

مقایسه اثرات مکملهای ویتامینی و مینرالی بر میکروآلبومینوری و دفع ادراری ان-استیل بتا-دی-گلوکز آمینیداز در افراد دیابتی نوع ۲

دکتر مریم السادات فروید^x، دکتر محمود جلالی^{xx}، دکتر فریدون سیاسی^{xx}، مریم چمری^{xx}

^x گروه تغذیه جامعه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
^{xx} گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

چکیده

سابقه و هدف: مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات مکملهای ویتامینهای C و E و مینرالهای منیزیم و روی بر نمایه‌های نفروپاتی در افراد دیابتی نوع ۲ در دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شد.

روش بررسی: این پژوهش به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور بر روی ۶۹ بیمار دیابتی نوع ۲ تحت درمان با رژیم غذایی و یا قرصهای کاهنده قند خون انجام شد. افراد بطور تصادفی به چهار گروه مینرال (n=۱۶): دریافت روزانه ۲۰۰ میلی گرم منیزیم (MgO) و ۳۰ میلی گرم روی (ZnSO₄)؛ گروه ویتامین (n=۱۸): دریافت روزانه ۲۰۰ میلی گرم ویتامین C و ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E؛ گروه توام ویتامین و مینرال (n=۱۷): دریافت روزانه دو کپسول حاوی ترکیب هر دو مکمل ویتامینی و مینرالی و گروه شاهد (n=۱۸): دریافت دارونما تقسیم گردیدند و کلیه افراد به مدت ۳ ماه مکملها را دریافت کردند. در شروع مطالعه و پس از سه ماه مداخله، میزان سرمی مالون دی‌آلدئید و سطح ادراری میکروآلبومین، پروتئین و فعالیت آنزیم ان-استیل بتا-دی-گلوکز آمینیداز (βNAG) اندازه‌گیری شد. میزان فشارخون سیستمیک و دیاستولیک با استفاده از فشارسنج جیوه‌ای اندازه‌گیری گردید.

یافته‌ها: تغییر معنی‌داری در نمایه‌های آنتروپومتریک، مواد غذایی دریافتی از رژیم غذایی و داروهای مصرفی افراد طی مطالعه ملاحظه نشد. کاهش معنی‌داری در میزان دفع ادراری میکروآلبومین در گروههای ویتامین و توام ویتامین و مینرال مشاهده گردید. همچنین تغییر معنی‌داری در فعالیت آنزیم βNAG و پروتئین ادرار در هیچ یک از گروههای چهارگانه مورد بررسی مشاهده نشد. میانگین مالون دی‌آلدئید پلاسما در گروههای مینرال و توام ویتامین و مینرال بطور معنی‌داری کاهش یافت. در گروه توام ویتامین و مینرال، کاهش معنی‌داری در میزان فشارخون سیستمیک، دیاستولیک و میانگین آن مشاهده گردید ($p < 0.05$).

نتیجه‌گیری: از آنجا که دریافت توام ویتامین‌ها و مینرال‌ها سبب کاهش دفع ادراری میکروآلبومین در افراد دیابتی نوع ۲ گردید به نظر می‌رسد دریافت روزانه این مکملها در این بیماران در پیشگیری و درمان نفروپاتی سودمند باشد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، ویتامین‌ها، مینرال‌ها، میکروآلبومینوری، ان-استیل بتا-دی-گلوکز آمینیداز.

مقدمه

نفروپاتی دیابتی از جمله عوارض جدی دیابت می‌باشد و یکی از علل اصلی ناتوانی و مرگ و میر در این بیماران به حساب

می‌آید (۱، ۲). نتایج مطالعات بر روی مدل‌های حیوانی و در انسان نشان داده است که دیابت همراه با افزایش استرس اکسیداتیو (۳-۵) و کاهش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد (۶). بر اساس فرضیه‌های موجود، استرس اکسیداتیو نقش مهمی در بروز و پیشرفت عوارض دیابت از جمله نفروپاتی دارا است (۶). هیپرگلیسمی مزمن سبب افزایش استرس اکسیداتیو و تغییر ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها و لیپیدها به علت

آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی،

گروه تغذیه جامعه، دکتر مریم السادات فروید (email: farvidm@hotmail.com)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۴/۳/۱۶

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸۵/۱/۲۰

گلیکوزیلاسیون و پراکسیداسیون می‌شود (۶). این محصولات تغییر یافته می‌توانند علت تغییرات ساختمانی و عملکردی کلیه در افراد دیابتی باشند (۷-۴). به همین دلیل توجه زیادی به نقش آنتی‌اکسیدانها در پیشگیری و درمان نفروپاتی دیابت شده است. مطالعات بالینی نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدانها بطور غیرمستقیم به پیشگیری یا بهبود نفروپاتی دیابت کمک می‌نماید (۸-۱۰). از طرف دیگر، در سایر مطالعات ارتباط میان کمبود منیزیم و میکروآلبومینوری نشان داده شده است (۱۱).

