

## اثر مکمل یاری همزمان کلسیم و ویتامین D بر کنترل گلاسمی، التهاب و استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت بارداری: یک مداخله موازی

مهدی صادقیان<sup>۱</sup>، ذات الله عاصمی<sup>۲</sup>، مریم کرم علی<sup>۳</sup>، پروانه صانعی<sup>۴</sup>، احمد اسماعیل زاده<sup>۵\*</sup>

### چکیده

مقدمه: این مطالعه با هدف ارزیابی تأثیرات مکمل یاری کلسیم و ویتامین D بر وضعیت متابولیک زنان باردار مبتلا به دیابت بارداری (GDM) طراحی شده است.

روش‌ها: این مداخله به صورت تصادفی سازی شده و کنترل شده با پلاسبو در کلینیک‌های بارداری وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شده است. شرکت کنندگان شامل ۵۶ خانم مبتلا به GDM در هفته ۲۸-۲۴ بارداری (محدوده سنی ۱۸ تا ۴۰ سال) بودند. افراد به طور تصادفی به دو گروه تخصیص داده شدند. به افراد گروه کلسیم به علاوه ویتامین D (۲۸ نفر) ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم در روز و یک قرص ویتامین D ۵۰۰۰۰ IU دو بار در طول مطالعه (یک بار در ابتدای مطالعه و یک بار در روز ۲۱ مداخله) داده شد و افراد در گروه دارونما (۲۸ نفر) دو عدد دارونما در زمان‌های ذکر شده دریافت کردند. نمونه‌های خون به صورت ناشتا و در ابتدا و هفته ۶ مداخله گرفته شد.

یافته‌ها: ۵۱ نفر (گروه دارونما ۲۶ نفر، گروه مداخله ۲۵ نفر) در مطالعه شرکت نمودند. آنالیز براساس یک رویکرد intention-to-treat (به قصد درمان) بود و همه ۵۶ خانم مبتلا به GDM (۲۸ نفر در هر گروه) در آنالیز نهایی وارد شدند. در مقایسه با گروه دارونما کاهش معنی داری در گلوکز ناشتای پلاسما ( $mmol/L$   $-0.89 \pm 0.69$  در مقابل  $mmol/L$   $+0.26 \pm 0.92$ ،  $P < 0.001$ )، سطح انسولین سرمی ( $pmol/L$   $-13.55 \pm 32.25$  در مقابل  $pmol/L$   $+9.17 \pm 38.05$ ،  $P = 0.02$ ) و  $HOMA-IR$  ( $-0.91 \pm 1.18$  در مقابل  $+0.63 \pm 2.01$ ،  $P = 0.001$ ) و افزایش معنی داری در QUICKI ( $+0.02 \pm 0.03$  در مقابل  $-0.02 \pm 0.02$ ،  $P = 0.003$ ) مشاهده شد. به علاوه، بعد از مداخله کاهش معنی داری در گروه مداخله در سطح سرمی LDL کلاسترول و نسبت کلاسترول تام به HDL کلاسترول و افزایش معنی داری در سطح HDL کلاسترول در مقایسه با گروه دارونما مشاهده شد. همچنین مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D سطح GSH را افزایش ( $\mu mol/L$   $+51.14 \pm 131.64$  در مقابل  $\mu mol/L$   $-47.27 \pm 203.63$ ،  $P = 0.03$ ) و سطح MDA را در مقایسه با گروه دارونما کاهش داد ( $\mu mol/L$   $+0.6 \pm 0.66$  در مقابل  $\mu mol/L$   $+0.93 \pm 2$ ،  $P = 0.02$ ).

نتیجه‌گیری: مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D در زنان مبتلا به GDM اثرات مفیدی بر پروفایل متابولیکی آن‌ها داشت.

واژگان کلیدی: دیابت بارداری، مکمل یاری کلسیم، ویتامین D، پروفایل متابولیک

۱- مرکز تحقیقات امنیت غذایی، گروه تغذیه جامعه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳- بخش بیماری‌های زنان و زایمان، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اراک، اراک، ایران

۴- کمیته تحقیقات دانشجویی، مرکز تحقیقات امنیت غذایی، گروه تغذیه جامعه، دانشکده تغذیه و علوم غذایی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۵- گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و رژیم درمانی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

\*نشانی: اصفهان، خیابان هزار جریب، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، صندوق پستی ۸۱۷۴۵، تلفن: ۰۳۱-۳۷۹۲-۳۱۵۱، نمابر: ۰۳۱-۳۶۶۸۱۳۷۸.

پست الکترونیک: esmailzadeh@hlth.mui.ac.ir

## مقدمه

دیابت بارداری<sup>۱</sup> یک عارضه بارداری است که به وسیله عدم تحمل کربوهیدرات و بیماری‌های متابولیک شناخته می‌شود [۱]. تقریباً ۷ درصد تمام زنان باردار در آمریکا مبتلا به GDM هستند، اما شیوع آن از ۱ تا ۴ درصد همه بارداری‌ها در دنیا را شامل می‌شود که به جمعیت مورد مطالعه و معیار تشخیص بستگی دارد [۲]. به‌طور کلی ۴/۷ درصد زنان باردار در ایران دچار این وضعیت هستند [۳]. عوامل مختلفی شامل سن بالاتر در زمان اولین بارداری، شرایط استرس‌زای زندگی و شیوه زندگی بدون تحرک در کنار فعالیت فیزیکی کمتر، رژیم نامناسب و دریافت غذایی با انرژی زیاد گزارش شده‌اند که منجر به افزایش خطر می‌شوند [۴]. GDM با مقاومت انسولینی، عدم کارایی عروق، بیماری عروقی، ماکرووزومی، هیپوگلیسمی نوزادی، افزایش بیلی روبین خون [۵]، سزارین، فشار خون بارداری و وضع حمل زود هنگام [۶] ارتباط دارد. درمان‌های کنونی برای GDM شامل یک رژیم با شاخص گلیسمی پایین، محدودیت کربوهیدرات [۷]، استفاده از برخی عوامل خوراکی کاهنده قندخون [۸] و درمان انسولینی [۹] می‌باشد. تعداد کمی از مطالعات اخیر نشان داده‌اند که مکمل یاری با کلسیم [۱۰] و ویتامین D [۱۱] در بیماران مبتلا به GDM ممکن است بر پیامدهای بارداری تأثیر بگذارد. اگرچه تأثیر ترکیبی مکمل یاری کلسیم به‌علاوه ویتامین D بر هموستاز گلوکز و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در بیماران GDM آزمون نشده است، بعضی مطالعات اثرات مکمل یاری جداگانه آن‌ها را بر پروفایل متابولیک و استرس اکسیداتیو در این بیماران گزارش کرده‌اند [۱۲]. مطالعه قبلی ما در بیماران GDM نشان داد که مکمل یاری با ویتامین D بعد از ۶ هفته منجر به بهبود عملکرد انسولین و کاهش کلسترول تام و LDL کلسترول می‌شود [۱۲]. فرض بر این است که کلسیم و ویتامین D به‌طور مستقل عمل نکرده و به‌صورت مشترک و باهم عمل می‌کنند. گزارش‌های قبلی نشان داده‌اند مکمل یاری مشترک آن‌ها بسیار مؤثرتر از مکمل یاری جداگانه کلسیم

یا ویتامین D بر پروفایل متابولیکی است. Harinarayan و همکاران بعد از ۸ هفته مکمل یاری با ۱۰۰۰۰ U/day ویتامین D و ۱۰۰۰ mg/day کلسیم در افراد غیردیابتی با ویتامین D کافی (vitamin D efficient) در عملکرد سلول بتای پانکراس (HOMA-B: Homeostatic model assessment-beta cell function) بهبود قابل توجهی مشاهده کردند [۱۳]. با این حال یک مکمل یاری ۳ ماهه با ویتامین D (دوز روزانه ۳۵۳۳ U که بعد از ۵ نفر اول به ۸۵۳۳ افزایش یافت) و ۳۵۰ mg کلسیم المتال در روز تأثیری بر مقاومت انسولینی زنان با افزایش وزن مبتلا به سندرم تخمدان پلی سیستیک (PCOS) نداشت [۱۴]. با توجه به این‌که نیاز به ویتامین D و کلسیم در دوران بارداری افزایش می‌یابد، عدم تغذیه مناسب در طول این دوره مهم زندگی ممکن است خطر GDM را افزایش دهد. مکمل یاری با کلسیم و ویتامین D ممکن است از طریق تأثیرشان بر تنظیم چرخه سلولی [۱۵]، فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی اکسیدان [۱۶] و سرکوب هورمون پاراتیروئید (PTH) [۱۷] بر پروفایل متابولیکی و استرس اکسیداتیو نقش بازی کنند. ما از تأثیر مکمل یاری هم‌زمان و همراه با هم کلسیم به‌علاوه ویتامین D بر عملکرد انسولین، پروفایل لیپیدی، فاکتورهای التهابی و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در GDM اطلاعی نداریم. بنابراین مطالعه حاضر به‌منظور یافتن اثرات مکمل یاری کلسیم به‌علاوه ویتامین D بر وضعیت متابولیکی زنان باردار مبتلا به GDM انجام شده است.

