

تأثیر پلی مرفیسم VDR Cdx-2 بر پاسخ شاخص‌های فریبی مرکزی به دریافت ویتامین D در افراد مبتلا به دیابت نوع 2: کارآزمایی بالینی تصادفی

سارا منصوری¹، سکینه شب بیدار²، تیرنگ رضا نیستانی³، ابوالقاسم جزایری⁴، محمد رضا اشراقیان⁵

- 1- دانشجوی کارشناسی ارشد علوم تغذیه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
- 2- استادیار گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
- 3- نویسنده مسئول: استاد گروه تحقیقات تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: neytr@yahoo.com
- 4- استادیار گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران
- 5- استادیار گروه اپیومولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، ایران

تاریخ دریافت: 94/2/18

تاریخ پذیرش: 94/6/20

چکیده

سابقه و هدف: بین کمبود غلظت سرمی 25 هیدروکسی ویتامین D (25OHD) و فریبی مرکزی ارتباط وجود دارد. هدف این مطالعه بررسی اثر دریافت روزانه دوز غنی شده با ویتامین D بر شاخص‌های فریبی مرکزی و نقش احتمالی پلی مرفیسم VDR Cdx-2 از گیرنده ویتامین D (VDR) بر پاسخ شاخص‌های فریبی به دریافت ویتامین D در افراد مبتلا به دیابت نوع 2 می‌باشد.

مواد و روش‌ها: 60 بیمار مبتلا به دیابت نوع 2 به‌طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند که یک گروه دوز ساده (PD) حاوی 170 میلی‌گرم کلسیم در هر 250 میلی‌لیتر (n=29) و گروه دیگر دوز غنی شده (FD) با 500 واحد بین‌المللی ویتامین D در هر 250 میلی‌لیتر (n=31) دو بار در روز به مدت دوازده هفته دریافت کردند. سطح سرمی 25OHD، گلوکز ناشتا، هموگلوبین گلیکوزیله، QUICKI، (Quantitative Insulin Check Index)، درصد توده چربی بدن (FM%)، توده چربی تنه (TF%)، بافت چربی احشایی (VAT) و دور کمر (WC) در ابتدای مطالعه و پایان مداخله اندازه‌گیری شد. ژنوتیپ‌های پلی مرفیسم VDR Cdx-2 در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 در گروه FD (n=60) تعیین شد.

یافته‌ها: پس از دوازده هفته سطح سرمی 25OHD به‌طور معنی‌داری در گروه FD نسبت به گروه PD افزایش یافت (35/4 nmol/L در مقابل 4/8 nmol/L - $p < 0/001$). میانگین تغییرات WC (1/3- در مقابل 1/6+ سانتیمتر و $p = 0/02$)، FM (5/1- در مقابل 0/60+ درصد و $p < 0/001$) TF (1/1- در مقابل 0/13 درصد و $p = 0/003$) و VAT (0/80- در مقابل 0/37+ a.u. و $p < 0/001$) به‌طور معنی‌داری در گروه FD نسبت به گروه PD کاهش یافت. 25OHD سرم تنها در گروه حامل ژنوتیپ AA افزایش یافت (34/8 نانومول در لیتر در گروه AA در مقابل 6/4- در گروه AG و 1/6- در گروه GG و $p < 0/001$). این تغییر با کاهش معنی‌دار در WC ($p = 0/004$)، FM% ($p < 0/001$)، TF% ($p < 0/001$) در حاملین ژنوتیپ AA همراه بود.

نتیجه‌گیری: دریافت روزانه دوز غنی شده با 1000 واحد ویتامین D به مدت دوازده هفته، شاخص‌های فریبی مرکزی مانند چربی تنه و چربی احشایی را در افراد مبتلا به دیابت نوع 2 بهبود بخشید که این مسئله در حاملین ژنوتیپ AA از پلی مرفیسم VDR Cdx-2 بیشتر بود.

واژگان کلیدی: ویتامین D، فریبی مرکزی، توده چربی، چربی احشایی، دیابت نوع 2، زن، گیرنده، پلی مرفیسم

• مقدمه

می‌باشد که می‌تواند مشکلات اجتماعی-اقتصادی و سلامت عمومی زیادی را برای ملت‌های با درآمد پایین ایجاد کند (2). توزیع چربی بدن بسیار حائز اهمیت است چرا که فریبی

فریبی، تجمع مقادیر اضافی چربی در بدن، شایع‌ترین ویژگی است که کشورهای با درآمد کم و متوسط مانند ایران با آن مواجه هستند (1) و یک عامل مهم بیماری و مرگ و میر

معکوس بین مصرف کلسیم و چربی بدن به‌ویژه در زنان نشان می‌دهند (17).

تعداد کمی از مطالعات ارتباط بین واریانت‌های ژنتیکی مختلف VDR و فریبی را مورد بررسی قرار داده‌اند. اخیراً Ochs-Balcom (18) رابطه‌ای معنی‌دار بین پلی مرفیسم Cdx-2 و فنوتیپ فریبی نشان داد. Rosenblum و همکارانش نشان دادند که مکمل یاری کلسیم و یا ویتامین D منجر به کاهش چربی احشایی می‌شود (19).

به علت خطر بالقوه کمبود ویتامین D در بیماری‌های مهم غیر اسکلتی مانند فریبی و نقش واریانت‌های ژنتیکی VDR در فریبی، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر دریافت ویتامین D از طریق دوغ غنی شده به مدت دوازده هفته بر روی شاخص‌های فریبی مرکزی و نقش احتمالی پلی مرفیسم Cdx-2 بر تعدیل اثر ویتامین D بر شاخص‌های مربوط به فریبی مرکزی انجام شد.

• مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه: مطالعه حاضر یک کارآزمایی بالینی تصادفی یک سو کور به مدت دوازده هفته و قسمتی از یک مطالعه بزرگ‌تر با هدف بررسی اثر دوغ غنی شده با ویتامین D بر پی آمدهای دیابت، در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 می‌باشد. پروتکل این مطالعه پیش از این با جزئیات به چاپ رسیده است (20). این کارآزمایی بالینی به‌طور مشترک توسط انستیتو تحقیقات تغذیه کشور (NNFTRI) و دانشگاه علوم پزشکی تهران (TUMS) انجام شد. اطلاعات کامل در مورد طراحی مطالعه و اهداف آن به شرکت کنندگان قبل از امضای رضایت‌نامه کتبی داده شد. پروتکل مطالعه از نظر علمی و اخلاقی توسط NNFTRI و TUMS تصویب گردید. این مطالعه در مرکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی (ClinicalTrials.gov) به شماره NCT01236846 ثبت شد.

