

## بررسی تاثیر برخی از ویتامین‌های گروه B و آنتی‌اکسیدان‌ها بر سطوح سرمی آپولیپوپروتئین A1 و آپولیپوپروتئین B در بیماران دیابتی نوع دو

پروانه یآوری\*<sup>۱</sup>، فریدون سیاسی<sup>۱</sup>، محمود جلالی<sup>۲</sup>، کاظم محمدآ<sup>۳</sup>، باقر لاریجانی<sup>۳</sup>، علی کشاورز<sup>۳</sup>، مریم چمری<sup>۱</sup>

### چکیده

مقدمه: ناهنجاری‌های لیپوپروتئین‌ها از جمله عوامل خطر افزایش بروز بیماری‌های قلبی عروقی (CVD) در افراد دیابتی به شمار می‌رود. اختلالات موجود در وضعیت ویتامین‌های گروه B و آنتی‌اکسیدان‌ها در افراد دیابتی، نقش مفید مصرف این مکمل‌ها را در بهبود وضعیت لیپیدهای خون مطرح می‌سازد.

روش‌ها: در یک کارآزمایی بالینی تصادفی کنترل شده دو سو کور، تعداد ۱۲۵ بیمار دیابتی نوع ۲ بطور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند و هر گروه روزانه برای مدت ۲ ماه یکی از مکمل‌های زیر را دریافت کرد: (۱) ۱۰ میلی‌گرم B<sub>۲</sub>، ۱۰ میلی‌گرم B<sub>۶</sub>، ۲۰۰ میکروگرم B<sub>۱۲</sub> و ۱۰۰۰ میکروگرم فولات؛ (۲) ویتامین‌های گروه B و ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E؛ (۳) ویتامین‌های گروه B و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C؛ (۴) ویتامین‌های گروه B، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E و ۲۰۰ میلی‌گرم ویتامین C؛ و (۵) دارونما. نمونه‌های خون ناشتا در شروع و انتهای کارآزمایی جمع‌آوری و سطوح کلسترول تام، تری‌گلیسرید، آپولیپوپروتئین‌های A1 و B و ویتامین‌های E، اسید فولیک و ویتامین B<sub>۱۲</sub> در سرم و ویتامین C خون تام اندازه‌گیری شدند. تغییرات سطوح اولیه و تغییرات در طی مطالعه با استفاده از مدل general linear آزمون آماری شد.

یافته‌ها: مصرف مکمل به مدت ۲ ماه تغییر معنی‌داری در میانگین سطوح سرمی آپولیپوپروتئین‌ها ایجاد نکرد. همبستگی مثبت و معنی‌دار بین تغییرات ویتامین E با تغییرات آپولیپوپروتئین A1 ( $P=0/003$ ) و آپولیپوپروتئین B ( $P<0/001$ ) دیده شد. در رگرسیون چند متغیره سطح سرمی ویتامین E به عنوان متغیر مستقل و پیشگویی‌کننده سطوح سرمی آپولیپوپروتئین A1 و B (به ترتیب:  $P=0/002$  و  $P<0/001$ ) و تغییرات سطح سرمی ویتامین B<sub>۱۲</sub> به عنوان متغیر پیشگویی‌کننده غلظت سرمی آپولیپوپروتئین B وارد معادله شدند ( $P<0/05$ ).

نتیجه‌گیری: سطح ویتامین E سرم‌نماگر مناسبی برای پیشگویی سطوح سرمی آپولیپوپروتئین A1 و B می‌باشد. افزایش دوز مکمل و مدت طولانی‌تر مداخله برای دستیابی به تغییرات مطلوب توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت، ویتامین‌های گروه B، ویتامین E، ویتامین C، آپولیپوپروتئین A1، آپولیپوپروتئین B

۱- گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- گروه اپیدمیولوژی و آمار حیاتی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران

\* نشانی: تهران، میدان توحید، دانشکده پرستاری و مامایی دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ تلفن: ۶۶۹۴۱۶۶۹؛ نامبر: ۶۶۴۲۷۲۵۵؛ پست

الکترونیک: yavarip@sina.tums.ac.ir

## مقدمه

مهمترین علت ناتوانی و مرگ در بیماران دیابتی عوارض در رابطه با ماکرو و میکرو واسکولر می‌باشد [۱]. CVD یکی از مهمترین علل ناتوانی و میرایی بیماران دیابتی است بطوری که فراوانی بیماری‌های قلبی-عروقی در افراد دیابتی ۳ تا ۷ برابر افراد غیر دیابتی است [۲، ۳]. ناهنجاری‌های لیپوپروتئین‌ها از جمله عوامل خطر افزایش بروز CVD در افراد دیابتی به شمار می‌روند [۴]. مطالعات اخیر نشان می‌دهند که آپولیپروتئین‌های A<sub>1</sub> و B، نماگرهای بهتری برای پیشگویی خطر بیماری‌های قلبی-عروقی هستند [۵-۷].

مطالعات اپیدمیولوژی متعددی ارتباط بین دریافت و سطوح سرمی ریز مغذی‌ها و ارتباط آنها را با غلظت لیپیدها در خون بررسی کرده‌اند. بررسی ارتباط بین سطح ویتامین C با سطوح لیپیدهای سرم ارتباط مثبت را بین سطح سرمی ویتامین C بطور مستقل با سطوح HDL-C سرم در زنان نشان داد [۸، ۹]. مطالعات نشان داده‌اند که مکمل‌های ویتامین C و E در بهبود سطوح لیپیدهای سرم مفید می‌باشند [۱۰-۱۲]. با این حال، در برخی از این مطالعات مکمل ویتامین E تاثیری بر سطوح لیپیدهای سرم نداشته است [۱۳]. ارتباط بین سطوح ویتامین‌های گروه B با سطوح لیپیدهای سرم کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است.