## روش‌ها

**شرکت کنندگان:** این مداخله تصادفی سازی شده کنترل شده با دارونما در شهر کاشان در فاصله مهرماه ۱۳۹۱ تا آذر ۱۳۹۱ انجام شد. برای تخمین حجم نمونه خطای نوع ۱ ( $\alpha$ ) را ۰/۰۵ و خطای نوع دو ( $\beta$ ) را ۰/۲ (قدرت: ۸۰ درصد) و سطح انسولین سرم را به‌عنوان متغیر کلیدی در نظر گرفتیم. براساس مطالعه قبلی [۱۸] SD برای انسولین سرم ۳۲/۲ pmol/L و اختلاف در میانگین (d) سطوح انسولین، ۲۵/۸ pmol/L بود. حجم نمونه براساس فرمول پیشنهاد شده برای مداخله‌های بالینی موازی ۲۵ نفر تخمین

<sup>1</sup> Gestational Diabetes Mellitus (GDM)

زده شد. در این مطالعه زنان باردار با محدوده سنی ۴۰-۱۸ سال که توسط آزمون one-step (۲٫۷۵ gr، ساعت OGTT) در هفته‌های ۲۸-۲۴ بارداری تشخیص GDM گرفته بودند وارد مطالعه شدند. سن بارداری از زمان آخرین دوره قاعدگی و بررسی بالینی کنونی در نظر گرفته شد. زنان باردار فاقد تشخیص قبلی عدم تحمل گلوکز، غربالگری شدند. GDM با استفاده از معیار ADA [۱] تشخیص داده شد؛ زنانی که گلوکز پلاسمای آن‌ها یکی از معیارهای زیر را شامل می‌شد به‌عنوان افراد مبتلا به GDM در نظر گرفته شدند: قند خون ناشتا  $\geq 5/1$  mmol/L،  $\geq 1$  ساعت  $\geq 10$  mmol/L،  $\geq 8/5$  mmol/L تعداد ۹۵۰ زن بارداری که در کلینیک‌های زایمان وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کاشان حضور یافتند، برای GDM غربالگری شدند. از بین این افراد، ۵۶ نفر واجد شرایط بودند (۸۸۶ نفر به دلیل نداشتن GDM از مطالعه خارج شدند و ۸ نفر به دلیل تشخیص GDM نوع A2 که نیاز به انسولین درمانی داشتند: گلوکز پلاسمای ناشتا (FPG: Fasting plasma glucose)  $5/8$  mmol/L و قندخون ۲ ساعته بعد از غذا  $6/7 >$  mmol/L از مطالعه خارج شدند). شرکت کنندگانی که دچار پارگی زودهنگام و نارس غشا، قطع ناگهانی جفت، فشارخون بارداری، تشنج بارداری، پرفشاری خون مزمن، کم کاری تیروئید، عفونت مجاری ادراری، بیماری‌های کبد و کلیه بودند یا در شرایط استرس‌زای زندگی یا مصرف سیگار و یا استفاده از استروژن درمانی قرار داشتند، وارد مطالعه نشدند. به‌علاوه افرادی که در طول مداخله نیازمند شروع انسولین درمانی بودند (گلوکز پلاسمای ناشتا (FPG)  $5/8$  mmol/L و قندخون ۲ ساعته بعد از غذا  $6/7 >$  mmol/L) از مطالعه خارج شدند. در نهایت تعداد ۵۶ خانم باردار انتخاب شدند؛ بعد از طبقه‌بندی براساس BMI قبل از مداخله ( $30 <$  و  $30 \geq$ ) و هفته‌های بارداری ( $26 <$  و  $26 \geq$ )، به‌طور تصادفی به گروه‌های مکمل کلسیم و ویتامین D ( $n=28$ ) و دارونما ( $n=26$ ) به مدت ۶ هفته تخصیص داده شدند. تخصیص تصادفی با استفاده از اعداد تصادفی ایجاد شده با کامپیوتر به‌دست آمد. مطالعه براساس دستورالعمل‌های بیانیه Helsinki انجام شد. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کاشان

تأیید گردید و در وبسایت IRCT با شماره ۲۰۱۳۱۱۲۰۵۶۲۳N۱۱ ثبت گردید. برای همه شرکت کنندگان رضایت‌نامه کتبی قبل از ثبت نام آن‌ها فراهم گردید. این مطالعه توسط کمک هزینه دانشگاه علوم پزشکی کاشان حمایت شد (شماره ثبت: ۹۲۱۱۰).

**طراحی مطالعه:** بیماران به‌طور تصادفی برای مصرف مکمل کلسیم به‌علاوه ویتامین D و دارونما تخصیص داده شدند. افرادی که در گروه مکمل کلسیم به‌علاوه ویتامین D بودند، ۱۰۰۰ mg کلسیم کربنات در روز به‌علاوه U ۵۰۰۰۰ قرص ویتامین D<sub>3</sub> دو بار در طول مطالعه (در ابتدا و روز ۲۱ مداخله) دریافت نمودند. افراد گروه دارونما، دارونماهای جداگانه برای کلسیم (روزانه) و ویتامین D (۲بار در طول مطالعه: در ابتدا و روز ۲۱ مداخله) دریافت نمودند. مکمل کلسیم و دارونمای آن توسط شرکت داروسازی شیمی تهران تولید شدند. ویتامین D و دارونمای آن توسط شرکت داروسازی دانا در تبریز و شرکت داروسازی اسانس باریج در کاشان تولید شد. طول مدت مداخله ۶ هفته بود، اگرچه ویتامین D و دارونمای آن فقط ۲ بار در طول ۶ هفته داده شد. قرص و کپسول دارونما از لحاظ رنگ، شکل، اندازه و بسته‌بندی شبیه قرص‌های کلسیم و کپسول‌های ویتامین D<sub>3</sub> بود. به‌منظور اطمینان از کورسازی، کلسیم و ویتامین D و دارونماهای آن‌ها در بسته‌های مشخص توسط تولیدکننده بسته‌بندی و کدگذاری گردید. کنترل کیفی مکمل‌های کلسیم و ویتامین D در آزمایشگاه وزارت غذا و دارو در تهران به روش‌های آنزیمی و HPLC انجام شد. بعد از کنترل کیفی، متوجه شدیم که مقدار کلسیم و کوله کلسیفرول در مکمل‌های تجویز شده به‌ترتیب در محدوده ۹۵۰-۱۲۰۰ mg و U ۴۷۵۰۰-۵۲۵۰۰ بود. از شرکت کنندگان خواسته شد تا در طول مطالعه تغییری در فعالیت فیزیکی یا دریافت‌های غذایی معمول خود ندهند و مکملی به‌جز مکمل فراهم شده توسط محققین مصرف نکنند. همچنین همه شرکت کنندگان  $400 \mu\text{g/day}$  اسیدفولیک از شروع بارداری و  $60 \text{ mg/day}$  فروس سولفات از سه ماهه دوم مصرف می‌کردند. تبعیت از مکمل کلسیم به‌علاوه ویتامین D به‌وسیله اندازه‌گیری کلسیم سرمی و سطوح ویتامین D

به ترتیب ۱/۹ و ۳/۲ درصد بود. همه CV های میان و بین ارزیابی برای پروفایل لیپیدی کمتر از ۵ درصد بود. انسولین سرم توسط یک کیت ELISA ارزیابی شد (ایتالیا، میلان، Diametara). CV های میان و بین ارزیابی برای انسولین سرم به ترتیب ۳/۱ و ۵/۹ درصد بود. HOMA-IR (Homeostatic model assessment)، HOMA-B و QUICKI (Quantitative insulin sensitivity check index) براساس فرمول‌های پیشنهادی محاسبه شد. سطح سرمی پروتئین واکنشگر C با حساسیت بالا (hs-CRP: High-sensitivity C-reactive protein) با استفاده از یک کیت ELISA (آلمان، Nordhon، LDN) و با CV های میان و بین ارزیابی ۲/۶ و ۴/۵ درصد به ترتیب ارزیابی شد. غلظت NO پلازما به وسیله روش FRAP (توانایی کاهش فریک پلازما) که توسط Benzie و Strain ایجاد شده، ارزیابی شد [۲۰]. گلوپاتیون تام پلازما (GSH: Total glutathione) با استفاده از روش Beutler و همکاران [۲۱] و مالون دی آلدهید پلازما (MDA: Malondialdehyde) با استفاده از آزمون اسپکترومتری TBARS (سویسترای واکنشگر به تیوباریتوریک اسید) تعیین شد. CV برای TAC، GSH و MDA به ترتیب برابر با ۰/۹، ۲/۴۵ و ۳/۵ درصد بود. اندازه‌گیری‌های ویتامین D، کلسیم، گلوکز، لیپید، انسولین، TAC، GSH و MDA در یک روند دوبار کورسازی شده، یک جفت (قبل و بعد از مداخله) در یک زمان، در یک آنالیز یکسان و با ترتیب تصادفی به منظور کاهش خطای سیستماتیک و تغییر بین ارزیابی انجام گرفت.