نمونه‌ها، معیارهای ورود و عدم ورود: اطلاعات از نمونه‌های کارآزمایی بالینی قبلی (21) که در آنها فریبی احشایی ارزیابی شده بود به دست آمد. شرکت کنندگان از اعضاء جامعه دیابت ایران و جامعه دیابت گابریک وارد مطالعه شدند. داوطلبان به آزمایشگاه تحقیقات تغذیه‌ای NNFTRI دعوت شدند و از آنها خواسته شد 12-14 ساعت ناشتا باشند. معیارهای ورود شامل: (الف) قند خون ناشتا بالای 126 میلی‌گرم در دسی لیتر، (ب) سن 30-60 سال، (ج) تمایل به شرکت در مطالعه و (د) عدم

مرکزی عمدتاً با بروز بسیاری از بیماری‌ها مانند بیماری‌های قلبی عروقی، پرفشاری خون و دیابت همراه است. آسیب‌شناسی فریبی مرکزی پیچیده و شامل عوامل ژنتیکی و محیطی می‌باشد. تخمین زده می‌شود 40-70% تغییر در نمایه توده بدن و 37-81% در دور کمر ارثی بوده، در حالی که فاکتورهای اجتماعی و فرهنگی ممکن است مسئول حداقل 30% تغییرات باشد. مطالعات حاضر ارتباط معکوسی را بین سطح 25 هیدروکسی ویتامین D (25OHD) سرم و اجزاء سندروم متابولیک شامل غلظت بالای گلوکز خون، مقاومت به انسولین، اختلال ترکیب چربی‌های خون، پرفشاری خون و فریبی شکمی نشان می‌دهند (3, 4). فریبی با کاهش 25OHD در گردش همراه است و کمبود ویتامین D نیز به‌طور مستقل با افزایش توده بدن و توده چربی ارتباط دارد (5-9). از یک سو به علت رسوب ویتامین D در بافت چربی، ویتامین D زیست دسترسی کمتری در بیماران فریبه دارد و از سوی دیگر ممکن است ویتامین D نقشی در ایجاد فریبی از طریق تنظیم تعادل کلسیم داخل سلولی داشته باشد. افزایش کلسیم داخل سلولی سنتز چربی را تحریک و تجزیه چربی را مهار می‌کند (10). اخیراً متآنالیزی از کارآزمایی‌های بالینی، اثرات مفیدی از مکمل یاری ویتامین D بر وزن بدن و توده چربی نشان داده است (11). با وجود این مطالعات آینده‌نگر که اثر کلسیم و ویتامین D را به‌تنهایی یا با هم بر وزن بدن و چربی شکمی بررسی کرده‌اند بی‌نتیجه بوده‌اند (8-12).

1,25OHD و VDR هر دو در تمایز سلول‌های چربی نقش دارند (13, 14). نشان داده شده که غلظت mRNA گیرنده ویتامین D بر سنتز چربی درون سلولی تأثیر می‌گذارد که ممکن است آن را القا یا مهار کند (15). علاوه بر این VDR می‌تواند به چندین ژن متصل شده و بر بیان آنها اثر بگذارد. در میان شکل‌های مختلف VDR، Cdx-2، پلی مرفیسمی کارکردی است و در محل اتصال فاکتور رونویسی Cdx-2 بالای اگزون 1 قرار دارد. آنالیزهای عملکردی نشان داده‌اند که جانشینی باز A با G، محل اتصال Cdx-2 را حذف می‌کند و فعالیت رونویسی VDR را به 70% آلل A کاهش می‌دهد (16). به نظر می‌رسد، Cdx-2 با کاهش خطر شکستگی در حاملین آلل A از طریق افزایش بیان VDR در روده، افزایش رونویسی پروتئین انتقال دهنده کلسیم که منجر به افزایش جذب کلسیم و افزایش دانسیته معدنی استخوان می‌شود، ارتباط دارد. از سوی دیگر اطلاعات همه‌گیری شناسی رابطه‌ای

نگهداری تعیین شد تا از پایداری ترکیبات اطمینان حاصل شود. اندازه‌گیری‌ها در آزمایشگاه مواد غذایی، نوشیدنی و آرایشی Maad، مورد تأیید سازمان غذا و داروی وزارت بهداشت ایران، انجام شد.

ارزیابی دریافت‌های رژیمی: دریافت‌های رژیمی با استفاده از پرسشنامه یادآمد 24 ساعته خوراک به مدت سه روز (شامل یک روز تعطیل) در شروع و پایان مداخله همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد ارزیابی شد. برای تبدیل اطلاعات دریافت رژیمی به مقادیر واقعی انرژی و مواد مغذی از جدول ترکیبات غذایی دپارتمان کشاورزی آمریکا (USDA) تعدیل شده برای غذاهای ایرانی استفاده شد.

اندازه‌های تن‌سنجی: وزن با لباس سبک و بدون کفش با استفاده از ترازوی دیجیتال (seca 808، هامبورگ آلمان) با دقت 0/1 کیلوگرم اندازه‌گیری شد. قد بدون کفش با استفاده از قدسنج (seca، هامبورگ آلمان) با دقت 0/1 سانتیمتر اندازه‌گیری شد. محیط دور کمر و باسن با متر نواری با دقت 0/1 سانتیمتر اندازه‌گیری شد. BMI با استفاده از فرمول $\text{weight(Kg)/height}^2(\text{m})$ محاسبه گردید.

ارزیابی درصد توده چربی بدن و چربی احشایی: برای ارزیابی درصد توده چربی بدن (FM) از روش آنالیز بیوالکتریکی امپیدانس (BIA) با دستگاه Quadscan 4000 system, Bodystat, UK استفاده شد. درصد چربی تنه (TF) و درجه بزرگی چربی احشایی (VAT) با استفاده از دستگاه Tanita AB-140 ViScan ژاپن اندازه‌گیری گردید. از تمام شرکت‌کنندگان خواسته شد تا از دریافت هر گونه غذا یا مایعات و انجام ورزش شدید به مدت حداقل 4 ساعت قبل از اندازه‌گیری‌ها اجتناب کنند. همچنین به آنها آموزش داده شد که از هیچ وسیله فلزی استفاده نکنند. اندازه‌گیری‌ها در دمای اتاق انجام شد در حالی که بیماران روی یک سطح نارسانا قرار گرفتند. شرکت‌کنندگان بدون بالش و در حالی که بازوهای آنها به موازات سینه قرار گرفته بود دراز کشیدند. طبق دستورالعمل‌های سازنده دستگاه، ViScan به صورت عمودی به سمت بدن شرکت‌کنندگان در سطح ناف قرار داده شد. الکتروود دستگاه بر روی شکم در تماس مستقیم با پوست قرار گرفت. اندازه‌گیری‌ها دو بار انجام شد.

اندازه‌گیری‌های آزمایشگاهی: نمونه‌های خون بعد از 12 ساعت ناشتایی جمع‌آوری شد و در دو لوله با و بدون ضد انعقاد EDTA تقسیم شد. لوله دارای ضد انعقاد برای

دریافت هرگونه ویتامین، رژیم غذایی، گیاه دارویی و یا مکمل امگا 3 حداقل در سه ماه قبل از ورود به مطالعه بود. معیارهای خروج شامل: (الف) سابقه بیماری‌های قلبی عروقی، گوارشی، کلیوی و سایر بیماری‌های اندوکراین، (ب) بارداری یا شیردهی، (ج) دریافت انسولین و (د) درمان‌های کاهش وزن بود.