با توجه به اختلالات موجود در وضعیت ویتامین‌های آنتی‌اکسیدان در افراد دیابتی [۱۴]، مفید بودن مصرف مکمل ویتامین‌های C و E در بهبود وضعیت لیپیدهای خون [۱۰-۱۲] و محدودیت مطالعاتی که تاثیر مصرف ویتامین‌های گروه B را بر وضعیت لیپیدهای خون بررسی کرده‌اند و همچنین، اهمیت اندازه‌گیری آپولیپروتئین A<sub>1</sub> و B سرم برای پیشگویی خطر بیماری‌های قلبی-عروقی، مطالعه حاضر با هدف تعیین تأثیر برخی از ویتامین‌های گروه B و آنتی‌اکسیدان بر سطوح آپولیپروتئین‌های A<sub>1</sub> و B در بیماران دیابتی نوع ۲ انجام گرفت و اثرات این ویتامین‌ها در گروه‌های مورد مطالعه با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفت.

## روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع کارآزمایی بالینی تصادفی دو سو کور است که بر روی تعداد ۱۱۰ بیمار دیابتی نوع ۲ مراجعه کننده به مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم بیمارستان شریعتی در فاصله سالهای ۱۳۸۱ الی ۱۳۸۳، بین سنین ۲۹ تا ۶۸ سال (متوسط سن ۵۲/۴±۱۰/۳ سال) با حداقل یک سال سابقه دیابت، صورت گرفت. تعداد نمونه برابر هر گروه حداقل ۲۱ بیمار با توان ۸۰٪ و خطای ۵٪ محاسبه شد.

معیارهای ورود به مطالعه شامل: داشتن عملکرد سالم قلب، کبد، کلیه بدون تاریخچه انفارکتوس میوکارد، عدم دریافت مکمل‌های ویتامینی، انسولین، داروهای پایین آورنده چربی خون، داروهای کاهشنده فشار خون، دیورتیک‌ها، استروژن، پروژسترون، هورمون‌های تیروئیدی، دارا بودن قند خون ناشتای بالاتر از ۱۲۶mg/dl و عدم بارداری برای زنان.

موضوع طرح، هدف‌های مطالعه، منافع ویتامین درمانی، بی‌خطر بودن مصرف مقادیر ویتامین‌های تجویزی به افراد توضیح داده شد. خروج بیماران از مطالعه در هر زمان آزاد بود. از بیماران داوطلب جهت انجام این مطالعه رضایت نامه کتبی اخذ گردید. پروتکل تحقیق توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تهران مورد تأیید قرار گرفته بود.

داده‌های مربوط به پیشینه بیماری، نوع داروی مصرفی، مکمل‌های رژیم، استعمال سیگار و اندازه‌های تن سنجی شامل نمایه توده بدن<sup>۱</sup> و نسبت دور کمر به باسن با مصاحبه چهره به چهره و اندازه‌گیری بدست آمد. دوزهای ویتامین‌ها براساس مقادیر پایین تر از بالاترین سطح قابل تحمل مورد استفاده قرار گرفت. بیماران دیابتی بر اساس جنس و با روش بلوک بندی تصادفی در هر یک از پنج گروه درمان قرار گرفتند. بر اساس نوع گروه‌های درمانی، هر فرد یک کپسول در روز برای مدت ۲ ماه دریافت کرد. هر کپسول دارای یکی از ترکیبات زیر بود که تعیین کننده نوع گروه بود: گروه B: B<sub>2</sub> (۱۰ میلی گرم)، B<sub>6</sub> (۱۰ میلی گرم)، B<sub>12</sub> (۱۰۰ میکروگرم)، و فولات (۱۰۰۰ میکروگرم)، گروه BE: ویتامین‌های گروه B و

<sup>1</sup> Body Mass Index

یک روز و ده روز برای  $\alpha$ -توکوفرول سرم به ترتیب برابر ۰.۲٪ و ۰.۶٪ بدست آمد.

دریافت مواد غذایی با استفاده از پرسشنامه یادآمد ۲۴ ساعت خوراک در شروع و پایان ۲ ماه مداخله بدست آمد و توسط نرم افزار FP II آنالیز شد. از افراد خواسته شد که برنامه رژیم غذایی و فعالیت جسمانی خود را در طول مطالعه تغییر ندهند و تا آنجا که ممکن است از تغییر برنامه دارویی خود اجتناب کنند. پیروی از دستور مصرف مکمل با شمارش تعداد کپسول های مصرف شده و همچنین با اندازه گیری تغییرات سطح سرمی ویتامین های C، E، فولات و ویتامین B<sub>۱۲</sub> ارزیابی شد.

آمار توصیفی و تحلیلی برای هر متغیر صورت گرفت. از آزمون کولموگوروف اسمیرونوف برای ارزیابی نرمال بودن توزیع متغیر های مورد بررسی استفاده شد. از تبدیل لگاریتم برای نرمال شدن توزیع تری گلیسرید استفاده شد. تمام متغیرهای دیگر توزیع نرمال داشتند. تفاوت های آماری معنی دار بین پنج گروه توسط آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA برای داده های کمی پیوسته و آزمون  $\chi^2$  برای داده های کمی گسسته مشخص شد. در صورتی که آزمون ANOVA معنی دار بود، اما آزمون Levene معنی دار نبود، از آزمون Tukey برای مقایسه دو به دو کلیه گروه ها با یکدیگر و از آزمون Dunnett برای مقایسه هر یک از گروه ها با گروه دارونما استفاده شد. تغییرات متغیرها در طول مطالعه توسط آنالیز کوواریانس با استفاده از مدل های خطی بررسی گردید. ارزش  $P < 0.05$  از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. تمام داده ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ آنالیز گردید.