از میزان دفع ادراری میکروآلبومین، به عنوان نمایه استاندارد شناخته شده برای تشخیص زودرس نفروپاتی، استفاده می‌گردد (۱۲، ۱۳). β NAG فراوانترین آنزیم گلیکوزیدی لیزوزومی است که مشتق از گلیکوپروتئین‌ها و گلیکوزآمینوگلیکان‌ها می‌باشد و عمدتاً در توبول‌های پروگزیمال کلیه قرار دارد (۱۴). وزن ماکرومولکول β NAG حدود ۱۴۰۰۰ دالتون است که مانع از عبور β NAG سرمی از گلومرول‌ها، حتی در موقع افزایش نفوذپذیری گلومرولی، می‌شود. این خاصیت سبب می‌شود که بتوان از افزایش فعالیت β NAG در ادرار بعنوان یک نماگر حساس آسیب توبولار کلیوی در بیماریهای کلیوی استفاده کرد (۱۵). رادیکال‌های آزاد باعث فرایند پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند. مالون‌دی‌آلدئید، یکی از محصولات نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع با چند باند دوگانه در سلول است. افزایش رادیکال‌های آزاد باعث افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. از این رو، میزان مالون‌دی‌آلدئید معرف شاخص استرس اکسیداتیو و وضعیت آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن به حساب می‌آید (۱۶).

با توجه به اثر هم‌افزایی ویتامین E با ویتامین C (۱۷)، ویتامین E با منیزیم (۱۸، ۱۹) و ویتامین E با روی (۲۰، ۲۱) به نظر می‌رسد ترکیب این ریزمغذیها اثرات بهتری نسبت به تجویز تنهای آنها داشته باشد و نیز با توجه به اینکه اثر ریزمغذیها در کنترل عوارض دیابت هنوز مورد بحث است و تاکنون مطالعه‌ای اثر همزمان این ریزمغذیها را مورد بررسی قرار نداده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات مکملهای ویتامین C و E، منیزیم و روی، و ترکیب آنها بر میکروآلبومین و فعالیت β NAG در دیابت نوع ۲ انجام گرفت.

مواد و روشها

پژوهش حاضر با روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور با مراجعه مستمر به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی

تهران انجام شد. برای انتخاب نمونه‌های مورد نظر، پرونده بیماران دیابتی در انستیتو غدد داخلی و متابولیسم بررسی شد. بیماران دیابتی نوع ۲ که دارای پرونده فعال بودند پس از توجیه و کسب موافقت برای همکاری انتخاب شدند. مشخصات شامل سن، جنس، نمایه توده بدن ($\text{Body mass index=BMI}$)، استعمال دخانیات، طول مدت ابتلا به دیابت، داروهای مصرفی و سابقه ابتلا به بیماریهای مختلف در آنها بررسی و ثبت شد. بیمارانی که به بیماریهای کبدی، کلیوی، هیپو یا هیپرتیروئیدی، انفارکتوس میوکارد و یا اختلالات خونی مبتلا بوده یا از داروهای حاوی استروژن، پروژسترون، مدرها، داروهای کاهنده فشارخون، داروهای کاهنده چربی خون، ویتامین‌های C یا E، مولتی ویتامین و مینرال استفاده می‌کردند یا در سه ماه گذشته میزان داروی کاهنده قند خون را تغییر داده بودند، از مطالعه حذف شدند.

سایر افراد دیابتی در صورت تمایل وارد مطالعه شدند. ۷۶ فرد مورد بررسی در این پژوهش بر اساس جنس گروه‌بندی شده و به طور تصادفی در یکی از چهار گروه زیر قرار گرفتند:

گروه مینرال ($n=16, M$): روزانه دو کپسول حاوی ۱۰۰ میلی گرم منیزیم (Mg) و ۱۵ میلی گرم روی (ZnSO_4) مصرف کردند.

گروه ویتامین ($n=18, V$): روزانه دو کپسول حاوی ۱۰۰ میلی گرم ویتامین C و ۵۰ واحد بین‌المللی ویتامین E مصرف کردند.

گروه ویتامین و مینرال ($n=17, MV$): روزانه دو کپسول حاوی ترکیب هر دو مکمل ویتامینی و مینرالی مصرف کردند. گروه شاهد ($n=18, P$): دارو به مدت ۳ ماه دریافت کردند.

از همه بیماران در ابتدا و ماه سوم مطالعه، پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتا بودن و قبل از مصرف داروهای کاهنده قندخون بین ساعت ۸ تا ۱۰ بامداد، ۲۰ میلی‌لیتر خون وریدی و نمونه ادرار صبحگاهی گرفته شد و نمونه‌های سرم و ادرار تا زمان آزمایش در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

میکروآلبومین ادرار با روش ایمونوتورنیدیمتری (immunoturnidimetric) توسط اتوآنالایزر Selectra و با استفاده از کیت شرکت Randox تعیین گردید. پروتئین تام ادرار با روش Lowry (۱۷) و میزان کراتینین ادرار با روش Jaffe (۲۳) اندازه‌گیری شد.

فعالیت β NAG، با استفاده از سوبسترای β NAG (پارا نیتروفنیل ۲-استیل-۲-دزوکسی-D- β -گلوکز آمینید) اندازه‌گیری شد (۲۴).

گروه مورد بررسی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ندارد. تغییر معنی‌داری در میزان مصرف ریزمغذیها و داروهای مصرفی در طی سه ماه مداخله در هیچ یک از گروههای مورد بررسی ملاحظه نگردید.