پروتکل مطالعه، تصادفی سازی و مداخله: دوره خوگیری به مدت دو هفته در نظر گرفته شد تا در این مدت نمونه‌ها جهت رعایت یک رژیم تثبیت وزن بر اساس دستورالعمل‌های ADA (انجمن دیابت آمریکا) شامل 2 سروینگ لبنیات کم‌چرب (شیر و ماست)، 2-3 سروینگ میوه و 2-3 سروینگ سبزی در روز آموزش ببینند. مطالعه شامل دو بخش بود، در بخش اول (مداخله) اثرات دریافت روزانه دو واحد دوغ غنی شده با ویتامین D (Fortified Doogh) در مقایسه با دوغ ساده (Plain Doogh) بر شاخص‌های فربهی در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور شرکت‌کنندگان به‌طور تصادفی به دو گروه درمان (FD، شامل 170 میلی‌گرم کلسیم و 500 واحد ویتامین D در 250 میلی‌لیتر؛ $n_1 = 31$) و گروه کنترل (PD، شامل 170 میلی‌گرم کلسیم بدون ویتامین D در 250 میلی‌لیتر؛ $n_2 = 29$) با استفاده از اعداد تصادفی تولید شده توسط کامپیوتر تقسیم شدند. اعضاء تیم مداخله از گروه‌ها آگاه بودند، اما کارکنان آزمایشگاه از گروه‌ها اطلاع نداشتند، بنابراین مطالعه یک سو کور بود. از شرکت‌کنندگان خواسته شد همراه با ناهار و شام یک بطری دوغ (500 میلی‌لیتر در روز مساوی با 1000 واحد ویتامین D روزانه در گروه FD) مصرف کنند. مدت مداخله دوازده هفته بود. در بخش دوم مطالعه (نوتریژنتیک) شمار بیماران در گروه FD ($n = 60$) برای بررسی نقش احتمالی ژنوتیپ‌های پلی‌مرفیسم Cdx-2، بر پاسخ شاخص‌های فربهی به دریافت ویتامین D افزایش یافت.

کنترل پذیرش بیماران و کیفیت دوغ: شرکت‌کنندگان هر دو هفته یکبار به‌منظور ارزیابی پذیرش و نیز دریافت بسته دوغ جدید ملاقات می‌شدند. بطری‌های دوغ از نظر اندازه، رنگ، طعم و بسته‌بندی یکسان بودند. بنابراین شرکت‌کنندگان، مصاحبه‌کنندگان و کارکنان آزمایشگاه از گروه‌های مطالعه بی‌اطلاع بودند. میزان پذیرش دوغ غنی شده با استفاده از جداول تهیه شده برای مصرف، شمارش بطری‌های خالی و پرسش مستقیم از افراد در دیدارهای دو هفته‌ای و پیگیری تلفنی هفتگی ارزیابی می‌شد. ترکیب دوغ‌ها (شامل ویتامین D) بلافاصله پس از تولید، وسط و پایان دوره

gel documentation system (UVI doc; UVitec: UK) مشاهده شدند. هضم توسط Bpu101 به ژنوتیپ‌های AA (135 جفت بازی)، GA (135، 72 و 63 جفت بازی) و GG (72 و 63 جفت بازی) منتهی شد.

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات به صورت میانگین و انحراف معیار گزارش شدند. توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از Kolmogrov-Smirnov بررسی شد. تعادل هاردی-واینبرگ با استفاده از آزمون کای 2 تعیین شد (28). تفاوت در نسبت‌ها بین دو گروه با استفاده از آزمون کای 2 ارزیابی گردید. Independent sample t-test (برای متغیرهای دارای توزیع نرمال) و Mann-Whitney U (برای متغیرهای غیر نرمال) برای شاخص‌های متابولیک و تن‌سنجی بین گروه PD و FD استفاده شد. ارتباط بین متغیرها با استفاده از Pearson (r) (برای متغیرهای دارای توزیع نرمال) و Spearman (rs) (برای متغیرهای غیر نرمال) ارزیابی شد. Repeated-measure ANOVA برای تعیین تداخل زمان و گروه استفاده شد. در صورت تداخل معنی‌دار زمان و گروه، مقایسه تغییرات بین گروه‌ها در هفته دوازدهم با استفاده از ANOVA و به دنبال آن آنالیز با Polynomial contrast analysis و Tukey post hoc for trend در صورت لزوم انجام شد. وقتی که اثر زمان معنی‌دار بود مقایسه درون گروهی مقادیر با استفاده از paired sample t-test انجام گرفت. تمام آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS ver.18 انجام شد و P value کمتر از 0/05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

ویژگی‌های بیماران: ویژگی‌های شرکت‌کنندگان در شکل 1 نشان داده شده است. 29 زن و 31 مرد با سن $52/6 \pm 7/8$ سال در مطالعه شرکت داشتند. میانگین سن $51/3 \pm 7/7$: PD و $54/1 \pm 8/0$ (FD)، مدت بیماری $7/2 \pm 5/6$: PD و $8/6 \pm 5/5$ (FD) و نسبت جنس تفاوت معنی‌داری بین دو گروه نداشت (جدول 1). توزیع فراوانی ژنوتیپ‌های مشاهده شده برای Cdx-2، در تعادل هاردی واینبرگ بودند. توزیع سن، جنس و مدت زمان ابتلا به بیماری و مواجهه با نور آفتاب اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های ژنوتیپی نداشت (جدول 1).

جداسازی DNA ژنوم استفاده شد در حالی که سرم‌های حاصل از نمونه‌های لخته شده برای آنالیزهای بیوشیمیایی استفاده شد. غلظت 25(OH)D در گردش نیز همان‌طور که قبلاً توضیح داده شد به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) اندازه‌گیری شد (23، 24). در این مطالعه وضعیت ویتامین D بر اساس غلظت سرمی 25(OH)D به صورت: کافی ($\geq 50 \text{ nmol/L}$)، ناکافی (27/5-50 nmol/L) و کمبود ($\leq 27/5 \text{ nmol/L}$) تعریف شد (25). طبق موسسه پزشکی این مرزها با توجه به این واقعیت که نیازهای ویتامین D حداقل 97/5% جمعیت با غلظت 25(OH)D برابر 50 nmol/L تأمین می‌شود قرار داده شده‌اند (15). گلوکز ناشتای سرم (FSG) با استفاده از روش آنزیمی با کیت‌های تجاری پارس آزمون ایران و سیستم اتوآنالیزر (Selectra, Vitalab, Netherland) اندازه‌گیری شد. هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) با استفاده از روش رنگ‌سنجی بعد از جداسازی اولیه کروماتوگرافی (Biosystems, Spain) اندازه‌گیری شد. انسولین ناشتا سرم با روش ایمنورادیومتریک (IRMA) (Biosource, Belgium) و سیستم شمارش گاما (Gamma, Genesys, USA) تعیین گردید. تغییرات درون و میان‌سنجی برای تمام تست‌ها به ترتیب کمتر از 7 و 9% بود. حساسیت به انسولین به صورت شاخص QUICKI با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{QUICKI index} = 1 / [\log(\text{insulin})(\mu\text{U}/\text{mL}) + \log(\text{glucose})(\text{mg}/\text{dl})]$$

تعیین ژنوتیپ: DNA از نمونه‌های خونی حاوی ضد انعقاد با استفاده از کیت استخراج DNA با نام تجاری Prime Prep (Genet Bio کره جنوبی) طبق پروتکل شرکت سازنده جداسازی شد. پلی مورفیسم Cdx-2 (rs11568820) به روش PCR با استفاده از پرایمرهای 5'- CAG CAT gCC TgT - 3' و 5'- CCA gTA CTg CCA gCT CCC - CCT CAG C - 3' بر اساس گزارش Deng و همکاران (27) تعیین شد و به یک فرآورده 135 جفت بازی منتج شد. PCR برای 30 سیکل در دمای 68 درجه سانتی‌گراد که به آرامی سرد می‌شد انجام شد. DNA با آنزیم Bpu101 (Fermentas; thermo Scientific کانادا) هضم شد و فرآورده‌ها با الکتروفورز بر روی ژل آگاروز 1/5% حاوی اتیدیوم بروماید آنالیز شدند و در یک