### یافته ها

از تعداد ۱۲۵ بیمار شرکت کننده در مطالعه، ۸ نفر به دلیل عدم تمایل به ادامه همکاری از مطالعه خارج شدند. از تعداد ۱۱۷ بیمار باقی مانده تعداد ۱۱۰ بیمار که از نظر متغیرهای مورد بررسی کامل بودند، در آنالیز و تحلیل داده ها وارد شدند. از این تعداد ۱۹ بیمار فقط با کنترل رژیم و مابقی با سولفونیل اوره و/یا متفورمین تحت درمان بودند. ویژگی های دموگرافیک، تن سنجی و دریافت روزانه

ویتامین E (۱۰۰ میلی گرم)، گروه BC: ویتامین های گروه B و ویتامین C (۲۰۰ میلی گرم)، گروه BCE: ویتامین های گروه B و ویتامین E (۱۰۰ میلی گرم) و ویتامین C (۲۰۰ میلی گرم) و گروه P: دارونما (لاکتوز). کپسول های مکمل و دارونما از نظر شکل، اندازه و رنگ یکسان بودند و توسط شرکت داروسازی داروپخش برای مطالعه تهیه شدند.

بعد از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتا بین ساعت ۸ و ۱۰ صبح و پیش از دریافت هر نوع داروی پایین آورنده قند خون، ۲۰ میلی لیتر نمونه خون در شروع و پایان ۲ ماه مداخله در لوله های فاقد عناصر کمیاب جمع آوری شد. نمونه های خون به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۲۰۰۰ rpm سانتریفوژ شدند تا سرم آنها جدا شود. نمونه های سرم بعد از جدا شدن به لوله های پلی استرن منتقل شد و سریعاً در درجه حرارت  $70^{\circ}\text{C}$ - برای آنالیز نگهداری گردید. در طی آنالیز، نمونه ها از نور محافظت شدند و نمونه های مشکوک به همودیالیز دور ریخته شدند.

ویتامین E سرم با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع فشار بالا<sup>۱</sup> اندازه گیری شد [۱۵]. ویتامین E استاندارد با تقسیم غلظت  $\alpha$ -توکوفرول بر مجموع غلظت تری گلیسرید و کلسترول ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) محاسبه شد. سطوح سرمی کلسترول تام، تری گلیسرید به روش آنزیمی [۱۶] با استفاده از کیت شرکت پارس آزمون اندازه گیری شدند. غلظت سرمی آپولیپوپروتئین A1 و آپولیپوپروتئین B با استفاده از روش ایمونو-توربیدیمتری [۱۶] توسط اتوانالایزر Cobas Mira با استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون (Diagnostic System) اندازه گیری شدند. غلظت ویتامین C خون کامل به روش کلریمتری اندازه گیری گردید [۱۷]. سطوح سرمی ویتامین های فولات و B<sub>۱۲</sub> به روش رادیو ایمنواسی [۱۸] با استفاده از کیت شرکت (Diagnostic Division) اندازه گیری شد. تفسیر نتایج آزمایشگاهی با استفاده از منابع معتبر صورت گرفت [۱۸، ۱۹]. بر اساس استانداردهای موجود سطح  $\alpha$ -توکوفرول سرم یا پلاسما بیشتر از ۵ میکروگرم در میلی لیتر طبیعی در نظر گرفته شد [۲۰]. ضریب تغییرات (CV)

<sup>1</sup> High Pressure Liquid Chromatography

ویتامین‌های افراد مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است. ۵۰٪ از افراد شرکت کننده زن و ۵۰٪ افراد مرد بودند. میانگین سنی افراد شرکت کننده  $10/3 \pm 52/4$  سال و دامنه آن ۶۸-۲۹ سال بود. میانگین طول مدت ابتلا به دیابت بیماران مورد مطالعه  $8/5 \pm 6$  سال و دامنه آن ۲۵-۱ سال بود. میانگین BMI در شروع مطالعه  $27/4 \pm 3/7$  و دامنه آن  $19/0 - 37/5$  کیلوگرم بر متر مربع بود. ۱۶ نفر از بیماران ( $14/5\%$ ) سیگاری بودند. همانطوری که در جدول ۱ مشاهده می شود در شروع مطالعه، گروه‌ها از لحاظ توزیع جنس، سن، طول مدت ابتلا به دیابت، نمایه توده بدن BMI، استعمال دخانیات، میانگین دریافت روزانه ویتامین‌های C، E، فولات و B۱۲ مشابه بودند. اختلاف معنی داری در فعالیت جسمانی، دریافت انرژی، کربوهیدرات و فیبر از رژیم غذایی و یا مصرف داروها در طی مطالعه مشاهده نگردید.

جدول ۲ میانگین و انحراف معیار سطوح سرمی ویتامین E، ویتامین E استاندارد، ویتامین C خون کامل و همچنین سطوح سرمی فولات و ویتامین B۱۲ را در بیماران دیابتی نوع ۲ پیش و پس از ۲ ماه مداخله نشان می دهد. در شروع مطالعه، گروه‌ها از نظر سطوح سرمی ویتامین E، ویتامین E استاندارد، ویتامین C خون کامل و همچنین

