

Original Paper

Effects of vitamin E supplementation on activity of serum Paraoxonase, SOD, GPX enzymes and lipid profiles in beta major thalassemia patients

Aboomardani M (PhD)¹, Rashidi MR (PhD)², Rafrat M (PhD)^{*3}
Arefhosseini SR (PhD)⁴, Keshtkar AA (MD, MPH, PhD)⁵, Joshaghani HR (PhD)⁶

¹Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ²Professor, Drug Applied Research Center, Department of Medicinal Chemistry, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ³Associate Professor, Nutritional Research Center, Department of Community Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ⁴Assistant Professor, Department of Food Science, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran. ⁵Assistant Professor, Department of Development of Health Sciences, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. ⁶Associate Professor, Department of Medical Laboratory, Golestan Research Center of Gastroenterology and Hepatology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Abstract

Background and Objective: In pathogenesis of beta major thalassemia, tissue damage is occurring due to oxidative stress. The present study was designed to evaluate the effects of vitamin E supplementation on serum Paraoxonase, SOD, GPX enzyme activity and lipid profiles in beta major thalassemia patients.

Materials and Methods: In this clinical trial study, Sixty (25 males, 35 females) beta major thalassemia patients with age ≥ 18 years who had criterias to enter the study, were selected randomly in two groups. The patients in interventional group, vitamin E at a dose of 400 mg/day were given for three months, with no supplementations in control group. The enzyme activities of paraoxonase, SOD, GPX and lipid profiles (LDL-c, HDL-c, triglyceride, total Antioxidant Capacity) were measured prior and after 3 months in both case and control groups. Data analyzed by using paired t-test.

Results: Significant increases in serum levels of vitamin E, Paraoxonase activity, HDL cholesterol ($P < 0.001$), BMI ($P \leq 0.001$) and a significant reduction in GPX activity ($P < 0.05$) were observed in cases compared to controls.

Conclusion: The vitamin E supplementation may be useful in reducing oxidative stress and lipid profiles in beta major thalassemic patients.

Keywords: Vitamin E, Beta major thalassemia, Paraoxonase-1, SOD, GPX, Lipid profiles

* Corresponding Author: Rafrat M (PhD), E-mail: rafratm@tbzmed.ac.ir

Received 19 July 2010

Revised 29 May 2011

Accepted 31 May 2011

تحقیقی

اثر ویتامین E بر فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز، سوپراکسیددیسموتاز و گلوکوتایون پراکسیداز و لیپید پروفایل در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور

دکتر مریم ابومردانی^۱، دکتر محمدرضا رشیدی^۲، دکتر مریم رف رف*^۳، دکتر سیدرفیع عارف حسینی^۴، دکتر عباسعلی کشتکار^۵، دکتر حمیدرضا جوشقانی^۶
۱- استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان. ۲- استاد، مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۳- دانشیار، مرکز تحقیقات تغذیه، گروه تغذیه در جامعه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۴- استادیار گروه صنایع غذایی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. ۵- دکتری اپیدمیولوژی، استادیار گروه آموزشی توسعه علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران. ۶- دانشیار گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد گلستان، دانشگاه علوم پزشکی گلستان.

چکیده

زمینه و هدف: یکی از مشکلات بیماران مبتلا به تالاسمی، آسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو در اثر انباشت آهن است. این مطالعه به منظور تعیین اثربخشی مکمل یاری ویتامین E بر فعالیت آنزیم‌های پاراکسوناز (PON)، سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوکوتایون پراکسیداز (GPX) و لیپید پروفایل در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور انجام شد.