جدول 1. مقایسه ویژگی‌های فردی شرکت کنندگان در مطالعه کارآزمایی بالینی و گروه‌های ژنوتیپی (rs11568820) Cdx-2 در مطالعه نوترینوتیک

P	گروه‌های ژنوتیپی Cdx-2 (n=60)			P	گروه‌های درمانی (n=58)		
	GG (n=10)	AG (n=19)	AA (n=31)		FD (n=31)	PD (n=29)	
0/14	56/9±8/9	52/6±7/1	52/4±7/8	0/16	54/1±8/0	51/3±7/7	سن (سال)
0/01	1/9	13/6	16/15	0/61	14/15	17/14	جنس (زن/مرد)
0/58	8/0±5/2	8/9±7/7	7/0±5/7	0/34	8/6±5/5	7/2±5/8	طول مدت ابتلا به دیابت (سال)
0/69	15/2	38/4	46/5	0/53	37/5	45/5	فعالیت فیزیکی (درصد) ¹
0/65	45/0±15/0	71/4±4/0	57/0±64/0	0/60	67/6±38/3	59/0±66/0	مواجهه با آفتاب (دقیقه/روز)

اطلاعات به صورت میانگین ± انحراف معیار و یا درصد بیان شده‌اند.

¹ فعالیت فیزیکی بسیار کم

کاهش یافت ($p=0/003$)، افزایش نشان دادند. همچنین تداخل معنی‌دار زمان و درمان برای QUICKI، 25(OH)D، WC، WHR، FM%، VAT و TF% مشاهده گردید. آنالیز تغییرات درون گروه‌ها کاهش معنی‌داری در WC ($p=0/002$)، WHR ($p=0/005$)، FM% ($p<0/001$)، VAT ($p<0/001$) و TF% ($p=0/003$) در گروه FD در مقایسه با PD نشان داد در حالی که QUICKI و 25(OH)D به‌طور معنی‌داری در گروه FD در مقایسه با PD ($p<0/001$) برای هر دو افزایش نشان دادند (جدول 2). وزن، BMI و FSG پس از 12 هفته درون گروه‌ها و بین گروه‌ها تغییر معنی‌داری نداشتند (جدول 2). ارتباط منفی معنی‌داری بین تغییرات 25(OH)D سرم و تغییرات WC ($r=-0/29$ و $p=0/35$)، FM% ($p=0/001$) و TF% ($r=-0/45$ و $p=0/015$) و VAT ($r=-0/32$ و $p=0/001$) مشاهده شد.

مداخله: در ابتدا، غلظت ویتامین D و سایر زیست‌نشانه‌ها بین دو گروه اختلاف معنی‌داری نداشت (جدول 2). اختلاف معنی‌داری بین هفته صفر و دوازده در غلظت 25(OH)D سرم وجود داشت. غلظت 25(OH)D به‌طور معنی‌داری در گروه FD در مقایسه با ابتدای مطالعه ($p<0/001$) افزایش و در گروه PD ($+35/4$ nmol/L در مقابل $-4/8$ nmol/L - $p<0/001$) کاهش یافت (جدول 2). بنابراین وضعیت ویتامین D در گروه FD در مقایسه با PD پس از 12 هفته مداخله به‌طور معنی‌داری بهبود یافت (جدول 3). همچنین اختلاف معنی‌داری بین هفته صفر و 12 برای HbA1c، درصد توده چربی و چربی احشایی مشاهده گردید. اگرچه در گروه FD، HbA1c ($p<0/001$)، FM% ($p<0/001$)، VAT ($p<0/001$) همگی بعد از 12 هفته به‌طور معنی‌داری کاهش یافتند، در گروه PD این متغیرها به جز HbA1c، که به میزان کم ولی معنی‌دار

جدول 2. مقایسه مقادیر اولیه و نهایی متغیرهای تحت مطالعه کارآزمایی بالینی

زمان × گروه	گروه	زمان	دوغ غنی شده با ویتامین D (n=31)			دوغ ساده (n=29)			
			P1	P2	P3	تغییر	بعد از مداخله	قبل از مداخله	
<0/001	<0/001	<0/001	35/4±18/3	77/1±19/7	41/6±15/9	-4/8±16/6	36/2±23/6	41/1±20/5	25 هیدروکسی ویتامین D (nmol/L)
0/08	0/70	0/63	-14/0±49/8	152/5±42/8	166/5±43/2	8/0±48/2	167/6±52/5	159/6±52/0	گلوکز ناشتا (mg/dl)
0/12	0/24	<0/001	-1/5±2/0	7/4±1/6	8/9±2/4	-0/71±1/7	8/3±1/6	8/9±1/7	HbA1c (%)
<0/001	0/70	0/67	0/02±0/02	0/29±0/02	0/28±0/02	-0/009±0/02	0/28±0/02	0/28±0/2	QUICKI
0/16	0/13	0/32	-0/2±2/7	73/5±11/5	73/7±13/8	0/86±2/6	79/7±13/8	78/8±13/2	وزن (Kg)
0/16	0/11	0/32	0/06±1/0	27/7±4/6	27/8±4/6	0/33±1/0	30/0±4/1	29/6±4/2	نمایه توده بدن (Kg/m2)
0/028	0/046	0/80	-1/3±5/0	95/8±8/9	96/8±11/4	1/6±4/4	102/2±10/8	101/1±9/8	دور کمر (cm)
0/051	0/07	0/27	-0/05±0/04	0/92±0/05	0/93±0/05	0/02±0/04	0/95±0/05	0/94±0/05	نسبت دور کمر به باسن
<0/001	0/025	<0/001	-5/1±5/5	33/3±9/6	36/7±10/6	0/60±3/3	40/3±9/4	38/9±9/6	درصد توده چربی
<0/001	0/85	0/009	-0/80±0/96	12/0±4/6	13/3±4/3	0/37±1/8	15/0±3/4	14/4±3/8	بافت چربی احشایی (a.u.*)
0/003	0/27	0/11	-1/1±2/0	34/7±9/5	35/9±9/6	0/13±0/87	39/7±7/8	38/8±8/6	درصد چربی تنه‌ای

P₃ for trend : مقایسه بین گروهی تغییرات متغیرها بعد از 12 هفته مداخله

Arbitrary unit*

P₁ for trend : مقایسه بین گروهی متغیرها در زمان پایهP₂ for trend : مقایسه بین گروهی متغیرها بعد از 12 هفته مداخله

جدول 3. مقایسه وضعیت ویتامین D بین گروه دوغ غنی شده و دوغ ساده [n (%)]

مطلوب	عدم کفایت		کمبود			
	قبل از مداخله	بعد از مداخله	قبل از مداخله	بعد از مداخله		
بعد از مداخله	7 (24/1)	12 (41/2)	16 (55/2)	12 (41/2)	6 (20/7)	دوغ ساده
قبل از مداخله	5 (17/2)	4 (12/9)	17 (54/8)	0 (0)	6 (19/4)	دوغ غنی شده با ویتامین D
جمع	27 (87/1)	16 (26/7)	33 (55/0)	12 (22/2)	12 (20)	

