مجله دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد
سال ۶۱، شماره ۶
بهمن –اسفند۹۷ ، صفحه ۱۲۸۷-۱۲۷۹

www.mums.ac.ir
Medical Journal of Mashhad
University of Medical Sciences
Vol. 61, No.6 P: 1279-1287
Jun-Mar 2019

مقاله اصلی

بررسی پروفایل لیپیدی و بیان ژن Tax در بیماران قلبی آلوده به HTLV-1

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۱/۲۱- تاریخ پذیرش:۹۸/۰٤/۰۱

فاطمه سادات محمدی[۱]
محمود محمد زاده شبستری[۲]
آرمان مساوات[۳]
فائزه ثابت[۱]
فرناز مزینی[۱]
فرحزاد جباری آزاد[۴]
سید عبدالرحیم رضایی[۱*]

۱- مرکز تحقیقات ایمونولوژی، بخش التهاب و بیماری‌های التهابی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۲- گروه قلب و عروق، بیمارستان امام رضا، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران
۳- مرکز تحقیقات عفونت های منتقله از خون- جهاد دانشگاهی خراسان رضوی- مشهد، ایران
۴- مرکز تحقیقات آلرژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

* مشهد- میدان آزادی- پردیس دانشگاه- دانشکده پزشکی- مرکز تحقیقات التهاب و بیماری های التهابی
تلفن: ۳۸۰۰۲۳۷۷-۰۵۱
Email: RezaeeR@mums.ac.ir

خلاصه

مقدمه

آترواسکلروزیس یکی از عوامل شایع مرگ و میر در کشورهای پیشرفته و در حال توسعه بوده و التهاب مزمن از عوامل خطر در بیماری آترواسکلروزیس می‌باشد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی تاثیر آلودگی به HTLV-1 بر حضور یا عدم حضور و وسعت بیماری آترواسکلروزیس در منطقه اندمیک ابتلا به HTLV-1 می‌باشد.

روش کار

در این مطالعه از ۵۰ نفر در۴ گروه شامل، ۱۴ بیمار +CAD+HTLV-1، ۸ بیمار +CAD-HTLV-1، ۱۷ بیمار-CAD+HTLV-1 و ۱۱ فرد کنترل سالم (-CAD-HTLV-1)، نمونه خون دریافت شد. سپس، بیان ژن Tax در آن ها با روش Real-Time PCR, TaqMan ارزیابی گردید. شاخص‌های لیپیدی، کلسترول، تری گلیسرید، LDL و HDL به عنوان عوامل خطر شایع بیماری عروق کرونر در سرم بیماران اندازه گیری شد.

نتایج

میزان HDL در گروه +CAD+HTLV-1 در مقایسه با گروه +CAD-HTLV-1 بطور قابل توجهی کمتر بود (p=۰/۰۴). میزان کلسترول تام در گروه +CAD+HTLV-1 بیشتر از گروه -CAD+HTLV-1 و -CAD-HTLV-1 بود (به ترتیب، p=۰/۰۰۱ و p= ۰/۰۰۱). میزان کلسترول تام در گروه +CAD-HTLV-1 بیشتر از گروه -CAD+HTLV-1 و -CAD-HTLV-1 بود (به ترتیب، p=۰/۰۰۱ و p=۰/۰۰۲) . میزان LDL در گروه +CAD+HTLV-1 بطور قابل توجهی بیشتر از گروه -CAD+HTLV-1 بود (p=۰/۰۰۱). همچنین، میزان LDL در گروه +CAD-HTLV-1 بیشتر از گروه -CAD+HTLV-1 بود (p=۰/۰۱).

نتیجه‌گیری

HTLV-1 می‌تواند پروفایل لیپیدی را تغییر دهد. همراهی بین LDL، HDL، کلسترول و Tax نشان داد، Tax به عنوان فاکتور بیماری زایی اصلی ویروس می‌تواند با برهم زدن غلظت سایتوکاین‌ها، افزایش کلسترول تام، LDL و کاهش HDL، تشکیل پلاک را در بیماران آلوده با HTLV-1 تسهیل نماید.

کلمات کلیدی

آترواسکلروزیس، HTLV-1، LDL، Tax، تری گلیسرید، کلسترول.