جدول ۱- ویژگیهای بیماران دیابتی مورد مطالعه پیش از مداخله

گروه				
متغیر	شاهد (P)	مینرال (M)	ویتامین (V)	ویتامین و مینرال (MV)
تعداد افراد	۱۸	۱۶	۱۸	۱۷
جنس	۹ زن	۹ مرد	۱۰ زن	۸ مرد
سن (سال)	۴۹/۶±۹/۲	۵۱/۱±۷/۵	۴۹/۹±۹/۲	۵۰/۶±۹/۷
مدت ابتلا به دیابت (سال)	۸/۴±۴/۴	۹/۴±۶/۲	۹/۲±۵/۴	۷/۹±۴/۷
نمایه توده بدن (kg/m ²)	۲۷/۶±۳/۶	۲۸±۴/۷	۲۷/۵±۴/۷	۲۸/۸±۳/۹
مصرف مثبت سیگار منفی	۳ مثبت	۲ مثبت	۳ مثبت	۲ مثبت
	۱۵ منفی	۱۴ منفی	۱۵ منفی	۱۵ منفی

* اعداد داخل پرانتز معرف دامنه هستند

میزان سرمی و ادراری ویتامین‌ها و مینرال‌ها و میزان قند خون ناشتا، لیپیدها و لیپوپروتئینهای سرم در گروههای مورد بررسی در جدول شماره ۲ ارائه شده است. تفاوت معنی‌داری میان گروهها از نظر سطح سرمی و ادراری این ریزمغذیها در شروع مطالعه با آزمون ANOVA مشاهده نشد. اما پس از ۳ ماه مداخله میزان ویتامین C، پلاسما و ویتامین E سرم در گروههای ویتامین و توام ویتامین و مینرال و میزان سرمی و ادراری روی در گروههای مینرال و توام ویتامین و مینرال بطور معنی‌داری افزایش یافت. مکمل توام ویتامین و مینرال سبب کاهش معنی‌دار در قند خون ناشتا و افزایش معنی‌دار در HDL-C و آپولیپوپروتئین A₁ شد. در سایر گروهها تغییر معنی‌داری در این فراسنجهها مشاهده نگردید. میزان فشار خون سیستولیک و دیاستولیک در گروه توام ویتامین و مینرال بطور معنی‌داری کاهش یافت. تغییر معنی‌داری در سایر گروههای مورد مطالعه ملاحظه نگردید (جدول ۲).

میانگین و دامنه تغییرات نسبتهای میکروآلبومینوری و فعالیت آنزیم βNAG به کراتینین و میانگین و انحراف معیار نسبت پروتئین ادرار به کراتینین در جدول شماره ۳ ارائه گردیده است. با توجه به عدم توزیع نرمال میکروآلبومین و فعالیت

مدت زمان نگهداری نمونه‌های ادرار در ۷۰- درجه سانتیگراد تا زمان اندازه‌گیری فعالیت آنزیم βNAG حداکثر یک‌ماه بود. تمام نتایج ادراری بر اساس گرم کراتینین دفعی گزارش شد. ویتامین‌ها و لیپیدهای سرم اندازه‌گیری گردید (۲۵). قند خون به روش گلوکز اکسیداز و با کیت شرکت MAN اندازه‌گیری شد. آپولیپوپروتئین A₁ و B سرم با استفاده از کیت شرکت Diagnostic آلمان و با اتوآنالایزر Selectra تعیین گردید. میزان منیزیم و روی سرم و ادرار به ترتیب با کیت شرکت پارس آزمون و کیت Randox اندازه‌گیری شدند. میزان سرمی مالون‌دی‌آلدئید با روش کلریمتری اندازه‌گیری شد (۲۶). CV (Coefficient of variation) تمام آزمایشات انجام شده کمتر از ۵ درصد بود.

فشارخون سیستولیک (Systolic blood pressure=SBP) و دیاستولیک (Diastolic blood pressure=DBP) با استفاده از فشارسنج جیوه‌ای از بازوی راست، پس از ۵ دقیقه استراحت، در وضعیت نشسته و با دقت ۵ mmHg، دو مرتبه اندازه‌گیری شد.

برای مقایسه کلی میانگینها در بین گروههای مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. در صورتی که آزمون ANOVA معنی‌دار بود، برای مقایسه دو به دو گروههای مختلف از آزمون Tukey استفاده شد. از آزمون آنالیز کوواریانس (ANCOVA) برای تعدیل تغییرات درون گروهی با میزان اولیه آنها و با تغییرات مشاهده شده در گروه شاهد استفاده شد. آزمون دقیق فیشر برای مقایسه گروههای مختلف از نظر متغیرهای کیفی جنس و استعمال دخانیات به کار رفت.