50 nmol/L < 27/5 nmol/L ≤ کمبود ; 27/5 nmol/L ≤ 50 nmol/L ≤ مطلوب

در مقایسه با دو گروه دیگر افزایش یافت ($p < 0/001$). افزایش 25(OH)D با یک تغییر معنی دار برای سایر زیست نشانگرهای فریپی مثل WC، FM% و TF% همراه بود که به‌طور معنی‌دار در گروه AA کاهش یافتند (به ترتیب $p=0/04$ ، $p < 0/001$ و $p < 0/001$). وقتی تغییرات زیست نشانگرها با استفاده از ANOVA و به دنبال آن تست Tukey post hoc مقایسه گردید، تفاوت معنی‌داری در غلظت 25(OH)D سرم بین گروه‌های AA و AG ($p < 0/001$) و AA و GG ($p < 0/001$) مشاهده شد، اما اختلاف‌های بین AG و GG از نظر آماری معنی‌دار نبود ($p = 0/77$). در حالی که برای FM%، گروه AA به‌طور معنی‌داری از دو گروه AG ($p < 0/001$) و GG ($p = 0/05$) متفاوت بود، اما هیچ تفاوت معنی‌داری بین گروه AG و GG وجود نداشت ($p = 0/60$). همچنین TF% تفاوت معنی‌داری بین دو گروه AA و AG ($p = 0/008$) نشان داد، اما تفاوت معنی‌داری بین AA و GG ($p = 0/24$) و یا بین AG و GG ($p = 0/69$) وجود نداشت. به علاوه تفاوت معنی‌داری در VAT میان ژنوتیپ‌های Cdx-2 مشاهده شد، به این صورت که گروه AA کاهش معنی‌داری در VAT در مقایسه با AG نشان داد ($p = 0/001$). در اینجا نیز AA و GG ($p = 0/61$) و همین‌طور AG و GG ($p = 0/11$) تفاوت معنی‌داری نداشتند. علاوه بر این گروه AA به‌طور معنی‌داری تفاوت بیشتری در QUICKI در مقایسه با AG ($p = 0/02$) و GG ($p = 0/001$) نشان داد. اگرچه هیچ اختلافی در تغییرات QUICKI بین گروه‌های AG و GG وجود نداشت ($p = 0/35$).

مطالعه نوتریژنتیک: تفاوت معنی‌داری در متغیرهای اولیه میان گروه‌های ژنوتیپی وجود نداشت. اگرچه، اختلاف معنی‌دار بین هفته صفر و 12 برای 25 هیدروکسی ویتامین D سرم مشاهده شد. در گروه AA، 25(OH)D به‌طور معنی‌دار پس از 12 هفته افزایش یافت ($p < 0/001$) و در سایر گروه‌ها (AG و GG) هیچ تغییر معنی‌داری مشاهده نشد (به ترتیب $p = 0/015$ و $p = 0/63$) (جدول 4). آنالیز مجدد اطلاعات میان واریانت‌های Cdx-2 روند معنی‌داری را برای توزیع کمبود ویتامین D در ژنوتیپ‌های Cdx-2 در ابتدای مطالعه نشان نداد ($\chi^2 = 0/03$ و $p \text{ trend} = 0/86$). اگرچه بعد از مداخله تست trend معنی‌دار بود ($\chi^2 = 29/1$ و $p \text{ trend} < 0/001$) که نشان می‌دهد بیش از 60% نمونه‌ها در ژنوتیپ GG و 98% در ژنوتیپ AG پس از 12 هفته مداخله دچار کمبود بودند (جدول 5). همچنین اختلاف معنی‌داری بین هفته صفر و 12 برای HbA1c و FM% مشاهده شد. اگرچه در گروه AA، HbA1c ($p < 0/001$) و FM% ($p < 0/001$) هر دو به‌طور معنی‌دار پس از 12 هفته کاهش یافتند، در گروه‌های AG ($p = 0/09$ برای FM% و $p = 0/18$ برای HbA1c) و GG ($p = 0/56$ برای FM% و $p = 0/06$ برای HbA1c) این متغیرها تغییری نکردند (جدول 4). تداخل معنی‌دار زمان و درمان برای 25(OH)D، QUICKI، WC، FM%، VAT و TF% در میان ژنوتیپ‌های Cdx-2 مشاهده شد. تست Post hoc Tukey نشان داد که گروه AA به‌طور معنی‌داری 25(OH)D بیشتری در مقایسه با گروه‌های AG ($p < 0/001$) و GG ($p = 0/006$) پس از 12 هفته داشتند. 25(OH)D در گردش در گروه AA

جدول 4. مقایسه متغیرها بین گروههای ژنوتیپی Cdx-2 (rs11568820) با دیت نوع 2 قبل و بعد از 12 هفته مداخله در مطالعه نوترینوتیک (n = 60)

زمان × گروه	P2	P1	زمان	P	GG (n=10)			AG (n=19)			AA (n=31)			متغیر
					قبل از مداخله	بعد از مداخله	تغییر	قبل از مداخله	بعد از مداخله	تغییر	قبل از مداخله	بعد از مداخله	تغییر	
<0/001	0/001	0/63	-1/6±9/7	5/13±2/84	52/8±2/65	0/15	-6/4±1/90	300±17/75	35/6±14/7	<0/001	34/8±18/3	77/1±19/7	41/6±15/8	D هیپورکسمی ویتامین D (nmol/L)
0/22	0/69	0/85	11/8±33/2	161/4±31/3	1500±270	0/63	-6/1±55/1	1708±61/3	1648±61/3	0/12	-140±49/8	152/5±42/8	166/5±43/2	گلوکز ناشنا (mg/dl)
0/31	0/50	0/001	-0/64±0/91	8/3±1/8	8/8±2/2	0/11	-0/75±2/0	8/3±1/6	9/0±1/5	<0/001	-1/5±2/0	7/4±1/6	8/8±2/4	HbA1c (%)
0/001	0/78	0/26	-0/02±0/02	0/27±0/01	0/29±0/02	0/27	-0/005±0/02	0/28±0/02	0/28±0/02	0/006	0/01±0/02	0/28±0/02	0/27±0/02	QUICKI
0/20	0/29	0/31	0/14±2/4	80/1±12/4	80/3±12/7	0/07	1/2±2/8	79/3±14/0	78/0±13/7	0/68	-0/20±2/7	74/0±12/0	74/2±12/1	وزن (Kg)
0/24	0/002	0/31	0/07±0/95	33/6±4/6	33/5±4/7	0/09	0/46±1/1	28/0±3/3	27/5±3/0	0/75	-0/05±1/0	27/7±4/9	27/8±4/8	نمایه توده بدن (Kg/m2)
0/027	0/83	0/33	2/1±4/3	108±11/6	106/2±9/8	0/25	1/3±4/5	100/2±8/9	99/0±9/8	0/17	-1/3±5/0	95/8±9/5	97/1±12/3	دور کمر (cm)
0/12	0/18	0/08	0/02±0/03	0/96±0/06	0/94±0/06	0/24	0/01±0/04	0/96±0/05	0/95±0/06	0/52	-0/004±0/04	0/93±0/04	0/93±0/05	نسبت دور کمر به باسن
<0/001	<0/001	0/019	-0/7±4/0	480±6/0	48/6±7/1	0/09	1/2±2/8	35/5±8/1	34/4±7/3	<0/001	-5/1±5/5	30/6±10/4	35/7±11/5	درصد توده چربی
<0/001	0/93	0/12	-0/09±1/1	13/4±1/4	13/5±1/2	0/07	0/25±0/72	13/0±4/4	12/7±4/5	0/003	-0/80±0/96	12/8±5/0	13/6±4/8	بافت چربی احشایی (a.u.*)
<0/009	<0/001	0/46	-0/03±2/4	47/2±2/6	47/2±2/0	0/14	0/57±1/4	33/7±6/4	33/1±6/8	<0/001	-1/1±2/0	35/0±9/4	36/0±9/6	درصد چربی تدهای