پی نوشت: این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

مقدمه

بیماری عروق کرونر (Coronary artery disease, CAD) یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در جهان است. در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه این بیماری مسئول یک سوم مرگ و میر در افراد بالاتر از ۳۵ سال می‌باشد (۱). آترواسکلروزیس، شایع‌ترین علت بیماری عروق کرونر است. امروزه، التهاب مزمن و فعال شدن سیستم ایمنی به عنوان عوامل خطر اصلی برای آترواسکلروزیس شناخته می‌شود. بر این اساس، سیستم ایمنی میزبان به طور مداوم در افراد درمان نشده و تا حدودی در بیماران درمان شده با سابقه بیماری‌های عفونی فعال باقی می‌ماند. به تازگی پیشنهاد شده است که، فعال شدن مزمن سلول‌های T با آترواسکلروز مرتبط است (۲). بر اساس شواهد بدست آمده از مطالعات، عفونت‌های ویروسی به عنوان یک نمونه از فعال کننده‌های سیستم ایمنی در ایجاد آترواسکلروزیس نقش مهمی ایفاء می‌نمایند (۳). تا کنون ارتباط بیماری‌های عفونی از جمله *کلامیدیا پنومونیه*، سیتومگالوویروس، ویروس هرپس سیمپلکس، ویروس هپاتیت C، ویروس نقص سیستم ایمنی انسان و *هلیکوباکتر پیلوری* با افزایش شیوع و پیشرفت آترواسکلروزیس مطرح شده است (۴). بعضی مطالعات نشان داده‌اند که ویروس بیماری Marek و هرپس ویروس مرغی، سبب ایجاد پلاک آترواسکلروتیک در عروق خونی مرغ می‌شود. طبق نتایج آن‌ها، عفونت سلول‌های عضلانی صاف با این ویروس در شرایط *برون تنی*، منجر به تجمع کلسترول در سیتوپلاسم سلولی می‌شود (۵).

ویروس لنفوتروپیک انسانی نوع ۱ (Human lymphotropic virus type 1, HTLV-1)، نخستین بار در سال ۱۹۸۰ در بیماران مبتلا به لنفوم پوست شناسایی و مشخص شد که می‌تواند منجر به بیماری التهابی شود (۶). عفونت با این ویروس در مناطق خاصی از دنیا، جنوب غربی ژاپن، آفریقای مرکزی، جزایر کارائیب، مناطق آمریکای جنوبی، استرالیا ، مالزی و ۵ شهر ایران به ویژه استان خراسان رضوی اندمیک می‌باشد (۷, ۸). این ویروس، موجب بیماری‌های التهابی از جمله لوسمی سلول‌های T بالغین (ATLL)، فلج اسپاسمی گرمسیری همراه با میلوپاتی (HTLV-associated myelopathy-tropical spastic paraparesis, HAM/TSP) و درماتیت عفونی می‌گردد(۹). مطالعات محدودی نیز همراهی عفونت HTLV-1 با بیماری قلبی عروقی را نشان داده‌اند (۱۰، ۱۱). یکی از مکانیسم‌های پیشنهادی برای ارتباط عوامل عفونی با بیماری عروق کرونر، تغییرات ناشی از سایتوکاین‌های ترشح شده در طی عفونت بر سطوح لیپید، لیپوپروتئین‌های سرم و آنزیم‌های مرتبط می‌باشد (۱۲).

هدف از پژوهش حاضر، تعیین نقش HTLV-1 در بروز و پیشرفت بیماری قلبی می‌باشد. بنابراین، میان کنش ویروس و میزبان از نظر تاثیر پروتئین ویروسی Tax به عنوان فاکتور بیماری‌زا بر روی پروفایل لیپید شامل: LDL، HDL، تری گلیسرید و کلسترول به عنوان فاکتور خطر در بیماران با درگیری عروق کرونر بررسی گردید.

روش کار

ملاحظات اخلاقی و جمعیت مورد مطالعه

مطالعه‌ی حاضر با شماره IR.MUMS.REC.1393.13 در کمیته اخلاق پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مشهد تایید و تصویب گردید. تمامی مراحل انجام مطالعه (بخش انسانی و حیوانی) طبق آخرین بیانیه اخلاق در پژوهش هلسینکی و منشور اخلاق پژوهشی ایران، تدوین و انجام شده است. پیش از ورود افراد به مطالعه، از تمامی شرکت کنندگان رضایت نامه آگاهانه کتبی گرفته و از محرمانه بودن اطلاعات پزشکی آن‌ها اطمینان کامل داده شد. از میان ۷۰ بیمار آلوده به HTLV-1 که تحت آنژیوگرافی عروق کرونر قرار گرفتند، ۲۲ نفر (۱۴ نفر مبتلا به بیماری عروق کرونر و ۸ نفر بدون بیماری عروق کرونر) مطابق با معیارهای ذکر شده در این مطالعه انتخاب شدند.

معیار انتخاب بیماران

معیارهای ورود افراد به مطالعه و تشخیص بیماری عروق کرونر قلب بر مبنای توصیه انجمن قلب آمریکا انجام گرفت (۱۴). ابتدا بیماران بر اساس وجود درد قلبی (Chest pain) و

آزمون‌های غیر تهاجمی با یا بدون تغییرات در نوار قلب (ECG)، تست ورزش مثبت (ECG stress)، اسکن هسته‌ای مثبت قلب انتخاب شده‌اند. از بین ۷۰ بیمار آلوده به HTLV-1 و تازه تشخیص داده شده که همگی کاندید آنژیوگرافی بوده و هیچ درمان دارویی نیز دریافت نکرده بودند، فقط ۵۰ بیمار حائز معیارهای ورود به مطالعه شدند. در نهایت، بیماران پس از انجام آنژیوگرافی، بر مبنای نتایج آزمون‌های سرولوژیک، پروفایل لیپیدی و پایش بالینی در گروه‌های مختلف مطالعه تقسیم بندی شدند ($CAD^{-}HTLV\text{-}1^{+}$, $CAD^{+}HTLV\text{-}1^{+}$, $CAD^{-}HTLV\text{-}1^{-}$, $CAD^{+}HTLV\text{-}1^{-}$).