سطوح سرمی فولات و ویتامین B۱۲ مشابه بودند. دامنه ویتامین E سرم پیش از مداخله  $28/5 \mu\text{g/ml} - 6/9$  بود که پس از ۲ ماه مداخله به  $39/3 \mu\text{g/ml} - 10/0$  افزایش یافت. همچنین، دامنه ویتامین E استاندارد شده با لیپید سرم پیش از مداخله به  $8/9 \mu\text{g/ml} - 1/5$  بود که پس از ۲ ماه مداخله به  $12/6 \mu\text{g/ml} - 2/3$  افزایش یافت. پس از ۲ ماه مداخله، سطوح ویتامین E، ویتامین E استاندارد، در مقایسه با سطوح پایه و گروه دارونما، به طور معنی داری افزایش یافت. همچنین، پس از ۲ ماه مداخله، سطح ویتامین E سرم در گروه‌های BE و BCE (به ترتیب  $34\%$  و  $28\%$ ) و سطح ویتامین E استاندارد سرم در گروه‌های BE و BCE (به ترتیب  $49\%$  و  $35\%$ )، نسبت به پیش از مداخله به طور معنی داری افزایش یافت ( $P < 0/001$ ). میانگین غلظت ویتامین C خون تام در گروه BC و BCE نیز نسبت به پیش از مداخله به ترتیب  $24\%$  و  $25\%$  افزایش یافت. آزمون Tukey نشان داد که افزایش تغییرات غلظت ویتامین C خون تام در گروه BC و BCE تفاوت معنی داری در مقایسه با میانگین گروه دارونما دارد ( $P < 0/05$ ). میانگین غلظت فولات سرم در گروه‌های B، BC، BE و BCE به ترتیب به میزان  $45\%$ ،  $69\%$ ،  $64\%$  و  $60\%$  نسبت به قبل از مداخله افزایش یافت که این افزایش در تمام گروه‌ها

جدول ۱- ویژگی‌های دموگرافیک، تن سنجی و میانگین مدت ابتلا و دریافت روزانه ویتامین‌ها در بیماران دیابتی نوع ۲ مورد مطالعه پیش از دریافت مکمل

گروه	p	B	BE	BC	BCE
تعداد (نفر)	۲۲	۲۳	۲۱	۲۲	۲۲
مرد/زن	۱۱/۱۱	۱۱/۱۲	۱۱/۱۰	۱۱/۱۱	۱۱/۱۱
استعمال دخانیات (نفر)	۳	۳	۳	۴	۳
سن (سال)	$52/1 \pm 10/4^*$	$53/4 \pm 11/7$	$50/1 \pm 7/8$	$53/0 \pm 10/8$	$53/2 \pm 10/8$
مدت ابتلا به دیابت (سال)	$7/7 \pm 6/3$	$9/1 \pm 6/6$	$7/3 \pm 5/7$	$9/1 \pm 6/8$	$9/5 \pm 6/1$
BMI ( $\text{kg/m}^2$ )	$27/0 \pm 4/2$	$27/9 \pm 4/4$	$26/8 \pm 3/6$	$27/6 \pm 3/6$	$27/4 \pm 2/7$
دریافت ویتامین E (mg/d)	$7/5 \pm 6/5$	$13/2 \pm 11/5$	$9/5 \pm 7/4$	$10/3 \pm 10/1$	$9/6 \pm 9/5$
دریافت ویتامین C (mg/d)	$10/7 \pm 11/1$	$11/0 \pm 13/8$	$21/0 \pm 15/9$	$11/5 \pm 11/8$	$11/5 \pm 11/6$
دریافت فولات ( $\mu\text{g/d}$ )	$27/9 \pm 13/2$	$30/2 \pm 12/1$	$31/7 \pm 10/6$	$27/7 \pm 13/4$	$27/4 \pm 16/7$
دریافت ویتامین B۱۲ ( $\mu\text{g/d}$ )	$2/7 \pm 2/1$	$2/7 \pm 3/2$	$2/1 \pm 1/8$	$2/0 \pm 1/6$	$2/1 \pm 1/2$

\* میانگین  $\pm$  انحراف معیار

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار سطوح ویتامین های خون بیماران دیابتی نوع ۲ مورد مطالعه پیش و ۲ ماه پس از مداخله

گروه	(۲۲)* P	(۲۳)B	(۲۱)BE	(۲۲)BC	(۲۲)BCE
<b>ویتامین E پلاسما (µg/ml)</b>					
پیش از مداخله	۲۰/۴±۴/۱	۱۸/۴±۴/۵	۲۰/۱±۴/۰ <sup>a</sup>	۱۹/۰±۴/۷	۲۰/۰±۴/۱ <sup>a</sup>
پس از مداخله	۱۹/۸±۴/۳	۱۹/۱±۵/۱	۲۷/۰±۵/۶ <sup>c</sup>	۲۴/۷±۵/۰	۲۵/۶±۴/۶ <sup>c</sup>
<b>ویتامین E استاندارد** (µg/mg)</b>					
پیش از مداخله	۵/۴±۱/۴	۵/۳±۱/۴	۵/۱±۱/۳ <sup>a</sup>	۵/۲±۱/۵	۵/۱±۱/۸ <sup>a</sup>
پس از مداخله	۶/۰±۲/۰	۵/۹±۱/۸	۷/۶±۲/۱ <sup>b</sup>	۵/۵±۱/۸	۶/۹±۲/۱
<b>ویتامین C خون کامل (mg/dl)</b>					
پیش از مداخله	۱/۰۵±۰/۲۳	۱/۰۹±۰/۲۴	۱/۱۰±۰/۳۲	۱/۰۵±۰/۲۹ <sup>a</sup>	۲۰/۰±۱/۴ <sup>a</sup>
پس از مداخله	۱/۰۷±۰/۲۶	۱/۱۳±۰/۲۶ <sup>b</sup>	۱/۱۰±۰/۳۱	۱/۳۰±۰/۲۸ <sup>b</sup>	۲۵/۶±۴/۶ <sup>b</sup>
<b>ویتامین اسید فولیک (ng/ml)</b>					
پیش از مداخله	۹/۵±۳/۶	۱۱/۰±۴/۷ <sup>a</sup>	۹/۴±۳/۸ <sup>a</sup>	۱۰/۴±۳/۴ <sup>a</sup>	۱۰/۰±۳/۷ <sup>a</sup>
پس از مداخله	۱۰/۲±۵/۹	۱۶/۰±۵/۳ <sup>c</sup>	۱۵/۹±۵/۰ <sup>c</sup>	۱۷/۱±۳/۹ <sup>c</sup>	۱۳/۱±۰/۲۹ <sup>c</sup>
<b>ویتامین B۱۲ (pg/ml)</b>					
پیش از مداخله	۴۴۰±۱۸۰	۳۳۷±۱۸۱ <sup>a</sup>	۳۴۱±۱۷۷ <sup>a</sup>	۳۸۴±۱۷۳ <sup>a</sup>	۴۲۵±۲۰۲ <sup>a</sup>
پس از مداخله	۳۹۹±۱۷۳	۵۳۷±۲۸۰	۶۰۴±۲۲۳	۶۷۵±۳۷۷ <sup>c</sup>	۶۸۰±۳۰۰ <sup>d</sup>