یافته‌ها

از ۷۶ فرد مورد بررسی، ۵ نفر به دلایل مختلف و ۲ نفر به دلیل تغییر داروی مصرفی در طی مطالعه حذف شدند. از ۶۹ بیمار مشارکت‌کننده در این پژوهش، ۴ بیمار قند خون را تنها با رژیم کنترل می‌کردند و ۶۵ بیمار علاوه بر رژیم از قرصهای کاهنده قندخون (گلی بنکلامید و/یا مت‌فورمین) استفاده می‌نمودند. ۳۶ زن (۵۲٪) و ۳۳ مرد (۴۸٪) با میانگین سنی ۵۰/۳±۸/۸ سال (۶۹-۳۰ سال) در مطالعه شرکت کردند. ۱۹ نفر از بیماران دارای نمایه توده بدن کمتر از ۲۵، ۲۹ نفر دارای نمایه توده بدن بین ۲۵ تا ۳۰ و ۲۱ نفر دارای نمایه توده بدنی بیشتر از ۳۰ کیلوگرم بر مترمربع بودند. خصوصیات بیماران در جدول شماره ۱ ارائه شده است. توزیع بیماران در هر چهار

جدول ۲- میانگین و انحراف معیار ویتامین C پلاسما، ویتامین E سرم، سطح سرمی و ادراری منیزیم و روی، قند خون ناشتا، لیپیدها و لیپوپروتئینهای سرم و فشارخون سیستولی و دیاستولی در بیماران دیابتی نوع ۲ پیش و پس از ۳ ماه مداخله

P value (ANCOVA)	گروه				فراسنج
	ویتامین+مینرال ل (n=۱۷) (MV)	ویتامین (V) (n=۱۸)	مینرال (M) (n=۱۶)	شاهد (P) (n=۱۸)	
<۰/۰۰۰۱	۱/۱۲±۰/۴۰ †۱/۴۵±۰/۲۰	۱/۱۳±۰/۲۷ †۱/۳۵±۰/۲۴	۱/۱۰±۰/۳۳ ۱/۰۲±۰/۳۲	*۱/۰۴±۰/۳۰ ۱/۱۰±۰/۳۳	ویتامین C پلاسما (mg/dl)
<۰/۰۰۰۱	۲۴/۰±۴/۷ ‡۳۸/۱±۱۰/۷	۲۵/۲±۶/۹ ‡۳۶/۹±۱۰/۷	۲۲/۶±۵/۷۲ ۲۴۲/±۵/۷	۲۰/۸±۶/۱ ۲۰/۴±۴/۶	ویتامین E سرم (µg/ml)
NS	۱/۸۵±۰/۲۵ ۱/۹۶±۰/۲۱	۱/۸۷±۰/۲۴ ۱/۸۶±۰/۴	۱/۸۲±۰/۲۴ ۱/۸۶±۰/۲۷	۱/۷۷±۰/۳۲ ۱/۷۹±۰/۳۴	منیزیم سرم (mg/dl)
<۰/۰۰۰۱	۹۶±۹ ‡۱۱۵±۱۹	۹۸±۱۳ ۹۶±۱۳	۹۹±۲۴ ‡۱۱۴±۲۳	۱۰۲±۲۵ ۹۷±۱۳	روی سرم (µg/dl)
NS	۵۸/۶±۲۰/۴ ۶۶/۴±۲۹/۵	۵۷/۰±۱۸/۶ ۵۵/۵±۲۴/۶	۵۷/۱±۱۵/۳ ۶۶/۰±۲۴/۵	۶۰/۲±۳۶/۱ ۵۹/۸±۱۶	منیزیم ادرار (mg/g Cr)
۰/۰۰۰۲	۹۰۶±۲۷۹ ‡۱۳۰۵±۴۵۶	۱۰۶۶±۴۱۸ ۱۰۷۳±۴۰۱	۹۰۸±۴۵۲ ‡۱۵۸۴±۸۸۹	۹۴۲±۳۷۴ ۸۲۴±۲۵۳	روی ادرار (µg/g Cr)
۰/۰۳۵	۱۷۷±۴۱ †۱۶۵±۴۶	۱۹۸±۴۸ ۱۸۱±۴۲	۱۷۳±۵۱ ۱۷۶±۴۶	۱۶۴±۵۱ ۴۹±۱۷۵	قند خون ناشتا (mg/dl)
NS	۲۰۳±۳۱ ۲۰۳±۳۷	۱۸۸±۳۴ ۱۸۸±۳۶	۱۸۱±۳۳ ۱۸۳±۳۱	۱۷۶±۳۸ ۱۸۰±۲۸	کلسترول تام (mg/dl)
NS	۱۹۶±۸۲ ۲۰۰±۱۰۵	۲۱۶±۱۳۵ ۱۹۰±۸۷	۱۶۷±۸۴ ۱۹۲±۱۰۶	۱۶۲±۱۱۰ ۱۵۴±۶۶	تری گلیسرید (mg/dl)
۰/۰۰۹	۴۰/۶±۱۰/۸ ‡۵۰/۴±۱۹/۳	۳۵/۸±۷/۰ ۴۱/۸±۱۵/۵	۴۰/۳±۱۵/۵ ۳۸/۶±۱۱/۱	۳۹/۰±۱۱/۸ ۳۵/۳±۷/۳	HDL-C (mg/dl)
NS	۱۲۸±۳۴ ۱۲۴±۳۱	۱۲۲±۳۴ ۱۲۱±۴۳	۱۰۷±۲۳ ۱۰۵±۲۶	۱۰۸±۳۲ ۱۱۴±۲۳	LDL-C (mg/dl)
۰/۰۱۷	۱۵۶±۲۴ ‡۱۷۰±۳۴	۱۴۵±۲۵ ۱۴۶±۲۰	۱۴۲±۲۷ ۱۴۶±۲۱	۱۴۵±۲۲ ۱۴۳±۲۴	آپولیپوپروتئین A1 (mg/dl)
NS	۱۵۵±۲۴ ۱۵۷±۲۲	۱۳۵±۳۰ ۱۳۵±۲۶	۱۳۷±۳۶ ۱۴۳±۳۸	۱۲۸±۲۹ ۱۴۰±۴۰	آپولیپوپروتئین B (mg/dl)
۰/۰۰۸	۱۳۰±۱۹ †۱۲۲±۱۶	۱۲۵±۱۵ ۱۲۲±۱۶	۱۲۲±۱۵ ۱۱۹±۱۲	۱۲۷±۱۶ ۱۲۸±۱۸	فشارخون سیستولی (mmHg)
۰/۰۱۷	۸۳±۱۱ †۷۷±۹	۸۱±۹ ۷۹±۱۲	۷۸±۱۲ ۷۸±۱۰	۸۲±۹ ۸۴±۱۱	فشارخون دیاستولی (mmHg)