روش بررسی: این کارآزمایی بالینی روی ۶۰ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی ماژور (۲۵ مرد و ۳۵ زن) با سن بیش از ۱۸ سال، در شهرستان گرگان طی سال ۱۳۸۸ انجام شد. بیماران به صورت تصادفی به دو گروه مداخله و شاهد تقسیم شدند و از نظر سن و جنس همسان شدند. گروه مداخله سه ماه تحت مکمل یاری ویتامین E به میزان ۴۰۰ میلی گرم روزانه قرار گرفتند و گروه شاهد هیچ نوع مکملی را در این مدت دریافت نکردند. قبل از آغاز و در پایان دوره مطالعه نمونه‌های خون از همه بیماران جمع‌آوری شد و متغیرهای موردنظر شامل سطح سرمی ویتامین E، تری‌گلیسرید (TG)، لیپوپروتئین کم‌چگال (LDL-c)، لیپوپروتئین پرچگال (HDL-c)، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم (TAC) و فعالیت آنزیم‌های GPX، SOD و PON اندازه‌گیری شد. از Paired t-test برای مقایسه تغییرات متغیرهای مورد بررسی قبل و بعد از مداخله استفاده گردید.

یافته‌ها: یافته‌ها نشان داد که در گروه مکمل یاری شده با ویتامین E، افزایش معنی‌داری در سطح سرمی ویتامین E، HDL-c، فعالیت آنزیم PON ($P < 0.001$) و کاهش معنی‌داری در سطح GPX ($P < 0.05$) دیده شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد که مکمل یاری ویتامین E در بیماران بتاتالاسمی ماژور می‌تواند اثرات کاهنده بر استرس اکسیداتیو و پروفایل لیپید داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: ویتامین E، بتاتالاسمی ماژور، پاراکسوناز-۱، سوپراکسیددیسموتاز، گلوکوتایون پراکسیداز، لیپیدهای سرم

* نویسنده مسؤول: دکتر مریم رف رف، پست الکترونیکی rafram@tbzmed.ac.ir

مقدمه

بیماری‌های تالاسمی اختلالات ژنتیکی در تولید زنجیره آلفا یا بتا گلوبین می‌باشند. در مبتلایان به بتا تالاسمی، فقدان کامل تولید ژن بتا گلوبین (β) یا کاهش نسبی آن ($\beta+$) وجود دارد و در آلفا تالاسمی، تولید ژن آلفا گلوبین یا وجود ندارد و یا به طور نسبی کاهش یافته است (۱).

بتا تالاسمی ماژور یک بیماری ناشی از فقدان یا کاهش شدید در سنتز زنجیره بتا گلوبین به دنبال موتاسیون ژنی است. این امر موجب تولید مقدار زیادی از زنجیره آلفا گلوبین که قادر به ایجاد تترامر هموگلوبین نیستند؛ می‌شود (۲).

بیماری تالاسمی شایع‌ترین بیماری ژنتیک در دنیا است و نزدیک به ۲۰۰ میلیون نفر در دنیا به سندرم‌های تالاسمی مبتلا هستند (۳). در جهان یک کمربند تالاسمی وجود دارد که از جنوب اروپا و شمال آفریقا تا خاورمیانه و خاور دور گسترش دارد و ایران نیز بر روی آن قرار دارد (۴). میزان شیوع ناقل ژن تالاسمی در جهان در حدود ۳ درصد است. در ایران نیز ۱۵۰۰۰ مورد شناخته شده تالاسمی وجود دارد. برآورد می‌شود که ۲۰۰۰۰ بیمار تالاسمیک در ایران وجود داشته باشد و در حدود ۳۰۰۰۰۰۰ نفر در ایران ناقل ژن تالاسمی باشند. آمار حاکی از آن‌دیمیک بودن بیماری در کشور ایران است و بیشترین شیوع از استان‌های شمالی و همچنین هرمزگان گزارش شده است (۵). در ایران به خصوص در استان‌های شمالی گلستان و مازندران، ۱۳-۱۰ درصد جمعیت ناقل ژن تالاسمی هستند و بیشترین شیوع بتا تالاسمی ماژور هم، در این استان‌ها دیده می‌شود (۶).