\* تعداد \*\* ویتامین E استاندارد: غلظت α-توکوفرول تقسیم بر مجموع غلظت تری گلیسرید و کلسترول

تفاوت آماری معنی دار (t زوج) بین پیش با پس از مداخله: (a) P<۰/۰۰۱

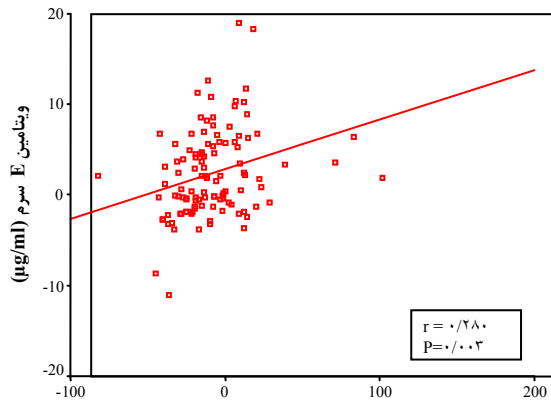
تفاوت آماری معنی دار بین میانگین گروه با گروه p: (b) P<۰/۰۰۵ (c) P<۰/۰۰۵ (d) P<۰/۰۰۴ (e) P<۰/۰۰۱

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار سطوح آپولیپوپروتئین های سرم در بیماران دیابتی نوع ۲ مورد مطالعه پیش و ۲ ماه پس از مداخله

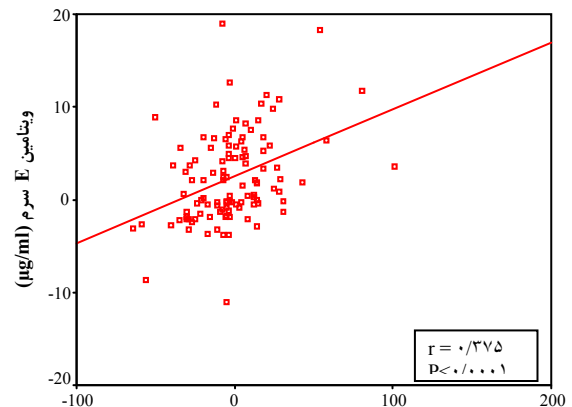
گروه	* (۲۲) p	(۲۳)B	(۲۱)BE	(۲۲)BC	(۲۲)BCE
<b>آپولیپوپروتئین A1 (mg/dl)</b>					
پیش از مداخله	۱۶۱±۲۰ <sup>b</sup>	۱۴۹±۱۹	۱۵۵±۳۰	۱۵۹±۲۷ <sup>b</sup>	۱۵۵±۲۴
پس از مداخله	۱۴۶±۲۱	۱۴۱±۲۴	۱۵۶±۳۴	۱۴۲±۲۵	۱۴۸±۲۶
<b>آپولیپوپروتئین B (mg/dl)</b>					
پیش از مداخله	۱۲۴±۲۵	۱۲۵±۳۱	۱۲۳±۳۶	۱۲۷±۲۸ <sup>a</sup>	۱۲۷±۲۹
پس از مداخله	۱۲۵±۳۴	۱۱۶±۳۲	۱۲۸±۳۸	۱۱۷±۲۵	۱۲۸±۲۵

\* تعداد

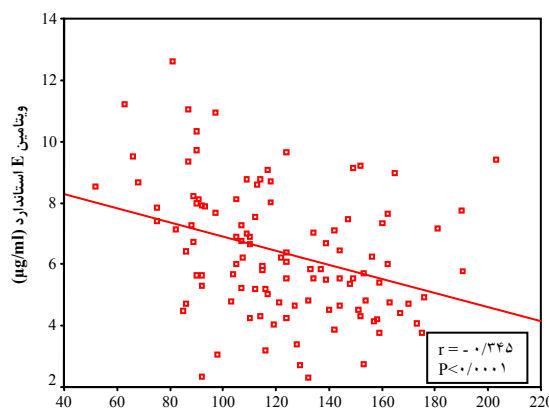
تفاوت آماری معنی دار (t زوج) بین پیش با پس از مداخله: (a) P<۰/۰۰۵ (b) P<۰/۰۰۱



آپو لیپوپروتئین A1 سرم (mg/dl)



آپو لیپوپروتئین B سرم (mg/dl)



آپو لیپوپروتئین B سرم (mg/dl)

