adult population, concordance between the IDF with the ATPIII and the WHO definitions. *Diabetes Res Clin Pract* 2007; 77: 251-7.
- Azizi F, Rahmani M, Emami H, Mirmiran P, Hajipour R, Madjid M, et al. Cardiovascular risk factors in an Iranian urban population: Tehran lipid and glucose study (phase 1). *Soz Praventivmed* 2002; 47: 408-26.
- Azizi F, Emami H, Salehi P, Ghanbarian A, Mirmiran P, Mirbolooki M, et al. Cardiovascular risk factors in the elderly: the Tehran Lipid and Glucose Study. *J Cardiovasc Risk* 2003; 10: 65-73.
- Daneshpour MS, Hedayati M, Eshraghi P, Azizi F. Association of Apo E gene polymorphism with HDL level in Tehranian population. *European Journal of Lipid Science and Technology* 2010; 112: 810-816.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988; 16: 1215.
- Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009; 120: 1640-5.
- Azizi F, Khalili D, Aghajani H, Esteghamati A, Hosseinpahan F, Delavari A, et al. Appropriate waist circu-

- mference cut-off points among Iranian adults: the first report of the Iranian National Committee of Obesity. Arch Iran Med 2010; 13: 243-4.
22. Coon H, Leppert MF, Eckfeldt JH, Oberman A, Myers RH, Peacock JM, et al. Genome-wide linkage analysis of lipids in the Hypertension Genetic Epidemiology Network (HyperGEN) Blood Pressure Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001; 21: 1969-76.
23. Heni M, Mussig K, Machicao F, Machann J, Schick F, Claussen CD, et al. Variants in the CD36 gene locus determine whole-body adiposity, but have no independent effect on insulin sensitivity. Obesity (Silver Spring) 2011; 19: 1004-9.20966915
24. Bokor S, Legry V, Meirhaeghe A, Ruiz JR, Mauro B, Widhalm K, et al. Single-nucleotide Polymorphism of CD36 Locus and Obesity in European Adolescents. Obesity 2010; 18: 1398-1403.
25. Yun YM, Song EY, Song SH, Song J, Kim JQ. CD36 polymorphism and its relationship with body mass index and coronary artery disease in a Korean population. Clin Chem Lab Med 2007; 45: 1277-82.

Original Article**Association of rs10499859 A>G and rs13246513 C>T Variants of CD36 Gene and Metabolic Syndrome: TLGS**

Zadeh Vakili A¹, Faam A¹, Daneshpour M¹, Hedayati M¹, Azizi F²

¹Obesity Research Center, & ²Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Science of Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, I.R. Iran.

e-mail: azizi@endocrine.ac.ir

Received: 25/06/2012 Accepted: 16/10/2012

Abstract

Introduction: CD36 is a key protein involved in regulating the uptake and utilization of fatty-acids in heart and skeletal muscle. The aim of this study is to assess the association between rs10499859 A>G and rs13246513 C>T polymorphisms of CD36 gene and metabolic syndrome (MetS). **Materials and Methods:** In this case-control study, 140 subjects with MetS and 187 healthy ones were randomly selected from among the Tehran Lipid and Glucose Study population. Biochemical and anthropometrical variables were measured, and polymorphisms were examined by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. **Results:** Case and control groups did not differ in allele and genotype frequencies for these SNPs. Under a dominant model, A and T alleles of these SNPs were significantly associated with elevated levels of HDL-C, before age and sex adjustment (P 0.027 and 0.016 respectively). A allele carriers had significantly increased levels of BMI compared to G allele carriers after adjustment for MetS, and under the dominant model (P= 0.009). Presence of G allele was also significantly associated with increased diastolic blood pressure (P= 0.016) before adjustment for confounders, using a recessive model. **Conclusion:** The results of this study show that genetic variation of CD36 gene was associated with metabolic risk factors such as HDL-C and BMI. Although the effect of each SNP polymorphism plays a small role, it depends specifically on their interaction with environmental factors.

Keywords: Metabolic syndrome, CD36 polymorphisms, rs10499859, rs13246513, HDL-C, Tehran