* در هر خانه ردیف بالا معرف پیش از مداخله و ردیف پایین پس از مداخله است.
†p<0.05, ‡p<0.01

مشاهده شده در بین گروهها از نظر آماری معنی‌دار شد (p=۰/۰۱۸). بطوری‌که میزان تغییرات مشاهده شده در گروههای ویتامین و توام ویتامین و مینرال در مقایسه با تغییرات مشاهده شده در گروه دارونما به لحاظ آماری معنی‌دار بود (به ترتیب: p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱). تفاوت آماری معنی‌داری میان چهار گروه مورد بررسی از نظر میزان فعالیت آنزیم βNAG و میزان پروتئین ادرار پیش و پس

آنزیم βNAG در افراد مورد بررسی از لگاریتم این شاخصها در بررسی‌های آماری استفاده به عمل آمد. در ابتدای مطالعه، تفاوت آماری معنی‌داری در لگاریتم میکروآلبومینوری در بین گروههای مورد بررسی مشاهده نشد (NS). پس از ۳ ماه دریافت مکمل، میزان میکروآلبومینوری در گروه ویتامین به میزان ۳۹٪ و در گروه توام ویتامین و مینرال به میزان ۶۳٪ کاهش یافت. با استفاده از آزمون ANCOVA تغییرات

جدول ۳- میزان نمایه‌های نفروپاتی و مالون‌دی‌آلدئید در افراد دیابتی نوع ۲ پیش و پس از ۳ ماه مداخله

فراسنج	شاهد (n=۱۸)	مینرال (n=۱۶)	ویتامین (n=۱۸)	ویتامین+مید نرال (n=۱۷)	P value	تغییرات با دریافت فقط مینرال (n=۳۳)	تغییرات با دریافت فقط ویتامین (n=۳۵)
میکروآلبومینوری (mg/g Cr)	۳۰/۷ (۸/۷- ۵۲/۷)*	۳۰/۴ (۱۲/۳- ۴۸/۴)	۳۵/۶ (۶/۲- ۶۴/۹)	۲۹/۳ (۳/۲- ۱۰/۸) -۱۷/۳) ‡ (۴/۲)	۰/۰۱۸	۱۸/۵±۱۱۰/۰ (NS)	۱۰۶/۶±۲۶/۰ (p=۰/۰۲)
βNAG (U/g Cr)	۱۳/۷ (۸/۱- ۱۹/۳)	۱۸/۳ (۱۲/۸- ۲۳/۸)	۱۶/۹ (۱۳/۱- ۲۰/۷)	۱۶/۰ (۱۱/۱- ۲۰/۹)	NS	۴/۲±۱۲/۷ (NS)	۱/۸±۱۰/۲ (NS)
پروتئین ادرار (g/g Cr)	۱/۰۳۸ (۱/۰۳- ۱/۰۴۱)	۰/۹۶±۲/۳۷ (۰/۷۴±۲/۰۹- ۰/۱۲±۲/۰۹)	۱/۲۰±۲/۰۶ (۰/۷۹±۲/۱۱- ۰/۲۹±۲/۰۶)	۱/۰۵±۲/۶۱ (۰/۷۲±۲/۲۱- ۰/۲۴±۲/۶۱)	NS	(-۰/۲۴)± ۱/۰۱ (NS)	(-۰/۰۷)±۰/۹۵ (NS)
مالون‌دی‌آلدئید	۱/۳۲±۰/۳۷ (۱/۰۳- ۱/۶۱)	۱/۳۴±۰/۴۴ (۰/۷۴- ۲/۰۳)	۱/۴۱±۰/۶۰ (۰/۲۹- ۲/۰۳)	۱/۴۳±۰/۶۱ (۰/۲۹- ۲/۰۳)	۰/۰۴۲	(-۰/۱۱)±۰/۳۷ (NS)	(-۰/۰۸)±۰/۳۶ (NS)

از آنالیز ANCOVA برای حذف اثر تغییر متغیرهای مداخله‌گر فشارخون و مالون‌دی‌آلدئید بر تغییرات میکروآلبومینوری، استفاده به عمل آمد. تغییری در سطح معنی‌داری میکروآلبومین ادرار پس از حذف اثر فشارخون یا مالون‌دی‌آلدئید مشاهده نشد.