#### تحلیل آماری

برای بررسی نرمال بودن توزیع متغیرها از آزمون kolmogrov-smirnov استفاده کردیم. برای متغیرهای با توزیع غیرنرمال، تبدیل لوگاریتمی اعمال شد. آنالیزها براساس رویکرد intention-to-treat (به قصد درمان) انجام گردید و تمامی افرادی که به قصد درمان در این تحقیق وارد شده بودند در آنالیزهای آماری مد نظر قرار گرفتند. با مقادیر از دست رفته به روش LOCF (Last Observation Carried Forward) رفتار شد. به منظور تعیین تفاوت‌های

ارزیابی شد. از آنجا که سطوح کلسیم سرمی نمی‌تواند به‌طور کامل دریافت غذایی و مکمل کلسیم را نشان دهد، از شرکت کنندگان خواسته شد تا جعبه‌های دارو را با خود آورده و تبعیت، از طریق شمارش قرص‌های استفاده نشده دوبار چک شد. دریافت‌های غذایی شرکت کنندگان در طول مداخله به وسیله ثبت‌های غذایی ۳ روزه ارزیابی شد. ثبت‌های غذایی براساس مقادیر تخمینی در مقیاس‌های خانگی بود. برای به دست آوردن دریافت‌های مواد مغذی شرکت کنندگان براساس این یادداشت‌های غذایی ۳ روزه از نرم افزار Nutritionist IV اصلاح شده برای رژیم غذایی ایرانی استفاده گردید.

#### ارزیابی متغیرها

داده‌های مربوط به وزن و قد بارداری (مقادیر اندازه‌گیری شده) از پرونده‌های زنان باردار در کلینیک به دست آمد. یک مامای آموزش دیده در کلینیک زایمان اندازه‌گیری‌های آنتروپومتری را در ابتدا و هفته ۶ بعد از مداخله انجام داد. وزن بدن با مقیاس ۰/۱ کیلوگرم در افراد، بدون کفش و در حداقل لباس، و قد به وسیله یک متر غیرقابل ارتجاع (سکا) با تقریب ۰/۱ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد. BMI با تقسیم وزن (Kg) بر قد ( $m^2$ ) محاسبه شد.

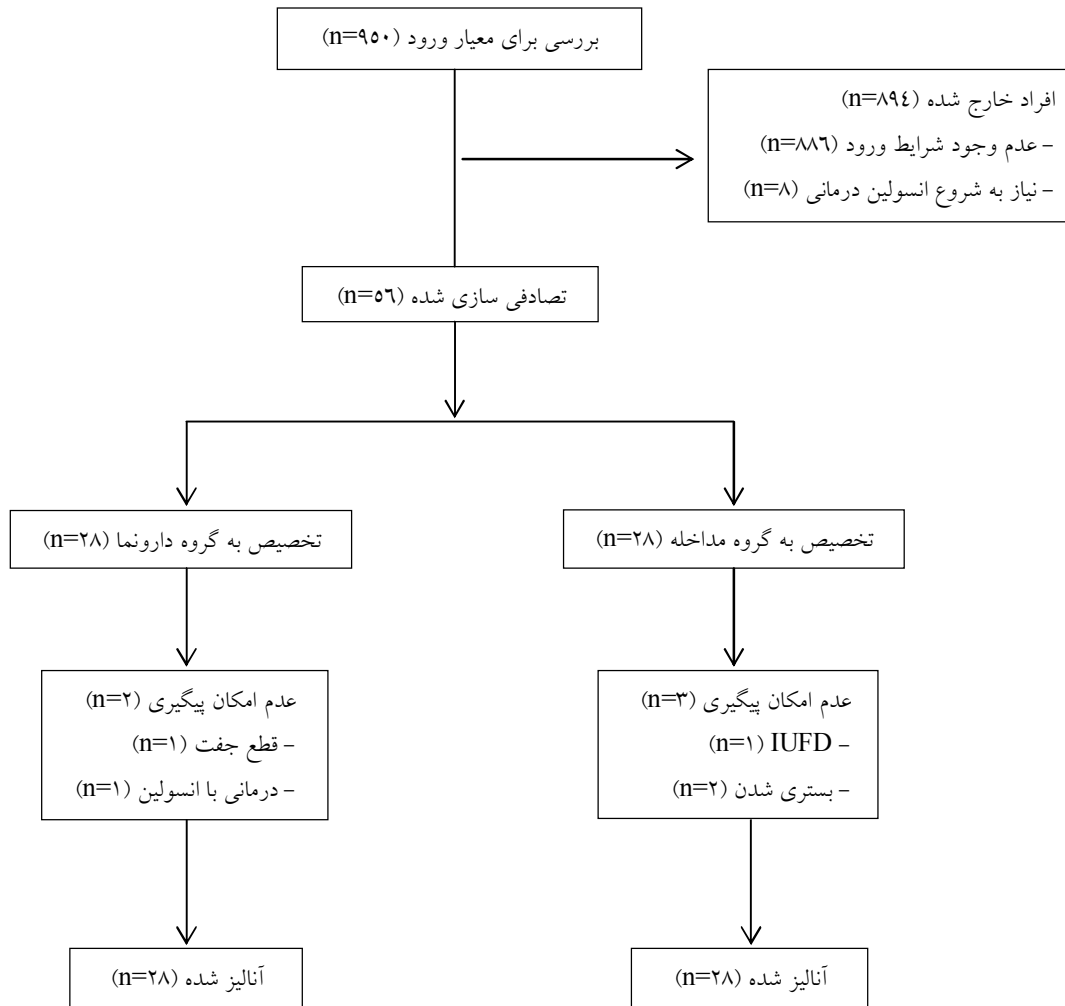
در ابتدا و هفته ۶ مداخله، ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون وریدی بعد از یک شب روزه داری در آزمایشگاه رفرانس دانشگاه علوم پزشکی کاشان گرفته شد. FPG در همان روز جمع‌آوری نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. به منظور جداسازی سرم، نمونه‌های خون فوراً در ۱۴۶۵ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (آلمان، Hettich D-7832، Tuttligen). پروفایل لیپیدی سرم نیز در روز جمع‌آوری نمونه‌ها اندازه‌گیری شد. پس از آن نمونه‌ها در دمای  $^{\circ}C -70$  قبل از آنالیز در آزمایشگاه نگه داشته شد. میزان 25OHD (-25 Hydroxyvitamin D) با استفاده از کیت تجاری ELISA ارزیابی شد (انگلستان، Boldon، IDS). CV های میان ارزیابی و بین ارزیابی برای 25OHD از ۴/۹ تا ۷/۱ درصد بود. برای اندازه‌گیری FPG، کلسیم سرم، کلسترول، TG، HDL، LDL از کیت‌های تجاری استفاده شد (ایران، تهران، پارس آزمون). CV های میان و بین ارزیابی برای FPG

آنالیزها با استفاده از ANCOVA انجام شد.  $p < 0.05$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. همه آنالیزها با استفاده از نسخه ۱۷ نرم افزار SPSS انجام گردید.

### یافته‌ها

سه نفر از گروه کلسیم به‌علاوه ویتامین D به دلیل مرگ جنین داخل رحمی (IUFD) (۱ نفر) و بستری شدن (۲ نفر) خارج شدند. همچنین ۲ نفر از گروه دارونما به دلیل قطع جفت (۱ نفر) و انسولین درمانی (۱ نفر) خارج گردیدند. در نهایت ۵۱ شرکت کننده (کلسیم به‌علاوه ویتامین D (۲۵ نفر) و دارونما (۲۶ نفر) مداخله را کامل نمودند (شکل ۱).

ویژگی‌های عمومی و دریافت‌های غذایی بین دو گروه از آزمون student t مستقل استفاده گردید. آزمون ANOVA یک طرفه با اندازه‌گیری‌های تکراری برای تعیین اثرات مکمل کلسیم به‌علاوه ویتامین D بر متابولیسم گلوکز، پروفایل‌های لیپیدی، فاکتورهای التهابی و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو استفاده گردید. در این آنالیز، درمان (کلسیم به‌علاوه ویتامین D در مقابل دارونما) به‌عنوان عامل بین گروهی و زمان با دو نقطه زمانی (ابتدا و هفته ۶ مداخله) به‌عنوان عامل درون گروهی در نظر گرفته شد. برای بررسی اینکه آیا وسعت تغییر در متغیرهای وابسته به مقادیر اولیه، سن بارداری و BMI اولیه بستگی دارد یا نه، ما همه آنالیزها را برای مقادیر ابتدایی، سن بارداری و BMI ابتدایی کنترل کردیم تا از خطای بالقوه جلوگیری کنیم. این



شکل ۱- نمودار پیگیری شرکت کنندگان در مطالعه

میانگین و انحراف معیار سن، وزن بارداری و BMI شرکت کنندگان در مطالعه به ترتیب  $۶/۳ \pm ۷۵/۹$  کیلوگرم و  $۴/۶ \pm ۲۹/۹$  بود. میانگین سن بارداری در ابتدای مطالعه  $۱/۳ \pm ۲۵/۶$  هفته بود. میانگین‌های وزن و BMI در ابتدا و انتهای مداخله تفاوت معنی‌داری میان دو گروه نداشت (جدول ۱).