در تابلوی بالینی بیماران مبتلا به بتا تالاسمی ماژور، مشکلات ناشی از اثر هم‌زمان خونسازی غیر موثر و تجمع نامتعادل زیر واحدهای گلوبین در گلبول‌های قرمز و همولیز مزمن دیده می‌شود (۳). به علت افت شدید هموگلوبین جنینی که بعد از ۶ ماهگی آغاز شده و به طور مداوم تشدید می‌شود و از طرفی همولیز گلبول‌های قرمز تازه تشکیل شده، علائم آنمی شدید آشکار می‌شود. با تشدید آنمی، شیرخوار مبتلا نیازمند ترانسفوزیون می‌گردد و نیاز دایم به ترانسفوزیون، به تدریج علائم انباشت آهن ایجاد می‌کند. آسیب‌های بافتی ناشی از انباشت آهن در اعضای مختلف مثل کبد، پانکراس،

هیپوفیز، تیروئید و پارائتروئید، استخوان‌ها، پوست و قلب به تدریج علائم نارسایی و نقص عملکرد را نشان خواهد داد (۷). در پاتوژنز بیماری تالاسمی آسیب بافتی ناشی از استرس اکسیداتیو مطرح است که به علت انباشت آهن در بدن فرد مبتلا به تالاسمی می‌باشد. اکسیداسیون خودبه‌خودی زنجیره‌های آلفا گلوبین جفت نشده، منجر به تولید سوپراکسید و پراکسید هیدروژن می‌شود (۸). از طرفی جذب فوق‌العاده زیاد آهن از لوله گوارش، برای جبران خونسازی غیر موثر صورت می‌گیرد. همچنین تولید یک شکل غیرعادی آهن به نام آهن غیر متصل به ترانسفرین که هم سمیت بافتی داشته و نقش محوری در اکسیداسیون غشاهای سلولی دارد و هم در تشکیل رادیکال‌های آزاد و افزایش فرایند همولیز دخالت می‌کند؛ در پاتوژنز بیماری مطرح است. سطوح افزایش یافته TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive- Substance) در تالاسمی که یک نشانگر پراکسیداسیون چربی‌ها است؛ افزایش استرس اکسیداتیو را در این بیماری مشخص می‌نماید. برعکس کاهش در Total Peroxyl Radical Trapping Capacity (TRAP) که نشان‌دهنده کاهش مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در این بیماری است؛ دیده می‌شود (۹). تداخل عمل بین اشکال فعال اکسیژن و آهن مشتق از heme به واکنش Fenton و تولید رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل در گلبول‌های قرمز تالاسمیک و بالاخره اکسیداسیون زنجیره آلفا گلوبین منتهی می‌شود. برداشت متابولیت‌های سمی اکسیژن توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) صورت می‌گیرد. SOD به‌طور مستقیم با H_2O_2 واکنش می‌دهد و بعد از آن آنزیم‌های کاتالاز و GPX وارد عمل می‌شوند. به این ترتیب این سه آنزیم علاوه بر نقش‌های خاص، علیه عوامل اکسیدان با هم همکاری دارند (۱۱-۹).

سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن شامل عوامل آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشد. از آن جمله می‌توان به ویتامین E، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددیسموتاز و گلوکاتایون پراکسیداز اشاره نمود (۹). ویتامین E مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در چربی است. این ویتامین از ارکان اولیه و مهم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن محسوب می‌شود. همچنین مطالعات متعدد

عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان محلول در چربی بر فعالیت آنزیم پاراکسوناز، پروفایل لیپیدهای سرم و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و گلوکاتیون پراکسیداز (GPX) در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور انجام شد.

روش بررسی

این کارآزمایی بالینی روی ۶۰ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی ماژور (۲۵ مرد و ۳۵ زن) با سن بیش از ۱۸ سال، در شهرستان گرگان طی سال ۱۳۸۸ انجام شد. بیماران به صورت تصادفی به دو گروه مداخله و شاهد تقسیم شدند و از نظر سن و جنس همسان شدند. قبل از شروع مطالعه رضایت نامه کتبی برای شرکت در مطالعه از همه بیماران اخذ شد. اطلاعات این مطالعه در مرکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران با شماره IRCT138811033139N1 ثبت شده است.