P: مقایسه درون گروهی قبل و بعد از مداخله
 P₁ for trend: مقایسه بین گروهی متغیرها در زمان پایه
 P₂ for trend: مقایسه بین گروهی متغیرها بعد از 12 هفته مداخله
 P₃ for trend: مقایسه بین تغییرات متغیرها بعد از 12 هفته مداخله
 Arbitrary unit*

جدول 5. وضعیت ویتامین D در میان گروه‌های ژنوتیپی Cdx-2 قبل و بعد از مداخله [n (%)]

جمع	GG (n=10)		AG (n=19)		AA (n=31)		
	قبل از مداخله	بعد از مداخله	قبل از مداخله	بعد از مداخله	قبل از مداخله	بعد از مداخله	
کمبود	12 (20/0)	3 (30/0)	2 (20/0)	10 (52/6)	4 (68/4)	0(0)	6 (19/4)
عدم کفایت	33 (55/0)	3 (33/8)	3 (30/0)	8 (42/1)	13 (68/4)	6 (19/3)	17 (54/8)
مطلوب	15 (25/0)	4 (44/4)	5 (50/0)	1 (5/3)	2 (10/5)	25 (80/6)	8 (25/8)

27/5 nmol/L < کمبود ; 50 nmol/L < عدم کفایت ≤ 27/5 nmol/L ; مطلوب ≤ 50 nmol/L.

• بحث

مکمل یاری با دوز بالای ویتامین D در افراد چاق و یا دارای اضافه‌وزن نشان ندادند (32، 33).

یافته‌های حاضر با برخی مطالعات دیگر که بیشتر کاهش چربی القا شده توسط ویتامین D را مربوط به تغییرات چربی احشایی مربوط می‌دانستند، همسو بود (31). ارتباط میان اندازه سلول‌های چربی، دریافت رژیمی ویتامین D و کلسیم و غلظت 25(OH)D تنها در محل انباشت omental گزارش شده است (31). پیشنهاد شده که محدوده BMI می‌تواند یک پیشگویی کننده مهم میزان و محل کاهش بافت چربی باشد (31). در جمعیت ما میانگین BMI در محدوده پر وزنی و فریبی بود (88/3% بیماران ما فریه و بقیه پر وزن بودند). فرضیه این است که در این محدوده از BMI، واریانس بافت چربی زیر پوستی کمتر از چربی احشایی است که ممکن است منجر به اثربخشی بیشتر مکمل یاری بر اندازه چربی احشایی شود (31).

1 و 25 هیدروکسی ویتامین D موجب افزایش جذب روده‌ای کلسیم می‌شود، بازگردش استخوان را کنترل و سنتز هورمون پاراتیروئید را سرکوب می‌کند و در نهایت بازجذب کلیوی کلسیم را افزایش می‌دهد (34). تمام ساز و کارهای یاد شده، کلسیم داخل سلولی را تعدیل می‌کنند که در تغییر لیپولیز و لیپوژنز نقش دارد (34). علاوه بر این پیشنهاد شده بود که دریافت کم ویتامین D رژیمی می‌تواند باعث تولید 1,25(OH)D و سپس تولید کورتیزول با فعال کردن 11بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز شود. افزایش در فعالیت این آنزیم در انسان می‌تواند موجب تجمع توده چربی در نواحی احشایی شود (35، 36). در حالی که ویتامین D و متابولیت‌هایش می‌توانند در بافت چربی رسوب کنند (7). با مکمل یاری ویتامین D، ممکن است فعالیت آنزیم کاهش یافته و موجب لیپولیز شود.

این مطالعه نشان داد که دریافت روزانه 1000 واحد ویتامین D به دنبال مصرف دوغ غنی شده، اثرات سودمندی بر شاخص‌های فریبی مرکزی شامل چربی تنه و چربی احشایی در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 دارد و این اثرات در بیمارانی که دارای ژنوتیپ AA پلی‌مورفیسم VDR-Cdx-2 بودند بیشتر بود. مطالعات مشاهده‌ای ارتباط معکوسی بین وضعیت 25(OH)D و فریبی نشان داده‌اند. ارتباط معکوسی بین ویتامین D و چربی احشایی (29)، BMI و بافت چربی زیرپوستی (8) در افراد African-American و Hispanic نشان داده شده است، اما 25(OH)D با تغییر 5 ساله در فریبی ارتباط نداشت (8). علاوه بر این، شیوع فقر ویتامین D (25(OH)D < 50 nmol/L) سه برابر در افراد با SAT و VAT بالا بیشتر از افراد با SAT و VAT پایین بود (30).

Caron-Jobin و همکاران یافتند که دریافت بالای رژیمی ویتامین D و سطح بالای 25(OH)D هر دو به‌طور معنی‌داری با سطح پایین تر چربی احشایی ارتباط دارند. همچنین غلظت سرمی 25(OH)D ارتباط نزدیکی با چربی کل اندازه‌گیری شده توسط BMI و یا کل توده چربی بدن نشان داد (31). یافته‌های مطالعه حاضر از کاهش توده چربی و بافت چربی احشایی به‌واسطه ویتامین D از یک کارآزمایی بالینی که در آن پس از 16 هفته دریافت روزانه آب‌پرتقال غنی شده با کلسیم و ویتامین D (روزانه 350 میلی‌گرم کلسیم و 100 واحد ویتامین D) موجب کاهش معنی‌دار در VAT شد، حمایت می‌کند. مشابه یافته‌های حاضر، آنها نیز هیچ اثر معنی‌داری بر BMI و وزن مشاهده نکردند (19). با وجود این، در یک مطالعه طولی، کلسیم و ویتامین D اثر کمی در پیشگیری از افزایش وزن در طول 3 سال داشتند (12). همین‌طور، دو کارآزمایی بالینی هیچ تغییر معنی‌داری را در وزن بدن، درصد توده چربی و نسبت دور کمر به باسن پس از

مطالعه حاضر محدودیت‌هایی نیز داشت. تعمیم تغییرات مشاهده شده پس از 12 هفته مداخله به دوره زمانی طولانی‌تر و مهم‌تر از همه اثر محافظت کننده احتمالی آنها در مقابل عوارض دراز مدت دیابت نیازمند مطالعات کنترل شده و خوب طراحی شده طولی می‌باشد. به علاوه، حجم نمونه نسبتاً کم بود و افراد شرکت کننده عمدتاً میانسال و سالمند بودند، که این مسئله ما را در تعمیم این یافته‌ها به جمعیت‌های مختلف بیشتر محدود می‌کند.