ارزیابی سرولوژی، پروفایل لیپیدی و بالینی

برای ارزیابی عوامل خطر بیماری قلبی عروقی، طبق پروتوکل استاندارد ۵ میلی لیتر نمونه خون وریدی از بیماران اخذ و سپس سرم آن‌ها جداسازی شد. ابتدا عفونت HTLV-1 با سنجش الایزا شناسایی (Dia.Pro, Italy) و سپس با روش PCR تایید شد (۱۳). ۱۷ بیمار HTLV-1 منفی با بیماری عروق کرونر ($CAD^{+}HTLV\text{-}1^{-}$) و ۱۱ فرد سالم ($CAD^{-}HTLV\text{-}1^{-}$) به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. پارامترهای بیوشیمیایی به عنوان عوامل خطر شایع بیماری قلبی عروقی شامل؛ کلسترول (Cholesterol)، تری گلیسیرید (TG)، لیپید با چگالی پایین (LDL)، لیپید با چگالی زیاد (HDL) اندازه گیری شد. تمامی بیماران توسط متخصص قلب و عروق ویزیت شدند. اکوکاردیوگرام برای تعیین ضایعات کرونری انجام گرفت و آخرین فیلم آنژیوگرافی توسط دو متخصص به طور جداگانه برای تشخیص درگیری در شریان‌های عروق کرونر ارزیابی شد (درگیری ۳-۱ شریان و Left ventricular ejection fraction: LVEF%). تمام شرکت کنندگان پرسشنامه استاندارد شامل: اطلاعات دموگرافی و پزشکی را تکمیل کردند.

مطالعه در موش‌های BALB/c

تعداد ۲۰ موش BALB/c ماده بالغ (۶-۴ هفته‌ای با وزن ۳۰-۲۰ گرم) تحت شرایط آزمایشگاهی نرمال در دمای ۱±۲۳°C با یک چرخه روشن/تاریک ۱۲ ساعته کنترل، دسترسی آزاد به غذای استاندارد و آب شیرین نگه داری شدند. این آزمایش‌ها مطابق با اصول راهنما در مراقبت و استفاده از حیوانات انجام شده و توسط کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی مشهد تائید شد. موش‌ها به طور تصادفی به گروه‌های زیر تقسیم شدند: ۱- کنترل (n=۱۰ در آزمایش‌های بیوشیمیایی) و ۲- موش‌های آلوده به HTLV-1 (n=۱۰). در گروه آلوده به HTLV-1 به موش‌ها بطور داخل صفاقی 10^6 سلول MT-2 در محلول نمک فسفات (PBS) تزریق شد، ولی در گروه کنترل فقط ۱۰۰ µL PBS (Sigma, USA) تزریق شد. سپس دو ماه بعد، آزمایش‌های بیوشیمیایی انجام شد. براساس مطالعات انجام شده پرو ویروس HTLV-1 در بافت‌های مختلف از جمله مغز و نخاع، یک ماه پس از تلقیح سلول‌های MT-2 در موش قابل شناسایی می‌باشد (۱۵).

طراحی پرایمر

پرایمرها با نرم افزار Beacon Designer (version 7, USA) طراحی شدند. توالی پرایمرها و پروب‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. β2m به عنوان ژن رفرنس در اندازه گیری ژن *Tax* استفاده شد.

جدول ۱- توالی پرایمرها و پروب ها.

نام ژن	جهت توالی(3'→5')
Tax	Forward: 5'-AACACGTAGACTGGGTATCC-3' Reverse: 5'- CAAAGTTAACCATGCTTATTA-3' Probe: 5'-CATGCCCAAGACCCGTCGGAGG-3'
β_2M	Forward: 5'-TTGTCTTTCAGCAAGGACTGG-3' Reverse: 5'-CCACTTAACTATCTTGGGCTGTG-3' Probe: 5'-TCACATGGTTCACACGGCAGGCAT-3'

استخراج RNA و سنتز cDNA

ابتدا سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (Peripheral blood mononuclear cell, PBMCs) از نمونه‌های خون حاوی EDTA با روش گرادیان فایکول (Sigma, USA) جدا شدند. سلول‌ها دو دفعه با بافر فسفات (PBS) شسته شدند. سپس RNA از PBMCs با استفاده از کیت استخراج RNA (Roche,

Germany)، استخراج و سپس cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA ساخته شد (Thermo Scientific, USA).