هرچند به دلیل اینکه آنالیز براساس رویکرد intention-to-treat بود، همه ۵۶ خانم (۲۸ نفر در هر گروه) در آنالیز نهایی وارد گردیدند. برای آن‌هایی که مداخله را کامل کردند (۵۱ نفر)، شمارش قرص و کپسول، ۱۰۰ درصد تبعیت برای هر دو گروه را نشان داد.

جدول ۱- ویژگی‌های عمومی زنان باردار مبتلا به GDM که مکمل CaD و یا دارونما را دریافت می‌نمودند

ویژگی	گروه دارونما <sup>۱</sup> (n=۲۸)	گروه CaD <sup>۲</sup> (n=۲۸)
سن بارداری (سال)	۳۰/۸±۶/۶	۲۸/۷±۶
قد (سانتی‌متر)	۱۵۹/۹±۴/۴	۱۱۵۸±۴/۶
وزن بارداری <sup>۳</sup> (کیلوگرم)	۶۹/۵±۱۲/۱	۶۷/۹±۱۲/۲
وزن در ابتدای مطالعه (کیلوگرم)	۷۸/۲±۱۳/۶	۷۳/۶±۱۳
وزن در انتهای مداخله (کیلوگرم)	۷۹/۹±۱۳/۳	۷۵/۵±۱۳/۲
تغییر وزن (کیلوگرم)	۱/۷±۱/۴	۱/۹±۱/۶
BMI بارداری <sup>۳</sup> (kg/m <sup>2</sup> )	۲۷/۱±۴/۳	۲۷/۱±۴/۴
BMI در ابتدای مطالعه (kg/m <sup>2</sup> )	۳۰/۵±۴/۶	۲۹/۴±۴/۶
BMI در انتهای مداخله (kg/m <sup>2</sup> )	۳۱/۲±۴/۵	۳۰/۲±۴/۷
تغییر BMI (kg/m <sup>2</sup> )	۰/۷±۰/۶	۰/۸±۰/۷

همه مقادیر به صورت mean ± SD

معنی‌داری از لحاظ آماری با استفاده از یک آزمون t مستقل تعیین گردید.

<sup>۱</sup> دارونماها برای کلسیم، روزانه و برای ویتامین D<sub>3</sub>، دوبار در روز در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و روز ۲۱ مداخله) دریافت شد. <sup>۲</sup> ۱۰۰۰ میلیگرم کلسیم کربنات روزانه به علاوه ۵۰۰۰۰U ویتامین D<sub>3</sub> دوبار در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و در روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.

<sup>۳</sup> براساس وزن و قد اندازه‌گیری شده در ثبت‌های شرکت کنندگان در کلینیک‌های زایمان.

QUICKI، GSH و MDA بین دو گروه تفاوت معنی‌داری داشتند. مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D در مقایسه با دارونما یک افزایش معنی‌داری را در سطوح سرمی 25OHD (nmol/L)  $۶۴/۶۴ \pm ۴۸/۱۹$  در مقابل  $۱۵/۳۶ \pm ۱/۷۵$  (p < ۰/۰۰۱) و یک افزایش ملایمی را در مقادیر سرمی کلسیم (mmol/L)  $۰/۴۸ \pm ۰/۱۷$  در مقابل  $۰/۳۴ \pm ۰/۰۳$  (p = ۰/۰۸) نشان داد (جدول ۳).

براساس ثبت‌های غذایی سه روزه که در طول مداخله به دست آمد، هیچ تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در دریافت غذایی انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، اسیدهای چرب اشباع، اسیدهای چرب چند غیراشباع، اسیدهای چرب تک غیراشباع، کلسترول، فیبر تام غذایی، منیزیم، کلسیم، منگنز، ویتامین D، ویتامین C و سلنیوم مشاهده نشد (جدول ۲). مقادیر ابتدایی HOMA-B، FPG.

جدول ۲- دریافت‌های غذایی زنان باردار مبتلا به GDM که مکمل CaD یا دارونما دریافت نمودند

دریافت غذایی	گروه دارونما <sup>۱</sup> (n=۲۸)	گروه CaD <sup>۲</sup> (n=۲۸)
انرژی (kJ/day)	۱۰۰۴۰±۱۳۹۶۳	۱۰۳۳۲±۸۱۵
کربوهیدرات (g/day)	۳۳۳/۳±۳۷/۶	۳۳۸/۷±۶۰/۴
پروتئین (g/day)	۹۰/۵±۱۴/۵	۸۶/۸±۱۲/۲
چربی (g/day)	۸۷/۲±۱۰/۷	۸۲/۳±۱۴/۲
اسیدهای چرب اشباع (g/day)	۲۵/۵±۴/۷	۲۶/۵±۶/۱
اسیدهای چرب چند غیر اشباع (g/day)	۲۷/۱±۷/۸	۲۴/۱±۶/۱
اسیدهای چرب تک غیر اشباع (g/day)	۲۴/۴±۵/۸	۲۳/۶±۶/۷
کلسترول (mg/day)	۲۱۳/۲±۱۱۸/۷	۱۹۲/۵±۵۸/۴
TDF (g/day)	۱۹/۷±۴/۱	۲۰/۴±۴/۸
منیزیم (mg/day)	۳۰۱/۹±۵۹/۴	۲۸۸/۸±۶۹/۹
کلسیم (mg/day)	۱۱۶۶/۸±۱۹۱/۳	۱۱۴۵/۲±۲۱۰/۸
منگنز (mg/day)	۲/۴±۰/۷	۲/۵±۱
ویتامین D (µg/day)	۲/۸±۰/۹	۲/۷±۰/۷
ویتامین C (mg/day)	۱۹۴/۱±۹۲/۶	۲۰۰/۷±۷۳/۹
سلیوم (µg/day)	۱۱۰/۹±۲۰/۸	۱۱۷/۳±۳۴

همه مقادیر به صورت mean±SD معنی‌داری از لحاظ آماری با استفاده از یک آزمون t مستقل تعیین گردید.  
<sup>۱</sup> دارونماها برای کلسیم، روزانه و برای ویتامین دی، دوبار در روز در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و در روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.  
<sup>۲</sup> ۱۰۰۰ میلی‌گرم کلسیم کربنات روزانه به‌علاوه ۵۰۰۰۰U ویتامین D<sub>3</sub> دوبار در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و در روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.  
<sup>۳</sup> براساس وزن و قد اندازه‌گیری شده در ثبت‌های شرکت کنندگان در کلینیک‌های زایمان.

جدول ۳- پروفاایل متابولیک، التهاب و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو در ابتدای مطالعه و بعد از ۶ هفته مداخله در زنان بارداری مبتلا به GDM که مکمل CaD یا دارونما دریافت نمودند