#### نمودار ۱- همبستگی بین تغییرات سطوح ویتامین E و ویتامین E استاندارد سرم با سطوح سرمی آپولیپو پروتئین ها

آپولیپوپروتئین ها دیده شد و آزمون آنالیزواریانس یک طرفه تفاوت آماری معنی داری بین گروه ها نشان نداد. پس از ۲ ماه مداخله همبستگی مثبت و معنی داری بین تغییرات ویتامین E سرم با تغییرات سطوح سرمی آپولیپوپروتئین A1 ( $r=0.280$ ,  $P=0.003$ ) و آپولیپوپروتئین B ( $r=0.375$ ,  $P<0.0001$ ) دیده شد (نمودار ۱). همچنین، پس از ۲ ماه مداخله همبستگی منفی و معنی داری بین سطوح سرمی ویتامین E استاندارد با تغییرات سطوح سرمی آپولیپوپروتئین B مشاهده شد ( $P<0.0001$ )،  $r=-0.345$ ؛ نمودار ۱). غلظت ویتامین E سرم در آنالیز رگرسیون چند متغیره، با در نظر گرفتن متغیرهایی که بیشترین همبستگی را با تغییرات متغیر وابسته آپو A1 و آپو B سرم داشتند، به عنوان متغیر مستقل و پیشگویی کننده در هر دو مورد وارد معادله شد (به ترتیب:  $P=0.002$  و

تفاوت آماری معنی داری با گروه دارونما داشت. میانگین غلظت ویتامین B<sub>12</sub> سرم در گروه های B، BC، BE و BCE به ترتیب به میزان ۰/۵۹، ۰/۷۷، ۰/۷۶ و ۰/۶۰ نسبت به قبل از مداخله افزایش یافت. علاوه بر این، میانگین غلظت ویتامین B<sub>12</sub> سرم در گروه های B، BC و BCE تفاوت معنی داری در مقایسه با میانگین گروه دارونما داشت. در این مطالعه سطح پایه ویتامین E سرم، ویتامین C خون کامل و همچنین سطوح سرمی فولات و ویتامین B<sub>12</sub> در محدوده طبیعی قرار داشت.

جدول ۳ میانگین و انحراف معیار سطوح سرمی آپولیپوپروتئین ها را پیش و پس از مداخله نشان می دهد. در شروع مطالعه تفاوت معنی داری بین چهار گروه مورد بررسی با استفاده از آزمون ANOVA مشاهده نشد. پس از ۲ ماه مداخله، تغییرات کمی در سطوح سرمی

بطورکلی، مطالعات محدودی در رابطه با مصرف ویتامین ها بر روی سطوح لیپوپروتئین ها صورت گرفته است. در برخی از مطالعات، ویتامین E تاثیری بر روی غلظت آپو A1 سرم نداشت [۲۱]. در حالی که، برخی تحقیقات دیگر اثر مکمل ویتامین E را در بالا بردن غلظت آپو A1 سرم نشان داده‌اند [۲۲]. در مطالعه ای بر روی بیماران همودیالیزی هیپرتری گلیسریدمیک مصرف مکمل توام ویتامین E و اسیدنیکوتینیک توانست در هفته ششم موجب افزایش سطح آپولیپوپروتئین A1 سرم گردد [۲۳]. از این رو به نظر می رسد برای مشاهده دقیق تر اثرات ویتامین E بر روی غلظت آپو A1 سرم نیاز به انجام مطالعاتی با مدت زمان بیشتر باشد. در یک کارآزمایی بر روی بیماران دیابتی نوع ۲، با تجویز مکمل های ویتامین C، E، Mg و Zn که برای مدت ۳ ماه، سطوح HDL-C ۲۴ درصد و آپو A1 ۸/۸ درصد افزایش یافت [۲۴]. در این مطالعه به نظر می رسد اثر سینرژستیک حاصل از ترکیب ویتامین ها و مواد معدنی اثرات مفیدتری بر سطوح HDL-C و آپو A1 داشته است. در مطالعه حاضر میانگین غلظت آپو A1 سرم در کلیه گروهها پیش و پس از مداخله در محدوده طبیعی یعنی بالاتر از ۱۱۰ میلی گرم در دسی لیتر قرار داشت. ولی میانگین آن پس از مداخله در گروههای BC و P نسبت به پیش از مداخله بطور معنی داری کاهش یافت ( $P < 0/01$ ، جدول ۳).

مطالعات صورت گرفته در زمینه اثر مکمل ویتامین E بر روی غلظت آپو B بسیار اندک می باشند. Cloarec و همکارانش نشان دادند که مکمل ویتامین E در بیماران هیپرکلسترومیک نوع IIa می تواند موجب کاهش غلظت آپو B سرم شود [۲۲]. در مطالعه حاضر میانگین آپو B سرم در کلیه گروهها از جمله گروههای دریافت کننده ویتامین E در محدوده طبیعی یعنی کمتر از ۱۵۵ میلی گرم در دسی لیتر قرار داشت (جدول ۳). بنابراین، نمی توان انتظار داشت در بیمارانی که سطوح آپولیپوپروتئین ها ی A1 و B سرم آنها در محدوده طبیعی قرار دارد، مکمل های حاوی ویتامین E بتواند تاثیر قابل ملاحظه ای در غلظت های سرمی آپولیپوپروتئین های مورد نظر بوجود آورد.

( $P < 0/001$ ). همچنین، تغییرات ویتامین B12 سرم در رابطه با سطح سرمی آپو B به عنوان یک متغیر پیشگویی کننده وارد معادله شد ( $P < 0/05$ ).

## بحث

مطالعات اخیر نشان می دهند که آپولیپوپروتئین ها (آپو) در مقایسه با LDL-C، نماگرهای بهتری برای پیشگویی خطر بیماریهای قلبی-عروقی هستند. آپولیپوپروتئین B، نشان دهنده جزء آتروژنیک لیپوپروتئین و آپولیپوپروتئین A1 منعکس کننده جزء ضد-آتروژنیک می باشند که دقیق تر از LDL-C خطر بیماری قلبی-عروقی را نشان می دهند [۵-۷]. بنابراین، بر طبق مطالعات متعدد، آپولیپوپروتئین A1 و B بطور دقیق تری نسبت به LDL-C خطر انفارکتوس میو کارد را پیشگویی می کنند.