آزمون Real-time PCR

پس از سنتز cDNA، رقت‌های متوالی از استانداردها (۵ رقت برای هر ژن) برای اندازه گیری نسبی تعداد کپی mRNA ژن *Tax* استفاده شد. از روش دو منحنی استاندارد برای تعیین کمیت ژن هدف و رفرنس از دستگاه Rotorgen Q-6000 (Qiagen, Germany)استفاده شد. شرایط واکنش عبارتست از: ۱- واسرشته شدن در دمای ۹۴°C به مدت ۱۰ دقیقه ۲- واسرشت شدن اولیه DNA الگو در دمای ۹۵°C به مدت ۱۰ ثانیه ۳- اتصال و تکثیر نهایی در دمای ۶۰°C به مدت ۴۵ ثانیه. در نهایت این چرخه دمایی ۴۵ مرتبه تکرار گردید. برای آنالیز استانداردها و تعداد نسخه mRNA مجهول از نرم افزار Rotor Gene 6000 استفاده شد. مقدار نسبی هر mRNA نسبت به مقدار نسبی mRNA β2m بهینه سازی شد. سپس مقدار نسبی *Tax* برای هر نمونه با یک معادله محاسبه شد. شاخص بهینه سازی شده = تعداد کپی ژن مورد نظر ÷ تعداد کپی ژن رفرنس (β2m)

بررسی آماری

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم افزار (Graph Pad software, Version 7) انجام شد. با توجه به آزمون Kolmogorov-Smirnov توزیع متغیرها در گروه‌های مورد مطالعه نرمال نبود، بنابراین برای تجزیه و تحلیل آماری از آزمون‌های غیر پارامتریک استفاده شد. برای مقایسه تفاوت بین گروه‌های آلوده به HTLV-1 و کنترل سالم، از روش‌های آماری Man Whitney و KrusKal Wallis استفاده شد. همبستگی بین متغیرهای مختلف با استفاده از آزمون Spearman's Rho ارزیابی شد.

میزان *P*-value <۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد.

نتایج

مطالعه حاضر بر روی ۵۰ نفر از جمله ۱۴ نفر آلوده به HTLV-1 و مبتلا به بیماری عروق کرونر ($CAD^+HTLV\text{-}1^+$)، ۸ نفر آلوده به HTLV-1 و بدون بیماری عروق کرونر ($CAD^-HTLV\text{-}1^+$)، ۱۷ نفر مبتلا به بیماری عروق کرونر بدون آلودگی با HTLV-1 ($CAD^+HTLV\text{-}1^-$) و ۱۱ نفر سالم ($CAD^-HTLV\text{-}1^-$) انجام شد. میانگین سنی (±SEM) شرکت کنندگان ۶۵/۶۵±۷/۹ بود. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که بین چهار گروه تفاوت معنی داری از نظر سن و جنس وجود ندارد و میزان سطح کلسترول، LDL، HDL در بین گروه‌ها دارای اختلاف معنی دار است (جدول ۲).

جدول۲- مشخصات دموگرافی و پروفایل لیپیدی در بین گروه‌های مطالعه.

مشخصات		$CAD^+HTLV\text{-}1^+$	$CAD^-HTLV\text{-}1^+$	$CAD^+HTLV\text{-}1^-$	$CAD^-HTLV\text{-}1^-$	*P*-Value
جنس	مرد	۸	۴	۹	۵	۰/۹
	زن	۶	۴	۸	۶	
سن		۶۷/۸۶ ± ۱/۸۸	۶۴/۳۸ ± ۳/۰۴	۶۴/۹۴ ± ۱/۶۱	۶۴/۸۲ ± ۱/۹۰	۰/۵
کلسترول تام		۲۴۷/۷۸ ± ۱۳/۴۴	۲۲۰/۳۷ ± ۹/۳۳	۱۵۸/۷۶ ± ۶/۴۴	۱۶۲/۱۸ ± ۱۲/۳۹	۰/۰۰۱
LDL		۱۷۷/۰۷ ± ۱۱/۶۸	۱۳۶/۴۲ ± ۸/۱۸	۹۶/۹۴ ± ۷/۷۲	۱۰۴/۴۵ ± ۱۰/۴۸	۰/۰۳
HDL		۴۲/۱۴ ± ۳/۲۱	۵۱/۵۰ ± ۳/۹۸	۳۸/۶۴ ± ۲/۶۴	۴۴/۷۲ ± ۱۰/۴۱	۰/۰۰۱
تری گلیسیرید		۱۴۵/۳۸ ± ۱۶/۱۵	۱۰۷/۷۵ ± ۹/۶۵	۱۲۸/۳۵ ± ۱۴/۹۱	۱۳۷/۸۱ ± ۱۷/۷۴	۰/۵

بررسی همبستگی بین پروفایل لیپیدی در گروه‌های مختلف مطالعه و میزان بیان ژن *Tax* به کمک آزمون Spearman's Rho نشان داد که بیان ژن *Tax* از HTLV-1، با پروفایل لیپیدی بیماران (کلسترول تام، LDL، HDL) همبستگی مثبت دارد (جدول ۲). میانگین غلظت سرمی کلسترول تام در گروه $CAD^+HTLV\text{-}1^+$ در مقایسه با گروه‌های $CAD^+HTLV\text{-}1^-$ و $CAD^-HTLV\text{-}1^-$ بطور معنی داری بیشتر بود (به ترتیب p=۰/۰۰۱ و p= ۰/۰۰۱) در حالی که در مقایسه با گروه $CAD^-HTLV\text{-}1^+$ به حد معنی داری نرسید. همچنین سطح سرمی کلسترول تام در گروه $CAD^-HTLV\text{-}1^+$ در مقایسه با گروه‌های CAD^+HTLV-

$^{-}$1 و CAD^{-}HTLV-1^{-} افزایش معنی دار داشت (به ترتیب p=۰/۰۰۱ و p= ۰/۰۰۲).