متغیر	گروه دارونما <sup>۱</sup> (n=۲۸)		گروه CaD <sup>۲</sup> (n=۲۸)	
	هفته ۰	هفته ۶	تغییر	تغییر
کلسیم (mmol/L)	۲/۰۳±۰/۳۲	۲±۰/۳۸	-۰/۰۳±۰/۳۴	۲/۰۳±۰/۴۴
ویتامین D (nmol/L)*	۴۹/۰۵±۳۴/۳۰	۵۰/۸±۳۵/۴۸	۱/۷۵±۱۵/۳۶	۴۳/۱۱±۲۸/۱۷
FPG (pmol/L)*	۴/۴۲±۰/۵۹	۴/۶۸±۱/۰۶	۰/۲۶±۰/۹۲	۵/۱۴±۰/۷۱
انسولین (mmol/L)*	۸۸/۳۹±۵۰/۱۳	۹۷/۵۶±۶۴/۴۳	۹/۱۷±۳۸/۵	۷۷/۸۷±۳۶/۵۱
HOMA-IR*	۲/۹۳±۱/۶۶	۳/۵۶±۲/۶۹	۰/۶۳±۲/۰۱	۲/۹۳±۱/۳۴
HOMA-B	۶۳/۳۲±۳۹/۹۴	۶۵/۲۹±۴۴/۸۴	۱/۹۷±۲۸/۵۱	۴۸/۴۵±۲۶/۸۷
QUICKI*	۰/۳۳±۰/۰۳	۰/۳۳±۰/۰۵	-۰/۰۰۲±۰/۰۲	۰/۳۳±۰/۰۱
کلسترول تام (mmol/L)	۵/۱۱±۱/۲	۵/۳۳±۱/۴۷	۰/۲۲±۰/۹۶	۵/۱۱±۱/۰۱
تری‌گلیسرول (mmol/L)	۲/۰۹±۰/۶۹	۲/۰۵±۰/۶۸	-۰/۰۴±۰/۶۳	۲/۱۴±۰/۸۴
LDL کلسترول (mmol/L)*	۲/۷۹±۰/۸۸	۳/۰۵±۱/۰۸	۰/۲۶±۰/۷۴	۲/۹۴±۰/۸۱
HDL کلسترول (mmol/L)*	۱/۳۶±۰/۴۴	۱/۳۴±۰/۴۴	-۰/۰۲±۰/۲۴	۱/۳۷±۰/۳۳
نسبت کلسترول تام به HDL کلسترول <sup>۳</sup>	۳/۹۳±۰/۸۶	۴/۱۱±۰/۸*	۰/۱۸±۰/۳۷	۴/۳۲±۱/۲۱
hs-CRP (ng/ml)	۶۴۵۱/۰۳±۳۹۲۴/۸۱	۶۲۴۴/۸۳±۴۱۹۲/۵۶	-۲۰/۶۲±۴۰۰/۶۶۵	۷۳۹۱/۸۳±۴۶۹۳/۰۹
NO (µmol/L)	۵۴/۰۴±۲۸/۶۵	۵۱/۶۹±۲۸/۴	-۲/۳۵±۲۸/۶۵	۶۰/۳۹±۳۲/۵۶
TAC (mmol/L)	۷۲۴/۷۱±۱۷۶/۵۱	۷۸۹/۳۹±۱۷۶/۴۷	۶۴/۶۸±۱۲۸/۱۹	۷۵۱/۳۴±۱۲۹/۲۹*
GSH (µmol/L)*	۷۶۱/۶۹±۳۸۳/۱۱	۷۱۴/۴۲±۳۶۵/۸۳	-۴۷/۲۷±۲۰۳/۶۳	۵۷۰/۹۱±۹۷/۷۳
MDA (µmol/L)*	۲/۶۹±۱/۴۲	۳/۶۲±۱/۸۳*	۰/۹۳±۲	۲/۹۹±۰/۵۳

<sup>۱</sup> دارونماها برای کلسیم، روزانه و برای ویتامین دی، دوبار در روز در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و در روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.  
<sup>۲</sup> میلی‌گرم کلسیم کربنات روزانه به‌علاوه ۵۰۰۰۰U ویتامین D<sub>3</sub> دوبار در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و در روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.  
<sup>۳</sup> از طریق آزمون ANOVA با اندازه‌گیری‌های تکراری به‌دست آمده است.  
<sup>۴</sup> همه مقادیر به صورت mean±SD می‌باشد. مقادیر ابتدایی برای FPG, HOMA-B, QUICKI, GSH و MDA میان دو گروه به‌طور معنی‌داری اختلاف داشتند.  
 \* از هفته صفر متفاوت است، p < ۰/۰۵ \* مقادیری که معنی‌دار بوده است: P=۰/۰۵

از مداخله در گروه کلسیم به علاوه ویتامین D در مقایسه با دارونما مشاهده شد. علاوه بر این، افزایش معنی داری در GSH پلاسما ( $131/64 \pm 51/14 \mu\text{mol/L}$ ) در مقابل  $203/63 \pm 47/27 \mu\text{mol/L}$  (P=0/03) نمایان گردید و همچنین سطوح MDA پس از مکمل یاری کاهش یافته است ( $0/66 \pm 0/06 \mu\text{mol/L}$ ) در مقابل  $2 \mu\text{mol/L}$  است (P=0/93). هیچ گونه تأثیر معنی داری از مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D بر HOMA-B، کلسترول تام سرم، تری گلیسیرید، hs-CRP، NO و TAC پلاسما مشاهده نشد. بعد از تعدیل آنالیزها برای مقادیر ابتدایی، هیچ تغییر معنی داری به جز در کلسیم سرم (P=0/03)، GSH پلاسما (P=0/2) و سطوح MDA (P=0/06) مشاهده نشد (جدول ۴). تعدیل اضافی برای سن و BMI ابتدایی تأثیری بر یافته‌های مطالعه نداشت.

همچنین بعد از تجویز مکمل کلسیم به علاوه ویتامین D یک کاهش معنی داری در FPG ( $0/69 \pm 0/89 \text{ nmol/L}$ ) در مقابل  $0/92 \pm 0/26 \text{ nmol/L}$  (p>0/01)، سطوح سرمی انسولین ( $35/25 \pm 13/55 \text{ pmol/L}$ ) در مقابل  $38/5 \pm 9/17 \text{ pmol/L}$  (P=0/02) و HOMA-IR ( $1/18$ )  $0/91 \pm 0/63 \pm 2/01$  در مقابل  $0/63 \pm 2/01$  (p=0/001) و یک افزایش معنی داری در QUICKI ( $0/03 \pm 0/02$ ) در مقابل  $0/02 \pm 0/03$  (P=0/003) در مقایسه با دارونما مشاهده شد. یک کاهش معنی داری در LDL کلسترول سرمی ( $0/79 \pm 0/23 \text{ mmol/L}$ ) در مقابل  $0/74 \pm 0/74 \text{ mmol/L}$  (p=0/02) و نسبت کلسترول تام به HDL کلسترول ( $1/09 \pm 0/49$ ) در مقابل  $0/37 \pm 0/18$  (P=0/003) و یک افزایش معنی داری در HDL کلسترول ( $0/25 \pm 0/15 \text{ mmol/L}$ ) در مقابل  $0/24 \pm 0/02 \text{ mmol/L}$  (P=0/01) بعد

جدول ۴- تغییرات تعدیل شده در متغیرهای متابولیک زنان باردار مبتلا به GDM که مکمل کلسیم-ویتامین D (CaD) یا دارونما دریافت نمودند

متغیر	گروه دارونما <sup>۱</sup> (n=۲۸)	گروه CaD <sup>۲</sup> (n=۲۸)
ویتامین D ( $\mu\text{mol/L}$ )		
مدل ۱*	$1/84 \pm 6/61$	$48/07 \pm 6/61$
مدل ۲*	$1/34 \pm 6/73$	$48/54 \pm 6/73$
کلسیم (mmol/L)		
مدل ۱*	$-0/03 \pm 0/06$	$0/16 \pm 0/06$
مدل ۲*	$-0/03 \pm 0/07$	$0/16 \pm 0/07$
FPG (mmol/L)		
مدل ۱*	$0/11 \pm 0/16$	$-0/75 \pm 0/16$
مدل ۲*	$0/23 \pm 0/15$	$-0/87 \pm 0/15$
انسولین (pmol/L)		
مدل ۱*	$10/26 \pm 6/84$	$-14/58 \pm 6/84$
مدل ۲*	$10/38 \pm 7/08$	$-14/7 \pm 7/08$
HOMA-IR		
مدل ۱*	$0/65 \pm 0/32$	$-0/91 \pm 0/31$
مدل ۲*	$0/59 \pm 0/3$	$-0/93 \pm 0/3$
HOMA-B		
مدل ۱*	$4/25 \pm 5/24$	$-3/06 \pm 5/24$
مدل ۲*	$3/29 \pm 5/49$	$-2/1 \pm 5/49$
QUICKI		
مدل ۱*	$-0/03 \pm 0/006$	$0/02 \pm 0/006$
مدل ۲*	$-0/03 \pm 0/006$	$0/02 \pm 0/006$
کلسترول تام (mmol/L)		