در نتیجه، یافته‌های کلیدی مطالعه حاضر به اثربخشی دریافت روزانه 1000 واحد ویتامین D از طریق دوغ غنی شده بر شاخص‌های فربهی شکمی شامل چربی تنه و احشایی در بیماران مبتلا به دیابت نوع 2 اشاره می‌کند. بر طبق دانسته‌های ما این اولین مطالعه‌ای است که اثرات متقابل پلی مورفیسیم Cdx-2 گیرنده ویتامین D و دریافت ویتامین D را بر پاسخ شاخص‌های فربهی در بیماران دیابتی بررسی می‌کند. به هر حال، مطالعات بیشتر لازم است تا این یافته‌ها را در جمعیت‌های متفاوت، شامل جمعیت‌های سایر گروه‌های نژادی و قومی به‌منظور اثبات اهمیت بیولوژیکی پلی مورفیسیم Cdx-2 در رابطه با فنوتیپ فربهی مرکزی تکرار کند.

پلی مورفیسیم Cdx-2 به‌طور معنی‌داری اثر مکمل یاری روزانه 1000 واحد ویتامین D را برای افزایش 25(OH)D و تغییر شاخص‌های فربهی تعدیل کرد. 25(OH)D در گردش به‌طور غیر قابل انتظار تنها در گروه AA در مقایسه با سایر گروه‌های ژنوتیپی افزایش یافت. این تفاوت با یک تفاوت معنی‌دار سایر شاخص‌های فربهی مانند WC، FM% و TF% بود که در گروه AA به‌طور معنی‌دار کاهش یافتند.

پلی مورفیسیم Cdx-2 با نتایج بالینی و جذب کلسیم ارتباط داشته است. یافته‌های مطالعه حاضر از نتایج مطالعات مشاهده‌ای و مولکولی پیشین حمایت می‌کند (37; 18). اخیراً Ochs-Balcom (18) رابطه مثبتی بین Cdx-2 با دور کمر و (ارتفاع شکمی) abdominal height و رابطه معنی‌دار مرزی بین Cdx-2 و BMI مشاهده کرد. پس از آن در یک مطالعه طولی نشان داده شد که Cdx-2 بروز (odds) فربهی شکمی را افزایش نمی‌دهد (38). در مطالعه‌ای دیگر SNP Cdx-2 با BMI و توده چربی در مردان چینی ارتباط داشت (39). Arai و همکاران نشان دادند که این پلی مورفیسیم منجر به 30% کاهش در فعالیت رونویسی پروموتور می‌شود، بیان VDR روده‌ای را کاهش می‌دهد و بر جذب کلسیم در روده اثر می‌گذارد.

• References

- Kelishadi R, Alikhani S, Delavari A, Alaedini F, Safaie A, Hojatzadeh E. Obesity and associated lifestyle behaviours in Iran: findings from the first national non-communicable disease risk factor surveillance survey. *Public Health Nutr* 2008;11:246-251.
- Salekzamani S, Neyestani TR, Alavi-Majd H, Houshiarrad A, Kalayi A, Shariatzadeh N, et al. Is vitamin D status a determining factor for metabolic syndrome? A case-control study. *Diabetes, metabolic syndrome and obesity: targets and therapy*. 2011;4:205-212.
- Hill JO, Peters JC. Environmental contributions to the obesity epidemic. *Science* 1998;280:1371-1374
- Dennis KE. Postmenopausal women and the health consequences of obesity. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* 2007;36:511-519
- Arunabh S, Pollack S, Yeh J, Aloia JF. Body fat content and 25-hydroxyvitamin D levels in healthy women. *J Clin Endocrinol Metab* 2003;88:157-161
- Kamycheva E, Joakimsen RM, Jorde R. Intakes of calcium and vitamin D predict body mass index in the population of Northern Norway. *J Nutr* 2003;133:102-106.
- Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000;72:690-693.
- Young KA, Engelman CD, Langefeld CD, Hairston KG, Haffner SM, Bryer-Ash M, Norris JM. Association of plasma vitamin D levels with adiposity in Hispanic and African Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:3306-3313.
- Parikh SJ, Edelman M, Uwaifo GI, Freedman RJ, Semega-Janneh M, Reynolds J, Yanovski JA. The relationship between obesity and serum 1, 25-dihydroxy vitamin D concentrations in healthy adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:1196-1199.
- Zemel MB, Miller SL. Dietary calcium and dairy modulation of adiposity and obesity risk. *Nutr Rev* 2004;62:125-131.