میانگین غلظت سرمی HDL در گروه CAD^{-}HTLV-1^{+} نسبت به گروه CAD^{+}HTLV-1^{+} بطور معنی داری بیشتر بود (p=۰/۰۴). به علاوه سطح سرمی HDL در گروه CAD^{-}HTLV-1^{+} در مقایسه با گروه CAD^{+}HTLV-1^{-} افزایش معنی داری داشت (p=۰/۰۰۳). سطح سرمی LDL در گروه CAD^{+}HTLV-1^{+} بیشتر از گروه CAD^{-}HTLV-1^{+} بود اگرچه این اختلاف به حد اطمینان ٪۹۵ نرسیده است (p=۰/۰۷)، اما همه در سطح اطمینان٪۹۳ معنی‌دار شد. به نظر می‌رسد اگر مطالعه با نمونه‌های بیشتری انجام شود احتمالا به حد معنی داری خواهد رسید. با این حال میانگین غلظت سرمی LDL در گروه CAD^{+}HTLV-1^{+} نسبت به میانگین آن در گروه CAD^{+}HTLV-1^{-} بطور معنی داری بیشتر بود (p=۰/۰۰۱) . همچنین سطح سرمی LDL در گروه CAD^{-}HTLV-1^{+} در مقایسه با گروه‌های CAD^{+}HTLV-1^{-} و CAD^{-}HTLV-1^{-} افزایش معنی داری نشان داد (به ترتیب p= ۰/۰۱ و p= ۰/۰۲).

نتایج ارزیابی پروفایل لیپیدی پلاسما در موش‌ها نشان داد که سطح تری‌گلیسرید پلاسما در گروه آلوده به HTLV-1نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۵). در مورد کلسترول اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نگردید.

بررسی تغییر بیان نسبی ژن Tax

نسبت بیان ژن *Tax* در افراد CAD^{+}HTLV-1^{+} و CAD^{-} HTL-1^{+} به ترتیب ۰/۰۳ ± ۰/۱۳ و ۰/۰۱ ± ۰/۰۵ بدست آمد. اگرچه بیان این ژن درگروه CAD^{+}HTLV-1^{+} ۴/۶ برابر بیشتر از گروه CAD^{-}HTLV-1^{+} می‌باشد با اینحال به سطح معنی‌داری p<۰/۰۵ یا حد اطمینان ٪۹۵ نرسیده است (p = ۰/۱) اما همانطور که ملاحظه می‌شود در سطح اطمینان٪۹۰ معنی‌دار است.

بحث

اغلب مطالعاتی که همراهی عفونت HTLV-1 و بیماری عروق کرونر را نشان می‌دهند، مطالعات گزارش-موردی و معرفی بیمارانی می‌باشد که آلودگی به HTLV-1 و همچنین درگیری قلبی بیماران تائید شده است. در مطالعه Stuver و همکاران در سال ۱۹۹۶مشخص شد بیماری‌های قلبی عروقی و تغییرات ECG در بیماران مبتلا به HTLV-1 افزایش قابل توجهی یافته است (۱۶). همچنین فرید حسینی و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان داشتند که شیوع HTLV-1 در بیماران قلبی تحت آنژیوگرافی از شیوع آن در جمعیت عمومی جامعه بیشتر است (۱۰). لایق و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه خود نشان دادند که ضخامت لایه داخلی و لایه میانی شریان کاروتید در بیماران آلوده به HTLV-1 در مقایسه با افراد سالم بزرگتر است (۲).

در مطالعه حاضر، سطح سرمی LDL و کلسترول تام در بیماران آلوده به HTLV-1 با بیماری عروق کرونر و بدون بیماری عروق کرونر (CAD^{+}HTLV-1^{+} و CAD^{-}HTLV-1^{+}) بالاتر از بیماران غیر آلوده به ویروس (CAD^{+} HTLV-1^{-} و CAD^{-}HTLV-1^{-}) می‌باشد. با توجه به همبستگی قابل توجهی که در گروه CAD^{+}HTLV-1^{+} بین LDL با *Tax* (p= ۰/۰۰۴ و۰/۷۹= r) و همچنین کلسترول با *Tax* (p= ۰/۰۴ و r= ۰/۶۱) مشاهده شد، این تفاوت می‌تواند با بیماری زایی عفونت HTLV-1 در بیماران آلوده مرتبط باشد. همچنین در تحقیق حاضر سطح تری‌گلیسرید در پلاسمای موش‌های آلوده نسبت به موش‌های کنترل افزایش معناداری نشان داد اما افزایش کلسترول غیر معنی‌دار بود. Carvalho و همکاران در سال ۲۰۱۵ گزارش کردند که، میزان تری گلیسرید و VLDL در زنان آلوده به HTLV-1 نسبت به افراد نرمال بیشتر است (۱۷). این محقق همچنین بیان کرد، در عفونت‌های ویروسی میزان تولید تری‌گلیسرید و VLDL به‌عنوان یک مکانیسم دفاعی و به دلیل اشغال اکثر گیرنده‌های لیپیدی افزایش می‌یابد تا بدین‌وسیله محل اتصال ویروس به سلول‌ها بلوک شده و از انتقال ویروس جلوگیری شده و در نتیجه عفونت محدود می‌شود (۱۶).