ادامه جدول در صفحه بعد



ادامه جدول صفحه قبل		
مدل ۱	۰/۲۲±۰/۱۸	-۰/۰۳±۰/۱۸
مدل ۲	۰/۲±۰/۱۸	-۰/۰۲±۰/۱۸
تری گلیسرید (mmol/L)		
مدل ۱	-۰/۰۲±۰/۱	۰/۱±۰/۱
مدل ۲	-۰/۰۳±۰/۱۱	۰/۱±۰/۱۱
LDL کلسترول (mmol/L)		
مدل ۱*	۰/۲۳±۰/۱۴	-۰/۲۱±۰/۱۴
مدل ۲*	۰/۲۴±۰/۱۴	۰/۲۱±۰/۱۴
HDL کلسترول (mmol/L)		
مدل ۱*	-۰/۰۰۸±۰/۰۴	۰/۱۳±۰/۰۴
مدل ۲*	-۰/۰۲±۰/۰۴	۰/۱۴±۰/۰۴
نسبت کل به HDL کلسترول		
مدل ۱*	۰/۰۹±۰/۱۲	-۰/۴±۰/۱۲
مدل ۲*	۰/۱۷±۰/۱۵	-۰/۴۸±۰/۱۵
(ng/ml) hs-CRP		
مدل ۱	-۳۹۹/۲±۵۷۶/۹۸	۱۸۶۰/۲±۵۷۶/۹۸
مدل ۲	-۱۹۰/۲۲±۶۸۰/۳	-۲۲/۶۲±۶۸۰/۳
(μmol/L) NO		
مدل ۱	-۴/۱۹±۴/۹۵	۷/۹۳±۴/۹۵
مدل ۲	-۲/۵۵±۶/۰۶	۶/۲۹±۶/۰۶
(mmol/L) TAC		
مدل ۱	۶۹/۳۶±۲۱/۲۱	۴۴/۵۷±۲۱/۲۱
مدل ۲	۶۳/۸±۲۶/۰۵	۵۰/۱۲±۲۶/۰۵
(μmol/L) GSH		
مدل ۱	-۲۷/۴۵±۳۱/۶۸	۳۱/۳۲±۳۱/۶۸
مدل ۲*	-۵۵/۲۳±۳۲/۴۹	۵۹/۱±۳۲/۴۹
(μmol/L) MDA		
مدل ۱	۰/۸۴±۰/۲۵	۰/۱۵±۰/۲۵
مدل ۲*	۰/۹۱±۰/۲۸	۰/۰۷±۰/۲۸

<sup>۱</sup> دارونماها برای کلسیم، روزانه و برای ویتامین دی، دوبار در روز در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.

<sup>۲</sup> ۱۰۰۰ میلی گرم کلسیم کربنات روزانه به علاوه ۵۰۰۰۰U ویتامین D<sub>3</sub> دوبار در طول مطالعه (در ابتدای مطالعه و در روز ۲۱ مداخله) دریافت شد.

<sup>۳</sup> آنالیز کوواریانس به دست آمد.

<sup>۴</sup> برای مقادیر ابتدایی تعدیل گردید.

<sup>۵</sup> علاوه بر این برای سن بارداری و BMI ابتدایی تعدیل گردید.

<sup>۶</sup> همه مقادیر به صورت mean±SD گزارش شده است.

\* مقادیری که معنی دار بوده است؛ P= ۰/۰۵

## بحث

در این مطالعه، مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D در زنان باردار مبتلا به GDM منجر به بهبود وضعیت گلیسمیک گردید. یک افزایش معنی دار در HDL کلسترول و GSH پلاسما، یک کاهش معنی دار در LDL کلسترول و یک تفاوت معنی دار در سطوح MDA مشاهده شد، ولی بر دیگر پروفایل های لیپیدی، عوامل التهابی یا TAC پلاسما مؤثر نبود. طبق دانش ما این اولین مطالعه است که به ارزیابی اثرات مکمل یاری کلسیم به علاوه ویتامین D بر وضعیت متابولیک در زنان باردار مبتلا به GDM می پردازد. GDM با مقاومت انسولینی، افزایش عوامل التهابی و استرس اکسیداتیو ارتباط دارد [۵]. افزایش سطوح در گردش عوامل التهابی و نقص متابولیسم انسولین در GDM می تواند پیشرفت دیابت نوع دو در مراحل بعدی زندگی و عوارض جنینی را پیشگویی کند [۲۲]. نقص در متابولیسم انسولین در زنان باردار مبتلا به GDM می تواند منجر به پیامدهای طولانی مدت نامطلوب بارداری، افزایش بیماری های حین بارداری (مثل ماکروزومی، ترومای تولد، فشارخون بالای بارداری) و عوارض طولانی مدت در فرزند شود [۶، ۵]. به علاوه، افزایش مارکرهای التهابی در GDM ممکن است پیشرفت بیماری متابولیک و قلبی عروقی را در آینده پیشگویی کند [۲۳]. مطالعه ما نشان داد که مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D برای ۶ هفته در زنان باردار مبتلا به DGDM منجر به کاهش معنی دار FPG، سطوح انسولین سرم و امتیاز HOMA-IR و افزایش معنی دار QUICKI در مقایسه با پلاسبو گردید. مطالعات پیشین اثرات مکمل یاری جداگانه کلسیم یا ویتامین D را بر متابولیسم گلوکز بیماران دیابتی و GDM گزارش کرده اند، اما اثرات همزمان مکمل یاری با کلسیم و ویتامین D در بیماران مبتلا به GDM ارزیابی نشده است. در ارتباط با مطالعه ما، Harinaryan و همکاران نشان دادند که مکمل یاری با ۱۰۰۰ mg/day کلسیم و ۹۵۷۰ U/day ویتامین D به مدت ۲ ماه افراد با کمبود ویتامین D ولی بدون بیماری دیابت منجر به بهبود سطوح FPG و HOMA-B گردید [۱۳]. همچنین بعد از تجویز طولانی مدت ۵۰۰ mg کلسیم به علاوه ۷۰۰ U ویتامین D در بزرگسالان فاقد بیماری

دیابت، سطوح FPG کاهش یافت [۲۴]. در مطالعه قبلی ما در زنان باردار مبتلا به GDM با مصرف ۵۰۰۰۰ U ویتامین D3 دوبار در طول ۶ هفته، بهبود متابولیسم آن ها مشاهده گردید [۱۲].

برخلاف یافته های ما، برخی مطالعات اثرات مکمل یاری کلسیم و ویتامین D را بر متابولیسم گلوکز مشاهده نکردند. سه ماه مکمل یاری با ویتامین D (دوز روزانه ۳۵۳۳ U که بعد از ورود ۵ نفر اول شرکت کننده ها به مطالعه، به میزان ۸۵۳۳ U افزایش یافت) و کلسیم (۵۳۰ mg کلسیم المنتال در روز) تأثیری بر عملکرد انسولین در زنان چاق مبتلا به PCOS با کمبود ویتامین D نداشت [۱۴]. به نظر می رسد ویژگی های شرکت کنندگان مطالعه و دوز مکمل یاری ممکن است یافته های متفاوت را توجیه کند. اثرات مفید مکمل یاری با ویتامین D بر بهبود عملکرد انسولین ممکن است ناشی از اثر آن بر متابولیسم کلسیم و فسفر و از طریق upregulation ژن رسپتور مربوط به انسولین باشد [۲۵]. علاوه بر این، ویتامین D ممکن است از طریق مسیر سیگنال دهی کلسیم وابسته به  $1.25(OH)_2D_3$  در تنظیم ترشح انسولین از سلول های بتای پانکراس دخیل باشد [۲۶].

در مطالعه حاضر، مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D در بیماران مبتلا به GDM منجر به کاهش معنی داری در LDL کلسترول سرم و نسبت کلسترول تام به HDL کلسترول و افزایش معنی دار در HD کلسترول در مقایسه با گروه دارونما گردید اما بر کلسترول تام سرم و سطوح تری گلیسیرید مؤثر نبود. مطالعات محدودی اثرات همزمان مکمل های کلسیم به علاوه ویتامین D را بر پروفایل لیپیدی آزموده اند. در توافق با یافته های ما، Major و همکاران بهبود پروفایل لیپیدی را در گروه مکمل یاری همزمان (که ۱۲۰۰ mg/day کلسیم به علاوه ۴۰۰ U ویتامین D دریافت می کردند) را در مقایسه با گروه دارونما بعد از ۱۵ هفته مشاهده کردند [۲۷]. مکمل یاری مستقل با کلسیم (g/day) (۱-۲) نشان داده شده است که می تواند منجر به کلسترول تام و LDL کلسترول کمتر تا ۵ درصد و افزایش HDL کلسترول تا ۵ درصد شود [۲۸]. اگرچه برخی از محققین اثر معنی دار مکمل یاری همزمان کلسیم و ویتامین D یا

در GSH پلاسما بدهد و از افزایش MDA پلاسما در مقایسه با گروه دارونما جلوگیری کند، اگرچه تأثیری بر TAC پلاسما نداشت. همسو با مطالعه پیش رو، Ekici و همکاران نشان دادند که GSH بعد از مصرف ویتامین D3 به علاوه دوکوزاهگزانوئیک اسید در موش‌ها افزایش یافت اما تأثیری بر سطوح MDA نداشت [۳۶]. همچنین بعد از استفاده از مکمل کلسیم و ویتامین D3 در انسان‌های با موکوس کولورکتال طبیعی، آسیب اکسیداتیو به DNA کاهش یافت [۳۷]. سازوکارهای دقیقی که مکمل یاری با کلسیم و ویتامین D ممکن است بر بیومارکرهای استرس اکسیداتیو تأثیر بگذارد ناشناخته است. ترکیب کلسیم و ویتامین D3 نسبت به آن‌هایی که کلسیم یا ویتامین D را به تنهایی استفاده کردند، ممکن است اثر کمتری بر استرس اکسیداتیو و اثر بیشتری بر آنتی اکسیدان‌ها شامل سطوح GSH بگذارد [۱۶]. به علاوه مصرف مکمل کلسیم ممکن است از طریق انتقال کلسیم و سیگنال‌دهی سلولی بر استرس اکسیداتیو مؤثر باشد [۳۸].