در مطالعه کنونی، تغییر معنی داری در میانگین سطوح سرمی آپولیپوپروتئین A1 و B پس از ۲ ماه مداخله مشاهده نشد (جدول ۳). برای کاهش سطح سرمی آپولیپوپروتئین A1 در گروه P توجه خاصی به نظر نمی رسد. در هر حال، در سایر گروه ها مقایسه میانگین سطح سرمی آپولیپوپروتئین A1 و B پیش با پس از ۲ ماه مداخله اختلاف آماری معنی داری نشان نداد. فقدان اثرات مکمل ویتامین ها بر سطوح سرمی آپولیپوپروتئین ها در اثر تغییرات وزن، فعالیت فیزیکی، تغییرات رژیم غذایی یا داروهای مصرفی نبود. زیرا این متغیرها در طی مدت مطالعه تغییری نکردند و پیروی بیماران از دستور مصرف مکمل خوب بود.

در این مطالعه از یک سو همبستگی مثبت معنی دار بین سطوح سرمی ویتامین E با تغییرات سطوح سرمی آپو A1، آپو B و از سوی دیگر همبستگی منفی معنی دار بین ویتامین E استاندارد سرم با تغییرات سطح سرمی آپو B مشاهده شد (نمودار ۱). علاوه بر این، در آنالیز رگرسیون چند متغیره همبستگی معنی دار بین غلظت ویتامین E سرم با تغییرات متغیر وابسته آپو A1 و آپو B سرم مشاهده شد. این یافته ها ممکن است ویتامین E سرم را به عنوان متغیر مستقل و پیشگویی کننده وضعیت سرمی آپو A1 و آپو B مطرح کند.

فاقد اثر یا کم اثر باشد [۱۱، ۲۷، ۲۸]. بیماران دیابتی نوع ۲ شرکت کننده در مطالعه‌ی حاضر کمبودی از نظر ویتامین های C و E و ویتامین های گروه B نداشتند (جدول ۲). بطورخلاصه، سطح ویتامین C خون کامل و سطوح سرمی ویتامین E، فولات و ویتامین B۱۲ بیماران دیابتی نوع ۲ مورد مطالعه در محدوده طبیعی قرار داشت. تجویز مکمل های حاوی ویتامین های گروه B و آنتی اکسیدان های E و C تاثیر بر سطوح سرمی آپی A۱ و آپی B در بیماران دیابتی نوع ۲ نداشت. ویتامین E سرم ممکن است به عنوان متغیر مستقل و پیشگویی کننده وضعیت سرمی آپی A۱ و آپی B مطرح شود. با توجه به مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد برای مشاهده دقیق تر اثرات مکمل های حاوی ویتامین های C و E بر روی آپولیپوپروتئین های سرم نیاز به انجام مطالعاتی با مدت زمان بیشتر، دوزهای متفاوت و انتخاب افراد دیابتی بر اساس ویژگی‌های خاص سطوح سرمی لیپیدها و میکرونوترینت ها می باشد.

### سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران، کارکنان محترم مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران و بیماران شرکت کننده در این تحقیق قدردانی می شود.

در مطالعه مقطعی که در سه منطقه از بوستن در امریکا صورت گرفت مشاهده شد که هر  $30 \mu\text{mol/L}$  افزایش در سطح ویتامین C پلاسما باعث  $3/7-9/5$  درصد افزایش HDL-C و  $4/1$  درصد کاهش LDL-C در سطح پلاسما می‌شود [۲۵]. در این مطالعه به این نکته اشاره شده است که سودمندی مکمل ویتامین C ممکن است در افرادی که سطوح سرمی ویتامین C آنها پایین است، بیشتر از افرادی باشد که سطوح سرمی ویتامین آنها طبیعی است. در مطالعه دیگری مشخص شد که مقدار دوز مصرفی ویتامین C می تواند موثر باشد، بطوری که مصرف ۲ گرم ویتامین C توسط زنان و مردان موجب کاهش معنی دار سطح سرمی آپولیپوپروتئین B آنها شد (به ترتیب  $5/5$  و  $8$  درصد) [۲۶]. در مطالعه حاضر، مصرف همزمان ویتامین C با ویتامین های گروه B (گروه BC) باعث کاهش معنی دار سطح آپولیپوپروتئین های A۱ و B پس از ۲ ماه مداخله شد (به ترتیب  $P < 0/01$ ،  $P < 0/05$ ؛ جدول ۳).

علاوه بر تفاوت هایی که در مطالعات مختلف وجود داشته است، مانند طول مدت مطالعه، نوع افراد شرکت کننده و دوزهای متفاوت ویتامین های مختلف، سطوح سرمی این میکرونوترینت ها می توانند تا حدی پاسخگوی عدم دستیابی به نتیجه یکسان باشند. گزارش های متعدد حاکی از آن است که مکمل های ویتامینی ممکن است در افرادی که کمبود این ویتامین ها را دارند، ممکن است بهتر بتواند بر روی سطوح آپولیپوپروتئین های خون موثر باشند. در حالی که در افراد با وضعیت طبیعی این میکرونوترینت ها