بحث

نفروپاتی دیابتی از عوارض جدی دیابت می‌باشد و از جمله علل اصلی ناتوانی و مرگ و میر در این بیماران بحساب می‌آید (۲،۱). بر اساس گزارشهای سازمان جهانی بهداشت، میزان شیوع نفروپاتی پس از ۱۵ سال ابتلا به دیابت در مردان ۱۷/۷٪ تا ۵۶/۶٪ و در زنان ۱۱/۹٪ تا ۷۱٪ است (۲۷). نتایج مطالعات انجام شده بر روی مدل‌های حیوانی و نیز انسان نشانگر افزایش میزان استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی می‌باشد (۳-۵). بر اساس فرضیات موجود، استرس اکسیداتیو می‌تواند نقش مهمی در ایجاد عوارض دیررس دیابت از جمله نفروپاتی داشته باشد (۶). بنابراین، به نظر می‌رسد آنتی‌اکسیدانها بتوانند نقش مهمی در کاهش نفروپاتی ایفا نمایند.

در پژوهش حاضر، مصرف مکمل ویتامین و توام ویتامین و مینرال توانست سطح میکروآلبومینوری را به ترتیب به میزان ۳۹ و ۶۳ درصد کاهش دهد ولی دریافت مکمل مینرال و یا دارونما تاثیر معنی‌داری بر میزان این نمایه نداشت (جدول شماره ۳). در مقابل، تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم βNAG ادرار در هیچ یک از گروههای مورد بررسی مشاهده نگردید (جدول شماره ۳).

از مداخله با آزمون ANOVA دیده نشد (NS). همچنین تغییرات درون گروهی مشاهده شده پس از ۳ ماه دریافت مکمل در گروه دارونما به لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در سایر گروههای مورد بررسی نیز تغییر معنی‌داری در مقایسه با پیش از مداخله مشاهده نشد (NS).

از آنالیز کوواریانس جهت تعیین نقش ویتامین و یا مینرال به تنهایی بر کاهش میکروآلبومین ادرار استفاده گردید. چنانچه در جدول شماره ۳ مشاهده می‌شود کاهش میانگین میزان ادراری میکروآلبومین بیشتر تحت تاثیر دریافت ویتامین است تا دریافت مینرال (p=۰/۰۲).

میانگین و انحراف معیار مالون‌دی‌آلدئید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) در گروههای مورد بررسی پیش و پس از مداخله در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. اختلاف آماری معنی‌داری بین گروههای مورد مطالعه پیش و پس از مداخله با استفاده از آنالیز واریانس (ANOVA) وجود نداشت. پس از ۳ ماه مداخله با استفاده از آنالیز کوواریانس (ANCOVA) تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده شد (p=۰/۰۰۴۲). بطوریکه میزان تغییرات مالون دی‌آلدئید در گروه‌های مینرال و توام ویتامین و مینرال بیش از گروه دارونما بود (به ترتیب $p < 0.05$ و $p < 0.01$). اما تغییرات مشاهده شده در گروه ویتامین در مقایسه با گروه دارونما با آزمون کوواریانس به لحاظ آماری معنی‌دار نشد ($p > 0.05$). برای تعیین اینکه ویتامین و یا مینرال کدامیک دارای اثر بیشتری بر کاهش میانگین مالون دی‌آلدئید است، آنالیز کوواریانس نشان داد که دریافت ویتامین و مینرال می‌تواند اثر معنی‌دار در کاهش میانگین این شاخص داشته باشد (به ترتیب: $p = 0.05$ و $p = 0.04$).

مکانیسم‌های متعددی برای چگونگی ایجاد عوارض نفروپاتی در افراد دیابتی مطرح شده‌اند که تمامی آنها بر پایه هیپرگلیسمی مزمن می‌باشد. گلوکز به تنهایی اثر سوئی ندارد. گلوکز در حضور آنزیم آلدوز ردوکتاز به سوربیتول تبدیل می‌شود. افزایش میزان سوربیتول داخل سلولی دارای اهمیت است. کلیه‌ها دارای سلول‌هایی هستند که حاوی آنزیم آلدوز ردوکتاز می‌باشند. افزایش میزان گلوکز سرم احتمال تولید سوربیتول را در این محلها افزایش می‌دهد. افزایش سوربیتول سبب به هم خوردن توازن آب در این سلولها شده و سبب اختلال در تنظیم اسمولاریته و در نتیجه از بین رفتن عملکرد طبیعی سلول و اختلال در عملکرد اندام می‌شود. ویتامین C با نقش بازدارنده خود بر آنزیم آلدوز ردوکتاز باعث کاهش تولید سوربیتول و کاهش آسیب سلولی می‌شود (۲۸).