همچنین در مطالعات متعددی، شیوع بالایی از آترواسکلروزیس در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید آلوده به HTLV-1 را گزارش کرده‌اند (۱۸، ۱۹). در بیماران آرتریت

روماتوئید آلوده به HTLV-1 افزایش کلسترول و LDL، کاهش HDL به عنوان عوامل آتروژنیک در بروز بیماری‌های قلبی عروقی مشاهده شده است (۲۰). Koizumi و همکاران در سال ۲۰۰۵ بیان کرد ناحیه *pX* در HTLV-1 نقش مهمی در القای هایپرکلسترولمی در موش‌های BALB/c ترانس ژنیک *pX* در مقایسه با موش‌های BALB/c که به‌طور ژنتیکی به هایپرکلسترولمی و آترواسکلروز مقاوم هستند، دارد. نتایج آن‌ها نشان داد، با توجه به میزان زیاد IFN-γ در مفاصل بیماران آرتریت روماتوئید آلوده به ویروس و مفاصل موش‌های ترانس ژنیک احتمالا *Tax*، رمزگزاری شده در ناحیه ژنی *pX*، از طریق افزایش این سایتوکاین نقش مهمی در افزایش (ACAT1 ,Acetyl-CoA acetyltransferase 1) و در نتیجه القاء هایپرکلسترولمی در موش‌های ترانس ژنیک دارد (۱۸).

در مطالعه Panousis و همکاران مشخص گردید، IFN-γ با مکانیسم‌های مختلفی مانند، کاهش بیان (Apolipoprotein E, apoE) و (ATP binding cassette subfamily A member 1, ABCA1) و افزایش بین ACAT1 در متابولیسم کلسترول نقش دارد (۲۱). ACAT1، آنزیم داخل سلولی است که در استریفیه کردن کلسترول آزاد داخل سلولی و ذخیره آن‌ها به شکل قطرات لیپیدی در ماکروفاژ و تشکیل سلول فومی شکل (کف آلود)، جذب کلسترول رژیم غذایی از روده، فراهم کردن استرهای کلسترول به عنوان بخشی از هسته لیپیدی ساختمان لیپوپروتئین‌ها نقش دارند (۲۲). مطالعات گوناگون بر روی عفونت‌های مزمن نشان می‌دهد که درنتیجه‌ی هایپرکلسترولمی و افزایش تولید IL-6، IFN-γ، TNF-α و MCP-1 ارتشاح مونوسیت‌ها به سمت پلاک‌های آترواسکلروتیک افزایش‌یافته و تشکیل کمپلکس‌های مونوسیت–پلاکت القاء می‌شود. این کمپلکس‌ها میزان چسبندگی مونوسیت‌ها به VSMC و در نهایت پاسخ التهابی را افزایش می‌دهند (۲۳، ۲۴). HDL با کاهش LDL اکسیدشده و همچنین استرس اکسیداتیو دارای اثرات آنتی‌آترواسکلروتیک است (۲۵).

نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان داد در بیماران $CAD^{+}HTLV\text{-}1^{+}$ با بیان بیشتر پروتئین ویروسی Tax در مقایسه با بیماران $CAD^{-}HTLV\text{-}1^{+}$ میزان HDL سرم کمتر است (p= ۰/۰۴) و این کاهش از لحاظ همبستگی معکوس بین Tax با HDL نیز قابل توجه است (*p*=۰/۰۴ و r= – ۰/۴۷). تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که آلودگی با HIV نیز با هایپرگلایسمی (۲۶)، افزایش تری‌گلیسیرید و کاهش HDL همراه است (۲۷). با این حال مکانیسمی که التهاب و عفونت چگونه سطح HDL را کاهش می‌دهد شناخته نشده است (۲۸).

مطالعه حاضر نشان می‌دهد مولکول *Tax* از طریق برهم زدن غلظت سایتوکاین‌ها بخصوص IFN-γ با اثر بر افزایش کلسترول تام سرم و LDL و کاهش HDL در مستعد کردن افراد به تشکیل پلاک آترواسکلروتیک کمک خواهد کرد. به هر حال، عوامل ژنتیکی و محیطی در استعداد ابتلا به آترواسکلروزیس موثر بوده و HTLV-1 می‌تواند بروز آن را در بیماران آلوده تسهیل نماید. نتایج این پژوهش بیان می‌دارد، برای تعیین دقیق نقش ویروس بر چگونگی تشکیل پلاک و فرایند آترواسکلروزیس، مطالعه‌ای گسترده با تعداد نمونه بیشتری انجام گردد. همچنین، بررسی آپولیپوپروتئین‌ها و فاکتورهای التهابی موثر بر روند ایجاد پلاک و آترواسکلروزیس ضروری بنظر می‌رسد.