در تفسیر یافته‌های ما لازم است محدودیت‌هایی در نظر گرفته شود. به دلیل محدودیت مالی، اثر مکمل یاری کلسیم به علاوه ویتامین D بر سایر بیومارکرهای التهاب سیستماتیک یا استرس اکسیداتیو بررسی نشد. به علاوه، در این مطالعه اثرات مکمل یاری کلسیم و ویتامین D بر پیامدهای بارداری ارزیابی نشده است. اگرچه مطالعات پیشین نشان داده‌اند که مراجعه به واحدهای مراقبت ویژه نوزاد بعد از کنترل گلیسمیک بارداری به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است [۸]. به علاوه، مدیریت التهاب از طریق تجویز داروهای ضدالتهاب در طول بارداری به‌طور معنی‌داری فشارخون گردهشی (Ambulatory) را تنظیم کرده و بروز پره اکلامپسی، فشارخون بالای بارداری، وضع حمل نارس و عقب ماندگی ذهنی رشد درون رحمی را کاهش داده است [۳۹].

محدودیت دیگر این مطالعه، مشکل در پیگیری افراد بود. باید در نظر داشت که در این مطالعه از روش LOCF برای مقادیر از دست رفته استفاده شده است. LOCF مقادیر قبل از ریزش (یعنی آخرین مشاهده) را در نظر می‌گیرد و اینکه آیا وضعیت شرکت کنندگان در زمان ریزش رو به بهبود

مکمل یاری مستقل کلسیم را بر پروفایل لیپیدی در زنان بعد از یائسگی [۲۹] و بزرگسالان چاق [۳۰] مشاهده نکردند. بعضی از دلایل این تناقضات می‌تواند شامل طرح‌های مختلف مطالعات، در نظر نگرفتن سطوح ابتدایی متغیرهای وابسته و ویژگی‌های متفاوت شرکت کنندگان مطالعه باشد. یک سازوکاری که مصرف کلسیم ممکن است به‌طور بالقوه نشان دهنده اثرات آن بر لیپیدهای در گردش باشد، بازداری از جذب اسیدهای چرب غذایی است [۳۱]. به علاوه، مکمل یاری با کلسیم ممکن است از طریق اثر آن بر غلظت PTH و ویتامین D که همچنین فعالیت آدیپوسیت را تنظیم می‌کند منجر به کاهش غلظت لیپیدها شود [۱۷]. اگرچه سازوکار دقیقی که به وسیله آن ویتامین D بر غلظت لیپیدها اثر می‌گذارد ناشناخته است، احتمال دارد بهبود حساسیت انسولینی عامل اثر مثبت آن بر پروفایل لیپیدها باشد [۲۹].

یافته‌های حاصل از مطالعه حاضر آشکار کرد که مکمل یاری با کلسیم به علاوه ویتامین D در بیماران مبتلا به GDM تأثیری بر hs-CRP و غلظت NO پلاسما در مقایسه با گروه دارونما نداشت. در توافق با مطالعه ما، مکمل یاری با ۲g/day کلسیم به علاوه ۸۰۰ U ویتامین D تأثیر معنی‌داری بر سطوح hs-CRP سرم در بیماران مبتلا به آدنومای کولورکتال بعد از ۶ ماه نداشت [۳۲]. مشابه این، با مصرف ۴۰۰ ml/day شیر حاوی ۱۰۰۰ mg کلسیم به علاوه ۸۰۰ U ویتامین D در مردان ۷۹-۵۰ ساله بعد از ۱۸ ماه مشاهده شد [۳۳]. در مقابل، کاهش معنی‌داری در سطوح hs-CRP در مطالعه قبلی ما در زنان باردار سالم بعد از مصرف ۴۰۰ U ویتامین D مشاهده شد [۳۴]. به علاوه، یک مکمل یاری ۹ هفته‌ای با ۵۰۰ mg/day کلسیم به علاوه ۸۰۰ mg/day آسپیرین در زنان باردار در خطر پره اکلامپسی منجر به کاهش معنی‌داری در سطوح hs-CRP سرم گردید [۳۵]. یافته‌های متفاوت ممکن است به دلیل طراحی‌های مختلف مطالعات، تناقض در شرایط شرکت کنندگان، دوزهای مختلف کلسیم و ویتامین D و مدت زمان متفاوت مطالعات باشد.

از یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که مکمل کلسیم به علاوه ویتامین D می‌تواند یک افزایش معنی‌داری

مفیدی بر متابولیسم گلوکز، پروفایل لیپیدی و بیومارکرهای استرس اکسیداتیو به همراه دارد.

### سیاسگزاری

مطالعه حاضر توسط یک کمک هزینه (شماره ۹۲۱۱۰) از جانب دانشگاه علوم پزشکی کاشان ایران حمایت شده است. ما از کلینیک‌های شهید نقوی و بهشتی (شهر کاشان) برای همکاری آن‌ها در این طرح تشکر می‌کنیم. این مطالعه در وبسایت IRCT با شماره ۲۰۱۳۱۱۲۰۵۶۲۳N۱۱ ثبت گردید.

بوده یا نه را در نظر نمی‌گیرد. این روش ممکن است در نتایج خطا ایجاد کند و این خطا می‌تواند براساس شرایط در هر دو جهت باشد. این ممکن است برای اکثر اندازه‌گیری‌ها به‌طور بالقوه‌ای یافته‌ها را به‌سمت فرضیه خشی ببرد، اگرچه برای MDA که نداشتن تغییر نشانه موفقیت در درمان گروه مداخله است، می‌تواند یافته‌ها را به‌سمت یک پیامد دلخواه خطا بدهد. اندازه‌گیری بزرگی اثر با استفاده از آنالیز LOCF بر نتایج مداخله مشکل است. این خطا ممکن است به‌دلیل درصد کم ریزش در این مطالعه ضروری نباشد. در مجموع می‌توان نتیجه گرفت مکمل یاری با کلسیم به‌علاوه ویتامین D در زنان باردار مبتلا به GDM اثرات

### مآخذ

- Galtier F. Definition, epidemiology, risk factors. *Diabetes Metab* 2010; 36:628-51.
- Harlev A, Wiznitzer A. New insights on glucose pathophysiology in gestational diabetes and insulin resistance. *Curr Diabetes Rep* 2010; 10(3):242-247.
- Hosseini-Nezhad A, Maghbooli Z, Vassigh AR, Larijani B. Prevalence of gestational diabetes mellitus and pregnancy outcomes in Iranian women. *Taiwan J Obstet Gynecol* 2007; 46(3):236-41.
- Harreiter J, Dovjak G, Kautzky-Willer A. Gestational diabetes mellitus and cardiovascular risk after pregnancy. *Women Health (London, England)* 2014;10(1):91-108.
- Metzger BE, Lowe LP, Dyer AR, Trimble ER, Chaovarindr U, Coustan DR, et al. Hyperglycemia and adverse pregnancy outcomes. *N Engl J Med* 2008;358(19):1991-2002.
- Tsai PJ, Roberson E, Dye T. Gestational diabetes and macrosomia by race/ethnicity in Hawaii. *BMC Res Notes* 2013;6:395.
- Louie JC, Markovic TP, Perera N, Foote D, Petocz P, Ross GP, et al. A randomized controlled trial investigating the effects of a low-glycemic index diet on pregnancy outcomes in gestational diabetes mellitus. *Diabetes care* 2011;34(11):2341-6.
- Ibrahim MI, Hamdy A, Shafik A, Taha S, Anwar M, Faris M. The role of adding metformin in insulin-resistant diabetic pregnant women: a randomized controlled trial. *Arch Gynecol Obstet* 2014;289(5):959-65.
- Maymone AC, Baillargeon JP, Menard J, Ardilouze JL. Oral hypoglycemic agents for gestational diabetes mellitus? *Expert Opin Drug Saf* 2011; 10(2):227-38.
- Park HJ, Lee J, Kim JM, Lee HA, Kim SH, Kim Y. A study of snack consumption, night-eating habits, and nutrient intake in gestational diabetes mellitus. *Clin Nutr Res* 2013; 2(1):42-51.
- Jelsma JG, van Poppel MN, Galjaard S, Desoye G, Corcoy R, Devlieger R, et al. DALI: Vitamin D and lifestyle intervention for gestational diabetes mellitus (GDM) prevention: an European multicentre, randomised trial - study protocol. *BMC Pregnancy Childbirth* 2013; 13:142.
- Asemi Z, Hashemi T, Karamali M, Samimi M, Esmailzadeh A. Effects of vitamin D supplementation on glucose metabolism, lipid concentrations, inflammation, and oxidative stress in gestational diabetes: a double-blind randomized controlled clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2013; 98(6):1425-32.
- Harinarayan CV, Arvind S, Joshi S, Thennarasu K, Vedavyas V, Baidur A. Improvement in Pancreatic beta Cell Function with Vitamin D and Calcium Supplementation in Vitamin D Deficient Non-Diabetic Subjects. *Endocr Pract* 2013:1-33.
- Pal L, Berry A, Coraluzzi L, Kustan E, Danton C, Shaw J, et al. Therapeutic implications of vitamin D and calcium in overweight women with polycystic ovary syndrome. *Gynecol Endocrinol* 2012; 28(12):965-8.
- Nair-Shalliker V, Armstrong BK, Fenech M. Does vitamin D protect against DNA damage? *Mutat Res* 2012; 733(1-2):50-7.