هیپرگلیسمی مزمن سبب افزایش استرس اکسیداتیو و تغییر در ساختمان و عملکرد پروتئین‌ها و لیپیدها و بلت گلیکوزیلاسیون و پرواکسیداسیون می‌شود (۲۹). این محصولات تغییر شکل یافته می‌توانند منجر به اختلال مورفولوژیک و عملکردی در کلیه بیماران دیابتی گردند (۳۰). لذا ویتامین‌های C و E با نقش آنتی‌اکسیدانی خود می‌توانند سبب کاهش استرس اکسیداتیو و پیشگیری و یا درمان آسیب کلیوی شوند. کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید در گروه توام ویتامین و مینرال می‌تواند تاییدکننده این مکانیسم باشد. بر اساس مطالعات پیشین و مقایسه آن با پژوهش فعلی می‌توان به این نتیجه رسید که مصرف توام ویتامین C و E دارای اثر بیشتری از دریافت هر یک از این ویتامین‌ها به تنهایی است و برای مشاهده اثر این ویتامین‌ها به تنهایی به مقادیر زیادی از آنها نیاز است به طوری که در مطالعات موجود تجویز روزانه ۱۸۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E به مدت ۴ ماه سبب نرمال کردن هیپرفیلتراسیون کلیوی در دیابت نوع ۱ شد (۳۱) و دریافت ۱۰۰۰ میلی‌گرم ویتامین C نیز برای ۹ ماه باعث کاهش معنی‌داری در میزان دفع ادراری میکروآلبومین در مبتلایان به دیابت نوع ۱ و ۲ گردید (۳۲). اما دریافت مقادیر کم (۴۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E) اثری بر نمایه‌های نفروپاتی نداشت (۳۳).

فشارخون مستقل از دیابت و از طریق مکانیسم افزایش فشار هیدرواستاتیک مویرگی گلومرول ممکن است سبب آلبومینوری شود (۳۴). در پژوهش حاضر، در گروه توام ویتامین و مینرال فشارخون بطور معنی‌داری کاهش یافت که می‌تواند یکی از علل کاهش میکروآلبومینوری باشد.

بر اساس مطالعات تجربی، لیپوپروتئین‌های آتروژنیک، از جمله LDL-C، باعث تغییرات پاتوفیزیولوژیک کلیه و بروز آسیبهای گلومرولی و در نهایت کاهش عملکرد کلیه می‌شوند و هیپرکلسترولمی آسیب گلومرولی را در بیماریهای کلیه تسریع می‌کند (۳۵). مطالعات بالینی نیز حاکی از کاهش سریعتر در عملکرد کلیه در بیماران دیابتی مبتلا به هیپرلیپیدمی می‌باشد. کاهش لیپیدهای خون نقش مهمی در پیشگیری از عوارض کلیوی دارد (۳۶). در مطالعه حاضر در هیچ یک از گروههای مورد مطالعه تغییر معنی‌داری در میزان کلسترول، تری‌گلیسرید و یا LDL-C مشاهده نگردید. لذا اثر این ریزمغذیها بر کاهش میکروآلبومینوری مستقل از اثر آنها بر لیپیدهای خون می‌باشد.

بطور خلاصه، نتایج این تحقیق نشان داد که تجویز مقادیر کم ریزمغذیها شامل ویتامین C، E، منیزیم و روی دارای اثرات سودمند در کاهش میکروآلبومینوری در افراد دیابتی نوع ۲ می‌باشد. با انجام تحقیقات بیشتر و در صورت تایید این نتایج، می‌توان به راه کار درمانی جدید برای پیشگیری و یا درمان میکروآلبومینوری در این بیماران دست یافت.

تشکر و قدردانی

یافته‌های این پژوهش حاصل انجام طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی تهران و همکاری همه بیماران شرکت‌کننده در آن است. نگارندگان بدین وسیله از پشتیبانی مالی و اجرایی این دانشگاه، بیماران و همه عزیزانی که به نحوی در انجام این پروژه مشارکت داشته‌اند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