### مآخذ

- King GL, Kunisaki M, Nishio Y, Inoguchi T, Shiba T, Xia P. Biochemical and molecular mechanisms in the development of diabetic vascular complications. *Diabetes*. 1996; 45 (Suppl 3): S105-S108.
- Giugliano D, Ceriello A, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996; 19: 257-267.
- Rosen P, Du X, Tschope D. Role of oxygen derived radicals for vascular dysfunction in the diabetic heart: prevention by alpha-tocopherol? *Mol Cell Biochem*. 1998; 188: 103-111.
- Assmann G, Schulte H. The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *Am Heart J*. 1988 ; 116(6 Pt 2): 1713-1724.
- Walldius G, Jungner I, Holme I, Aastveit AH, Kolar W, Steiner E. High apolipoprotein B, low apolipoprotein A-I, and improvement in the prediction of fatal myocardial infarction (AMORIS study): a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2026-2033.
- Sniderman AD, Furberg CD, Keech A, Roeters van Lennep JE, Frohlich J, Jungner I. et al. Apolipoproteins versus lipids as indices of coronary



- risk and as targets for statin treatment. *Lancet* 2003; 361: 777-780.
7. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, Dans T, Avezum A, Lanas F. et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study. *Lancet* 2004; 364: 937-952.
  8. Jacques PF, Hartz SC, McGandy RB, Jacob RA, Russell RM. Vitamin C and blood lipoproteins in an elderly population. *Ann N Y Acad Sci.* 1987; 498: 100-109.
  9. Simon JA, Hudes ES. Relation of serum ascorbic acid to serum lipids and lipoproteins in US adults. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 250-255.
  10. Jain SK, McVie R, Jaramillo JJ, Palmer M, Smith T, Meachum ZD, et al. The effect of modest vitamin E supplementation on lipid peroxidation products and other cardiovascular risk factors in diabetic patients. *Lipids* 1996; 31 Suppl: S87-S90.
  11. Tofler GH, Stec JJ, Stubbe I, Beadle J, Feng D, Lipinska I, et al. The effect of vitamin C supplementation on coagulability and lipid levels in healthy male subjects. *Thromb Res* 2000; 1; 100: 35-41.
  12. Paolisso G, Balbi V, Volpe C, Varricchio G, Gambardella A, Saccomanno F, et al. Metabolic benefits deriving from chronic vitamin C supplementation in aged non-insulin dependent diabetics. *J Am Coll Nutr* 1995; 14: 387-392.
  13. Miller ER 3rd, Appel LJ, Levander OA, Levine DM. The effect of antioxidant vitamin supplementation on traditional cardiovascular risk factors. *J Cardiovasc Risk* 1997; 4: 19-24.
  14. Strain JJ. Disturbances of micronutrient and antioxidant status in diabetes. *Proc Nutr Soc* 1991; 50: 591-604.
  15. Sanz DC, Sata-Cruz MC. Simultaneous measurement of retinol and  $\alpha$ -tocopherol in human serum by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J Chromatogr* 1986; 380: 140-144.
  16. Stein EA, Myers GL. Lipids, lipoproteins and apoproteins. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994. P. 1002-1093.
  17. Roe JH. Ascorbic acid. Gyorgy P, Pearson WN, editors. In: *The Vitamins*. New York Academic Press; 1967. P 27-51.
  18. Fairbanks VF, Klee GG. Biochemical aspects of hematology. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994: 1974-2072.
  19. Fischenbach F, Dunning MB. *A Manual of Laboratory and Diagnostic Tests*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2004. P 430-433.
  20. Olmedilla B, Granado F, Gil-Martinez E, Blanco I, Rojas-Hidalgo E. Reference values for retinol, tocopherol, and main carotenoids in serum of control and insulin-dependent diabetic. *Spanish subjects Clin Chem* 1997; 43(6 Pt 1):1066-1071.
  21. Galli F, Varga Z, Balla J, Ferraro B, Canestrari F, Floridi A, et al. Vitamin E, Lipid profile, and peroxidation in hemodialysis patients. *Kidney Int Suppl* 2001; 78: S148-S154.
  22. Cloarec MJ, Perdriset GM, Lamberdiere FA, Colas-Belcour JF, Sauzieres JP, Neufeld HN, et al.  $\alpha$ -Tocopherol: effect on plasma lipoproteins in hypercholesterolemic patients. *Isr J Med Sci.* 1987; 23: 869-872.
۲۳. طیبی ه، مقایسه اثرات مکمل های ویتامین E، اسید نیکوتینیک و توام آنها بر روی چربی ها و آپولیپوپروتئین های خون بیماران همودیالیزی هیپرتری گلیسریدمیک. پایان نامه دکتری (Ph.D) علوم تغذیه، تهران: دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی در تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، سال ۱۳۸۱.
24. Farvid MS, Siassi F, Jalali M, Hosseini M, Saadat N. The impact of vitamin and /or mineral supplementation on lipid profiles in type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 65: 21-28.
  25. Jacques PF. Effects of vitamin C on high-density lipoprotein cholesterol and blood pressure. *J Am Coll Nutr* 1992 ; 11: 139-144.
  26. Munoz JA, Garcia C, Quilez JL, Andugar MA. Effect of vitamin C on lipoproteins in healthy adults. *Ann Med Interne (Paris)* 1994; 145: 13-19.
  27. Child DF, Hudson PR, Jones H, Davies GK, De P, Mukherjee S, et al. The effect of oral folic acid on glutathione, glycaemia and lipids Type 2 diabetes. *Diabetes Nutr Metab* 2004 ;17: 95-102.
۲۸. جابری ا، بررسی اثر دریافت مکمل های فولیک B6 اسید و ویتامین بر میزان هموسیستئین خون در بیماران ۳۵-۶۵ ساله مبتلا به بیماریهای ایسکمیک قلب با هموسیستئین خون بالا، تهران ۸۱-۱۳۸۰. پایان نامه کارشناسی ارشد علوم بهداشتی در تغذیه ، تهران: دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم بهداشتی- درمانی تهران، سال ۱۳۸۲- پزشکی و خدمات ۱۳۸۱