تضاد منافع

تمامی نویسندگان این مقاله اعلام می‌دارند که، هیچ گونه تضاد منافعی (مالی و غیر مالی) در پژوهش حاضر وجود ندارد.

تقدیر و تشکر

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد بخاطر تصویب و تامین هزینه‌های مطالعه حاضر (شماره طرح: ۹۱۱۲۸۸) و تمامی همکاران و پرسنل گرامی بخش قلب بیمارستان امام رضا(ع) و بیمارستان قائم (عج) و همچنین از حضور داوطلبانه تمامی بیماران محترم شرکت کننده در این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Kandaswamy E, Zuo L. Recent Advances in Treatment of Coronary Artery Disease: Role of Science and Technology. Int J Mol Sc. 2018;19(2). doi: 10.3390/ijms19020424.
2. Layegh P, Shoeibi A, Nikkhah K, Ghabeli Juibary A, Raftari S, Darbarpanah S, et al. Can HTLV-1 infection be a potential risk factor for atherosclerosis? Intervirology. 2014;57(6):365-8. doi: 10.1159/000365785.
3. Hulten E, Mitchell J, Scally J, Gibbs B, Villines TC. HIV positivity, protease inhibitor exposure and subclinical atherosclerosis: a systematic review and meta-analysis of observational studies. Heart. 2009;95(22):1826-35.
4. Ismail A, Khosravi H, Olson H. The role of infection in atherosclerosis and coronary artery disease: a new therapeutic target. Heart disease. 1999;1(4):233-40.
5. Fabricant CG, Fabricant J. Atherosclerosis induced by infection with Marek's disease herpesvirus in chickens. Am Heart J. 1999;138(5 Pt 2):S465-8.
6. Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JG, Araújo MG, Pinheiro SR, Guedes AC, et al. Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. Clin Microbiol Rev. 2010;23(3):577-89. doi: 10.1128/CMR.00063-09.
7. Hedayati-Moghaddam MR, Tehranian F, Bayati M. Human T-Lymphotropic Virus Type I (HTLV-1) Infection among Iranian Blood Donors: First Case-Control Study on the Risk Factors. Viruses. 2015;7(11):5736-45. doi: 10.3390/v7112904.
8. Prado FLSD, Prado R, Ladeia AMT. Cardiovascular risk profile in patients with myelopathy associated with HTLV-1. Braz J Infect Dis. 2017;21(3):226-33. doi: 10.1016/j.bjid.2017.01.007.
9. Proietti FA, Carneiro-Proietti AB, Catalan-Soares BC, Murphy EL. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. Oncogene. 2005;24(39):6058-68.
10. Farid Hosseni R, Jabbari F, Shabestari M, Rezaee SA, Gharivani Y, Valizadeh N, et al. Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) is a Risk Factor for Coronary Artery Disease. Iran J Basic Med Sci. 2013;16(3):217-20.
11. Farid R, Pishnamaz R. HTLV-I infection and accompanying diseases. Mashhad Med Faculty J.1381(76):129-40.
12. Khovidhunkit W, Kim MS, Memon RA, Shigenaga JK, Moser AH, Feingold KR, et al. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein metabolism: mechanisms and consequences to the host. J Lipid Res. 2004;45(7):1169-96.
13. Rafatpanah H, Torkamani M, Valizadeh N, Vakili R, Meshkani B, Khademi H, et al. Prevalence and phylogenetic analysis of HTLV-1 in a segregated population in Iran. J Med Virol. 2016;88(7):1247-53. doi: 10.1002/jmv.24448.
14. Hendel RC, Jabbar AY, Mahata I. Initial Diagnostic Evaluation of Stable Coronary Artery Disease: The Need for a Patient-Centered Strategy. J Am Heart Assoc. 2017;6(7): e006863.
15. Tanaka M, Nitta T, Sun B, Fujisawa JI, Miwa M. Route of primary HTLV-1 infection regulates HTLV-1 distribution in reservoir organs of infected mice. Exp Ther Med. 2011;2(1):89-93.
16. Stuver SO, Tachibana N, Okayama A, Mueller NE. Evaluation of morbidity among human T lymphotropic virus type 1 carriers in Miyazaki, Japan. J Infect Dis. 1996;173(3):584-91.
17. Carvalho LD, Gadelha SR, Marin LJ, Brito-Melo GE, Martins CP, Fonseca FG, et al. Are lipid disorders involved in the predominance of human T-lymphotropic virus-1 infections in women? Rev Soc Bras Med Trop. 2015 Nov-Dec;48(6):759-61. doi: 10.1590/0037-8682-0068-2015.
18. Koizumi A, Mizukami H, Inoue M. pX gene causes hypercholesterolemia in hypercholesterolemia-resistant BALB/c mice. Biol Pharm Bull. 2005;28(9):1731-5.
19. Van Doornum S, McColl G, Wicks IP. Accelerated atherosclerosis: an extraarticular feature of rheumatoid arthritis?. Arthritis Rheum. 2002; 46(4):862-73.
20. Park YB, Lee SK, Lee WK, Suh CH, Lee CW, Lee CH, et al. Lipid profiles in untreated patients with rheumatoid arthritis. J Rheumatol. 1999;26(8):1701-4.
21. Panousis CG, Zuckerman SH. Regulation of cholesterol distribution in macrophage-derived foam cells by interferon-gamma. J Lipid Res. 2000;41(1):75-83.
22. Chang TY, Chang CC, Lin S, Yu C, Li BL, Miyazaki A. Roles of acyl-coenzyme A:cholesterol acyltransferase-1 and -2. Curr Opin Lipidol. 2001; 12(3):289-96.
23. Minami M, Satoh M. [Chemokines as mediators for intercellular communication in the brain]. Nihon Yakurigaku Zasshi. 2000;115(4):193-200.
24. Zernecke A, Weber C. Chemokines in atherosclerosis: proceedings resumed. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2014;34(4):742-50.
25. Chen JY, Ye ZX, Wang XF, Chang J, Yang MW, Zhong HH, et al. Nitric oxide bioavailability dysfunction involves in atherosclerosis. Biomed Pharmacother. 2018;97:423-8.
26. Dube MP, Stein JH, Aberg JA, Fichtenbaum CJ, Gerber JG, Tashima KT, et al. Guidelines for the evaluation and management of dyslipidemia in human immunodeficiency virus (HIV)-infected adults receiving antiretroviral therapy: recommendations of the HIV Medical Association of the Infectious Disease Society of America and the Adult AIDS Clinical Trials Group. Clin Infect Dis. 2003; 37(5):613-27.
27. El-Sadr WM, Mullin CM, Carr A, Gibert C, Rappoport C, Visnegarwala F, et al. Effects of HIV disease on lipid, glucose and insulin levels: results from a large antiretroviral-naive cohort. HIV Med. 2005;6(2):114-21.