16. Kallay E, Bareis P, Bajna E, Kriwanek S, Bonner E, Toyokuni S, et al. Vitamin D receptor activity and prevention of colonic hyperproliferation and oxidative stress. *Food Chem Toxicol* 2002; 40(8):1191-6.
17. Zemel MB. Regulation of adiposity and obesity risk by dietary calcium: mechanisms and implications. *J Am Coll Nutr* 2002; 21(2):146s-51s.
18. Zhu W, Cai D, Wang Y, Lin N, Hu Q, Qi Y, et al. Calcium plus vitamin D3 supplementation facilitated fat loss in overweight and obese college students with very-low calcium consumption: a randomized controlled trial. *Nutr J* 2013; 12:8.
19. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care* 2012; 35 Suppl 1:S64-71.
20. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239(1):70-6.
21. Beutler E, Gelbart T. Plasma glutathione in health and in patients with malignant disease. *J Lab Clin Med* 1985; 105(5):581-4.
22. Greenberg J. The relationship between maternal glycemia and perinatal outcome. *Obstet Gynecol* 2011; 117(5):1230; author reply -1.
23. Lopez-Tinoco C, Roca M, Fernandez-Deudero A, Garcia-Valero A, Bugatto F, Aguilar-Diosdado M, et al. Cytokine profile, metabolic syndrome and cardiovascular disease risk in women with late-onset gestational diabetes mellitus. *Cytokine* 2012; 58(1):14-9.
24. Pittas AG, Harris SS, Stark PC, Dawson-Hughes B. The effects of calcium and vitamin D supplementation on blood glucose and markers of inflammation in nondiabetic adults. *Diabetes care* 2007; 30(4):980-6.
25. Maestro B, Molero S, Bajo S, Davila N, Calle C. Transcriptional activation of the human insulin receptor gene by 1,25-dihydroxyvitamin D(3). *Cell Biochem Funct* 2002; 20(3):227-32.
26. Sergeev IN, Rhoten WB. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 evokes oscillations of intracellular calcium in a pancreatic beta-cell line. *Endocrinology*. 1995;136(7):2852-61.
27. Major GC, Alarie F, Dore J, Phouttama S, Tremblay A. Supplementation with calcium + vitamin D enhances the beneficial effect of weight loss on plasma lipid and lipoprotein concentrations. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(1):54-9.
28. Ditscheid B, Keller S, Jahreis G. Cholesterol metabolism is affected by calcium phosphate supplementation in humans. *J Nutr*. 2005; 135(7):1678-82.
29. Rajpathak SN, Xue X, Wassertheil-Smoller S, Van Horn L, Robinson JG, Liu S, et al. Effect of 5 y of calcium plus vitamin D supplementation on change in circulating lipids: results from the Women's Health Initiative. *Am J Clin Nutr* 2010;91(4):894-9.
30. Zemel MB, Thompson W, Milstead A, Morris K, Campbell P. Calcium and dairy acceleration of weight and fat loss during energy restriction in obese adults. *Obes Res* 2004;12(4):582-90.
31. Denke MA, Fox MM, Schulte MC. Short-term dietary calcium fortification increases fecal saturated fat content and reduces serum lipids in men. *J Nutr* 1993; 123:1047-1053.
32. Hopkins MH, Owen J, Ahearn T, Fedirko V, Flanders WD, Jones DP, et al. Effects of supplemental vitamin D and calcium on biomarkers of inflammation in colorectal adenoma patients: a randomized, controlled clinical trial. *Cancer Prev Res* 2011; 4(10):1645-54.
33. Peake JM, Kukuljan S, Nowson CA, Sanders K, Daly RM. Inflammatory cytokine responses to progressive resistance training and supplementation with fortified milk in men aged 50+ years: an 18-month randomized controlled trial. *Eur J Appl Physiol* 2011; 111(12):3079-88.
34. Asemi Z, Samimi M, Tabassi Z, Shakeri H, Esmaillzadeh A. Vitamin D supplementation affects serum high-sensitivity C-reactive protein, insulin resistance, and biomarkers of oxidative stress in pregnant women. *J Nutr* 2013; 143(9):1432-8.
35. Asemi Z, Samimi M, Heidarzadeh Z, Khorramian H, Tabassi Z. A randomized controlled clinical trial investigating the effect of calcium supplement plus low-dose aspirin on hs-CRP, oxidative stress and insulin resistance in pregnant women at risk for pre-eclampsia. *Pak J Biol Sci* 2012; 15(10):469-76.
36. Ekici F, Ozyurt B, Erdogan H. The combination of vitamin D3 and dehydroascorbic acid administration attenuates brain damage in focal ischemia. *Neurol Sci* 2009; 30(3):207-12.
37. Fedirko V, Bostick RM, Long Q, Flanders WD, McCullough ML, Sidelnikov E, et al. Effects of supplemental vitamin D and calcium on oxidative DNA damage marker in normal colorectal mucosa: a randomized clinical trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19(1):280-91.
38. Ermak G, Davies KJ. Calcium and oxidative stress: from cell signaling to cell death. *Mol Immunol* 2002; 38(10):713-21.
39. Ayala DE, Ucieda R, Hermida RC. Chronotherapy with low-dose aspirin for prevention of complications in pregnancy. *Chronobiol Int* 2013; 30(1-2):260-79.

## IMPACT OF CALCIUM–VITAMIN D CO-SUPPLEMENTATION ON GLYCAEMIC CONTROL, INFLAMMATION AND OXIDATIVE STRESS IN GESTATIONAL DIABETES: A PARALLEL STUDY

Mehdi Sadeghian<sup>1</sup>, Zatollah Asemi<sup>2</sup>, Maryam Karamali<sup>3</sup>, Parvane Saneei<sup>4</sup>, Ahmad Esmailzadeh<sup>\*1,5</sup>

1. Food Security Research Center, Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2. Research Center for Biochemistry and Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
3. Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine, Arak University of Medical Sciences, Arak, Iran
4. Candidate in Nutrition, Students' Research Committee, Food Security Research Center, Department of Community Nutrition, School of Nutrition and Food Science, University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
5. Department of Community Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

### ABSTRACT

**Background:** This study was designed to assess the effects of calcium and vitamin D supplementation on the metabolic status of pregnant women with gestational diabetes mellitus (GDM).

**Methods:** This randomized placebo-controlled trial was performed at maternity clinics affiliated to Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran. Participants were 56 women with GDM at 24–28 weeks gestation (18 to 40 years of age). Subjects were randomly assigned to receive calcium plus vitamin D supplements or placebo. All study participants were blinded to group assignment. Individuals in the calcium–vitamin D group (n = 28) received 1,000 mg calcium per day and a 50,000 U vitamin D<sub>3</sub> pearl twice during the study (at study baseline and on day 21 of the intervention), and those in the placebo group (n = 28) received two placebos at the mentioned times. Fasting blood samples were taken at study baseline and after 6 weeks of intervention.

**Results:** The study was completed by 51 participants (calcium–vitamin D n = 25, placebo n = 26). However, as the analysis was based on an intention-to-treat approach, all 56 women with GDM (28 in each group) were included in the final analysis. After the administration of calcium plus vitamin D supplements, we observed a significant reduction in fasting plasma glucose (p < 0.001), serum insulin levels (p = 0.02) and HOMA-IR (p = 0.001) and a significant increase in QUICKI (p = 0.003) compared with placebo. In addition, a significant reduction in serum LDL-cholesterol (P=0.02) and total cholesterol: HDL-cholesterol ratio (p = 0.003) and a significant elevation in HDL-cholesterol levels (p = 0.01) was seen after intervention in the calcium–vitamin D group compared with placebo. In addition, calcium plus vitamin D supplementation resulted in a significant increase in GSH (p = 0.03) and prevented a rise in MDA levels (p = 0.03) compared with placebo.

**Conclusion:** Calcium plus vitamin D supplementation in women with GDM had beneficial effects on their metabolic profile.

**Keywords:** Gestational diabetes, Calcium Supplementation, Vitamin D, Metabolic profile.

\* Hezar Jerib avenue, Isfahan university of medical sciences, Isfahan, Iran, Tel:+98 311 7922720, fax: +98 311 6681378, mailbox: 81745, Email: esmailzadeh@hlth.mui.ac.ir