REFERENCES

1. Rosen P, Toeller M. Vitamin E in diabetes. Increased oxidative stress and its prevention as a strategy to prevent vascular complications? *Int J Vitam Nutr Res.* 1999;69:206-12.
2. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Shimada N, Ohmuro H, et al. Effects of taurine and vitamin E on microalbuminuria, plasma metalloproteinase-9, and serum type IV collagen concentrations in patients with diabetic nephropathy. *Nephron* 1999;83:361-2.
3. Feillet-Coudray C, Rock E, Coudray C, Grzelkowska K, Azais-Braesco V, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. *Clin Chim Acta* 1999;284:31-43.
4. Baynes J, Thorpe S. The role of oxidative stress in diabetic complications: A new perspective on an old paradigm. *Diabetes* 1999;48:1-19.
5. Guigliano DA, Ceriell O, Paolisso G. Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care* 1996;19:257-67.
6. Sundaram RK, Bhaskar A, Vijayalingam S, Viswanathan M, Mohan R, Shanmugasundaram KR. Antioxidant status and lipid peroxidation in type II diabetes mellitus with and without complications. *Clin Sci (Lond)* 1996;90:255-60.
7. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Antioxidant defense system in diabetic kidney: a time course study. *Life Sci* 1997;60:667-9.
8. Gaede P, Poulsen HE, Parving HH, Pedersen O. Double-blind, randomized study of the effect of combined treatment with vitamin C and E on albuminuria in Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2001;18:756-60.
9. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, Aiello LM, Schlossman DK, et al. High-dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1245-51.
10. McAuliffe AV, Brooks BA, Fisher EJ, Molyneaux LM, Yue DK. Administration of ascorbic acid and an aldose reductase inhibitor (tolrestat) in diabetes: effect on urinary albumin excretion. *Nephron* 1998;80:277-84.
11. Corsonello A, Ientile R, Buemi M, Cucinotta D, Mauro VN, et al. Serum ionized magnesium levels in type 2 diabetic patients with microalbuminuria or clinical proteinuria. *Am J Nephrol* 2000;20:187-92.
12. Hong CY, Chia KS, Ling SL. Urinary protein excretion in type 2 diabetes with complications. *J Diabet Complication* 2000;14:259-65.
13. Banu N, Hara H, Okamura M, Egusa G, Yamakido M. Urinary excretion of type IV collagen and laminin in the evaluation of nephropathy in NIDDM: comparison with urinary albumin and markers of tubular dysfunction and/or damage. *Diabetes Res Clin Pract* 1995;29:57-67.
14. Agirbasli M, rashakrishnamurthy B, Jiang X, Bao W, Berenson GS. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase changes in relation to age, sex, race, and diastolic and systolic pressure in a young adult Biracial population. The Bogalusa Heart Study. *Am J Hypertens* 1996;9:157-61.
15. Hsiao PH, Tsai WS, Tsai WY, Lee JS, Tsau Y, Chen CH. Urinary N-acetyl-beta-D-glucosaminidase activity in children with insulin-dependent diabetes mellitus. *Am J Nephrol* 1996;16:300-3.
16. Gawel S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek* 2004;57(9-10):453-5.
17. Hamilton IMJ, Gilmore WS, Benzie IFF, Mulholland CW, Strain JJ. Interactions between vitamin C and E in human subjects. *Br J Nutr* 2000;84:261-7.
18. Zago MP, Oteiza PI. The antioxidant properties of zinc: interactions with iron and antioxidants. *Free Radic Biol Med* 2001;31:266-74.
19. Meydani SN, Meydani M, Rall LC, Morrow F, Blumberg JB. Assessment of the safety of high-dose, short-term supplementation with vitamin E in healthy older adults. *Am J Clin Nutr* 1994;60:704-9.
20. Barbagallo M, Dominguez LJ, Tagliamonte MR, Resnick LM, Paolisso G. Effects of vitamin E and glutathione on glucose metabolism, role of magnesium. *Hypertension* 1999;34(part2):1002-6.
21. Paolisso G, Tagliamonte MR, Barbieri M, Zito GA, Gambardella A, et al. Chronic vitamin E administration improves brachial reactivity and increases intracellular magnesium concentration in type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 2000;85:109-15.
22. Bollag DM, Edelstein SJ. *Protein Methods*. Wiley-Liss, 1991;p:56-8.

23. Stol C. Plasma creatinine determination. A new and specific Jaffe reaction method. *Scand J Clin Lab Invest* 1965;17:381-7.
24. Horak E, Hopfer SM, Sunderman FW. Spectrophotometric assay for N-acetyl- β -D-glucosaminidase activity. *Clin Chem* 1981;27:1180-5.
۲۵. فروید م، سیاسی ف، جلالی م، حسینی م، سعادت ن. اثر ویتامین‌ها و مینرال‌ها بر میزان چربی خون افراد دیابتی نوع ۲. مجله غدد درون ریز و متابولیسم ایران. ۱۳۸۳؛ سال ۶، شماره ۲، صفحات ۱۱۵ تا ۱۲۲.
26. Satoh K. Serum lipid peroxide in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clin Chim Acta* 1978;90:37-43.
27. Schmitz A. The kidney in NIDDM. Studies on glomerular structure and function and the relationship of microalbuminuria and mortality. *Acta Diabetol* 1992;29:47-69.
28. Vincent TE, Mendiratta S, May JM. Inhibition of aldose reductase in human erythrocytes by vitamin C. *Diabetes Res Clin Pract* 1999;43:1-8.
29. Piconi L, Quagliaro L, Ceriello A. Oxidative stress in diabetes. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1144-9.
30. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Antioxidant defense system in diabetic kidney: A time course study. *Life Sci* 1997;60:667-9.
31. Bursell SE, Clermont AC, Aiello LP, Aillo LM, Schlossman DK, et al. High dose vitamin E supplementation normalizes retinal blood flow and creatinine clearance in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 1999;22:1245-51.
32. McAuliffe AV, Brooks BA, Fisher EJ, Molyneaux LM, Yue DK. Administration of ascorbic acid and an aldose reductase inhibitor (tolrestat) in diabetes: effect on urinary albumin excretion. *Nephron* 1998;80:277-84.
33. Lonn E, Yusuf S, Hoogwerf B, Pogue J, Yi Q, et al. Effects of vitamin E on cardiovascular and microvascular outcomes in high risk patients with diabetes. *Diabetes Care* 2002;25:1919-27.
34. Goldfarb S, Chen S. Diabetic nephropathy. In: Lithchkofski R, Garrison L, editors. *Nephrology board review manual*. Wayne. Turner White Communications, Inc. 2001;p:1-12.
35. Lee HS, Jeong JY, Kim YS, Zhang YZ, Chung HK. Dietary antioxidant inhibits lipoprotein oxidation and renal injury in experimental focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 1997;51:1151-9.
36. Bloch MJ, Pickering T. Renal vascular disease: medical management, angioplasty, and stentinh. *Semin Nephrol* 2000;20:474-88.