11. Soares M, Ping-Delfos WCS, Ghanbari M. Calcium and vitamin D for obesity: a review of randomized controlled trials. *Eur J Clin Nutr* 2011;65:994-1004.
12. Caan B, Neuhouser M, Aragaki A, Lewis CB, Jackson R, LeBoff MS, Margolis KL, Powell L, Uwaifo G, Whitlock E. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of postmenopausal weight gain. *Arch Intern Med* 2007;167:893-902.
13. Wood RJ. Vitamin D and adipogenesis: new molecular insights. *Nutr Rev* 2008;66:40-46.
14. Kong J, Li YC. Molecular mechanism of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 inhibition of adipogenesis in 3T3-L1 cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290:E916-E924.
15. Burton GR, Guan Y, Nagarajan R, McGehee Jr RE. Microarray analysis of gene expression during early adipocyte differentiation. *Gene* 2002;293:21-31.
16. Yamamoto H, Miyamoto KI, Li B, Taketani Y, Kitano M, Inoue Y, Morita K, Pike J, Takeda E. The Caudal-Related homeodomain protein Cdx-2 regulates vitamin D receptor gene expression in the small intestine. *J Bone Miner Res* 1999;14:240-247.
17. Zemel MB, Shi H, Greer B, Dirienzo D, Zemel PC. Regulation of adiposity by dietary calcium. *The FASEB Journal* 2000;14:1132-1138.
18. Ochs-Balcom HM, Chennamaneni R, Millen AE, Shields PG, Marian C, Trevisan M, Freudenheim JL. Vitamin D receptor gene polymorphisms are associated with adiposity phenotypes. *Am J Clin Nutr* 2011;93:5-10.
19. Rosenblum JL, Castro VM, Moore CE, Kaplan LM: Calcium and vitamin D supplementation is associated with decreased abdominal visceral adipose tissue in overweight and obese adults. *Am J Clin Nutr* 2012;95:101-108.
20. Neyestani TR, Djazayeri A, Shab-Bidar S, Eshraghian MR, Kalayi A, Shariatzadeh N, Khalaji N, Zahedirad M, Gharavi A, Houshiarrad A, Chamari M, Asadzadeh S. Vitamin D Receptor Fok-I polymorphism modulates diabetic host response to vitamin D intake: need for a nutrigenetic approach. *Diabetes Care* 2013;36:550-556.
21. Shab-Bidar S, Neyestani TR, Djazayeri A. Efficacy of vitamin D3-fortified-yogurt drink on anthropometric, metabolic, inflammatory and oxidative stress biomarkers according to vitamin D receptor gene polymorphisms in type 2 diabetic patients: a study protocol for a randomized controlled clinical trial. *BMC endocrine disorders* 2011;11:12.
22. Shab-Bidar S, Neyestani TR, Djazayeri A, Eshraghian MR, Houshiarrad A, Gharavi A, Kalayi A, Shariatzadeh N, Zahedirad M, Khalaji N, Haidari H: Regular consumption of vitamin D-fortified yogurt drink (Doogh) improved endothelial biomarkers in subjects with type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *BMC Med* 2011;9:125.
23. Neyestani TR, Gharavi A, Kalayi A. Determination of serum 25-hydroxy cholecalciferol using high-performance liquid chromatography: a reliable tool for assessment of vitamin D status. *International Journal for Vitamin and Nutrition Research* 2007;77:341-346.
24. Neyestani T.R GA, Kalayi A. Determination of serum 25-hydroxy cholecalciferol using high-performance liquid chromatography: A reliable tool for assessment of vitamin D status. *Int J Vitam Nutr Res* 2007;77:341-346.
25. Saintonge S, Bang H, Gerber L.M. Implications of a new definition of vitamin D deficiency in a multiracial US adolescent population: the National Health and Nutrition Examination Survey III. *Pediatrics*. *Pediatric* 2009;123:797-803.
26. Hrebicek J, Janout V, Malincikova J, Horakova D, Cizek L. Detection of insulin resistance by simple quantitative insulin sensitivity check index QUICKI for epidemiological assessment and prevention. *J Clin Endocrinol Metab* 2002;87:144-147.
27. Deng HW, Shen H, Xu FH, Deng HY, Conway T, Zhang HT, Recker RR. Tests of linkage and/or association of genes for vitamin D receptor, osteocalcin, and parathyroid hormone with bone mineral density. *J Bone Miner Res* 2002;17:678-686.
28. Yong Zou G, Donner A. The Merits of testing hardy-weinberg equilibrium in the analysis of unmatched case-control data: A cautionary note. *Ann Hum Genet* 2006;70:923-933.
29. Freedman BI, Wagenknecht LE, Hairston KG, Bowden DW, Carr JJ, Hightower RC, Gordon EJ, Xu J, Langefeld CD, Divers J. Vitamin D, adiposity, and calcified atherosclerotic plaque in African-Americans. *J Clin Endocrinol Metab* 2010;95:1076-1083.
30. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, Larson MG, Keyes MJ, McCabe EL, Robins SJ, O'Donnell CJ, Hoffmann U, Jacques PF. Adiposity, cardiometabolic risk, and vitamin D status: the Framingham Heart Study. *Diabetes* 2010;59:242-48.
31. Caron-Jobin M, Morisset AS, Tremblay A, Huot C, Légaré D, Tchernof A. Elevated serum 25 (OH) D concentrations, vitamin D, and calcium intakes are associated with reduced adipocyte size in women. *Obesity* 2011;19:1335-41.
32. Sneve M, Figenschau Y, Jorde R. Supplementation with cholecalciferol does not result in weight reduction in overweight and obese subjects. *Eur J Endocrinol* 2008;159:675-84.
33. Zittermann A, Frisch S, Berthold HK, Götting C, Kuhn J, Kleesiek K, Stehle P, Koertke H, Koerfer R. Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects of weight loss on cardiovascular disease risk markers. *Am J Clin Nutr* 2009;89:1321-1327.
34. Zemel MB. Mechanisms of dairy modulation of adiposity. *J Nutr* 2003;133:252S-256S.
35. Veilleux A, Rhéaume C, Daris M, Luu-The V, Tchernof A. Omental adipose tissue type 1 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase oxoreductase activity, body fat distribution,

- and metabolic alterations in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:3550-3557.
36. Veilleux A, Laberge PY, Morency J, Noël S, Luu-The V, Tchernof A. Expression of genes related to glucocorticoid action in human subcutaneous and omental adipose tissue. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;122:28-34.
37. Arai H, Miyamoto KI, Taketani Y, Yamamoto H, Iemori Y, Morita K, Tonai T, Nishisho T, Mori S, Takeda E. A vitamin D receptor gene polymorphism in the translation initiation codon: effect on protein activity and relation to bone mineral density in Japanese women. *J Bone Miner Res* 1997;12:915-921.
38. Beydoun MA, Tanaka T, Beydoun HA, Ding EL, Ferrucci L, Zonderman AB. Vitamin D receptor and megalin gene polymorphisms are associated with central adiposity status and changes among US adults. *J Nutr Sci* 2013;2:e33
39. Gu J-m, Xiao W-j, He J-w, Zhang H, Hu W-w, Hu Y-q, Li M, Liu Y-j, Fu W-z, Yu J-b. Association between VDR and ESR1 gene polymorphisms with bone and obesity phenotypes in Chinese male nuclear families. *Acta Pharmacol Sin* 2009;30:1634-42.

Effect of VDR Cdx-2 on the Response of Central Obesity Indices to Vitamin D Intake in Subjects with type 2 diabetes : A Randomized Controlled Trial

Mansouri S¹, Shab-Bidar S², Neyestani TR^{3*}, Djazayeri A⁴, Eshraghian MR⁵

- 1- M.Sc Student of Nutrition Sciences, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 2- Assistant Prof, Dept. of Community Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 3- *Corresponding author: Prof, Dept. of Nutrition Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, Email: neytr@yahoo.com
- 4- Prof, Dept. of Community Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
- 5- Prof, Dept. of Epidemiology and Biostatistics, Faculty of Health, Tehran University of Medical Science, Tehran, Iran

Received 8 May, 2015

Accepted 11 Sept, 2015

Background and Objectives: Emerging data suggest an association between low serum concentrations of 25(OH)D and central obesity. This study aimed to investigate the effect of daily intake of vitamin D-fortified yogurt drink (*doogh*) on central obesity indicators in subjects with type 2 diabetes (T2D) and the possible modulation of this effect by vitamin D receptor (VDR)-*Cdx-2* genotypes.

Materials and Methods: Sixty T2D subjects were randomly allocated into two groups to receive either plain *doogh* (PD; n=29, containing 170 mg calcium and no vitamin D/250 mL) or vitamin D3-fortified *doogh* (FD; n=31, containing 500 IU/250 mL) twice a day for 12 weeks. 25(OH)D, glycemic and adiposity indicators were evaluated before and after the intervention. VDR genotypes in the extended number of T2D subjects were determined in the FD group (n=60).

Results: After 12 weeks, in the FD compared to the PD group, serum 25(OH)D increased (+35.4 nmol/L vs. -4.8 nmol/L, p<0.001) and mean changes of waist circumference (WC; -1.3 vs. +1.6 cm, p=0.02), body fat mass (FM; -5.1 vs. +0.60 %, p<0.001), truncal fat (TF; -1.1 vs. 0.13%, p=0.003) and visceral adipose tissue (VAT; -0.80 vs. +0.37 a.u., p<0.001) decreased significantly. Circulating 25(OH)D was raised only in AA group (34.8 nmo/L in the AA group vs. -6.4nmol/L in the AG and -1.6nmol/L in the GG groups, p<0.001). This difference was accompanied by a significant decrease in the changes of WC (p=0.004), FM% (p<0.001) and TF% (p<0.001) in AA genotype.

Conclusions: Daily intake of 1000 vitamin D-fortified *doogh* for 12 weeks improved the central obesity indices in the T2D subjects, and the improvement was more pronounced in the carriers of the AA genotype of VDR-*Cdx-2*.

Keywords: Vitamin D, Adiposity, Fat mass, Visceral fat, Type 2 diabetes