28. Feingold KR, Grunfeld C. The Effect of Inflammation and Infection on Lipids and Lipoproteins. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors. Endotext. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000.

Original Article

Evaluation of lipid profile and *Tax* mRNA expression in HTLV-1-infected patients with cardiovascular disease

Received: 10/04/2019 - Accepted: 22/06/2019

Fatemeh Sadat Mohammadi [1]
Mahmoud Shabestari [2]
Arman Mosavat [3]
Faezeh Sabet [1]
Farnaz Mozayani [1]
Farahzad Jabbari Azad [4]
Seyed Abdolrahim Rezaee [1*]

[1] *Immunology Research Center, Inflammation and Inflammatory Diseases Division, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*
[2] *Preventive Cardiovascular Care Research Center, Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*
[3] *Blood Borne Infections Research Center, Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Razavi Khorasan, Mashhad, Iran*
[4] *Allergy Research Center, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran*

* Immunology Research Center, Inflammation and Inflammatory Diseases Division
Faculty of Medicine, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

Tel: +98 513 800 2377
Email: RezaeeR@mums.ac.ir

Abstract

Introduction: Atherosclerosis is one of the most common causes of mortality in developed and developing countries, and chronic inflammation is an important risk factor for atherosclerosis. The study was aimed to investigate the effect of human lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) infection on the progression of atherosclerosis in the HTLV-1 endemic area.

Materials and Methods: Of 50 patients in 4 groups including 14 coronary artery disease+HTLV-1+ patients, 8 CAD-HTLV-1+, 17 CAD+HTLV-1- subjects and 11 healthy controls (CAD-HTLV-1-), blood specimens were obtained. Then, Tax gene expression was evaluated via real-time PCR, TaqMan method. Furthermore, lipid factors such as cholesterol, triglyceride, LDL and HDL were measured as common risk factors of coronary artery disease.

Results: The HDL levels in CAD+HTLV-1+ group was significantly lower than the CAD-HTLV-1+ group (p=0.04). Total cholesterol in CAD+HTLV-1+ group was higher than CAD+HTLV-1- and CAD-HTLV-1- groups (p=0.001 and p=0.001). Also, total cholesterol in CAD-HTLV-1+ group was higher than CAD+HTLV-1- and healthy groups (p=0.001 and p=0.002). The LDL level in CAD+HTLV-1+ group was significantly higher than CAD+HTLV-1- group (p=0.001). Moreover, LDL level in CAD-HTLV-1+ group was higher than CAD+HTLV-1- group (p=0.01).

Conclusion: The HTLV-1 can alter the lipid profiles. Association between HDL, LDL, cholesterol and Tax showed that Tax as main virulence factor of virus by dysregulation of cytokines production, increasing of cholesterol, LDL and decreasing of HDL can facilitate the plaque formation in HTLV-1-infected patients.

Key words:
Atherosclerosis, HTLV-1, Tax, LDL, HDL, TG, Cholesterol.
Acknowledgement: There is no conflict of interest.