معیارهای ورود به مطالعه شامل سن بیش از ۱۸ سال، تحت درمان مستمر با ترانسفوزیون و داروی چلاتور دسفرال بود. معیارهای خروج از مطالعه شامل وجود سابقه ابتلا به دیابت شیرین، ابتلا به هیپاتیت B و C و مصرف هر نوع مکمل ویتامینی و املاح حداقل در سه ماه گذشته بود.

یک پرسشنامه عمومی برای همه بیماران تکمیل شد. اطلاعات تن‌سنجی شامل اندازه‌گیری‌های وزن و قد انجام شد و نمایه توده بدن (Body Mass Index: BMI) از تقسیم وزن بدن برحسب کیلوگرم بر مجذور قد برحسب متر محاسبه گردید. برای تعیین دریافت کالری و ویتامین E از روش ثبت غذایی که برای دو روز عادی و یک روز تعطیل تکمیل شد؛ در قبل و پایان مطالعه استفاده شد. در شروع مطالعه برای اندازه‌گیری فراسنج‌های خونی در حالت ناشتا و همچنین قبل از انجام آخرین ترانسفوزیون، بعد از ۱۲ ساعت ناشتایی، ۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون وریدی برای انجام آزمایشات از تمام افراد گرفته شد که بعد از جداسازی سرم از گلوبول‌های قرمز، به ترتیب نمونه سرمی برای سنجش ویتامین E، پروفایل لیپیدی و فعالیت آنزیم پاراکسوناز استفاده شد و از گلوبول‌های قرمز برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX استفاده شد. همه نمونه‌های خون و سرم آماده شده در فریزر منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا موقع آزمایشات نگهداری شد.

بیماران به صورت تصادفی در دو گروه مداخله و شاهد

به کاهش سطح پلاسمایی آن در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی اشاره کرده‌اند و به دلیل سودمندی آن برای سیستم آنتی‌اکسیدانی توصیه به مصرف آن کرده‌اند (۱۵ و ۱۲). در مطالعه‌ای مکمل یاری ویتامین E سبب بهبود تعادل سیستم آنتی‌اکسیدانی و ممانعت از فرایند پراکسیداسیون لیپید در مبتلایان به بتاتالاسمی اینترمدیا گردید (۱۳).

خط دفاعی دیگر آنزیم I-Paraoxonae (PON) می‌باشد که آنزیمی آنتی‌اکسیدانی است و در کبد ساخته شده و به ذرات HDL-C در خون متصل است (۱۶). دارای چند نوع فعالیت آنزیمی نظیر پاراکسونازی، آریل استرازی و پراکسیدازی است. مطالعات نشان داده‌اند که این آنزیم نقش محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو و آترواسکلروز دارد و این عمل را با هیدرولیز کردن پراکسیدهای لیپیدی انجام می‌دهد. کمبود این آنزیم با افزایش حساسیت به اکسیداسیون LDL-C و ایجاد آترواسکلروز مرتبط است (۱۷ و ۱۸). مطالعات حاکی از آن هستند که فعالیت PON به مقدار زیادی در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی مینور و بتاتالاسمی/هموگلوبین H کاهش می‌یابد. از طرفی بین فعالیت آنزیمی PON و سطح پلاسمایی ویتامین E و ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم ارتباط مستقیمی وجود دارد. به این معنا که کاهش سطح آنزیم فوق با استرس اکسیداتیو بیشتر همراه است (۱۹ و ۲۰). مطالعه‌ای نشان داده است؛ دریافت آنتی‌اکسیدان‌های خوراکی ممکن است در تقویت اثر PON نقش داشته باشند (۲۱). در مطالعه‌ای دریافت خوراکی ویتامین E با افزایش فعالیت PON همراه بود (۲۲). هرگونه کاهش در استرس اکسیداتیو که توسط ویتامین E ایجاد شود؛ ممکن است در بقای فعالیت PON همراه گردد (۲۲). در مطالعاتی به کمبود ویتامین E در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی اشاره شده است (۱۵ و ۹).

اجبار در استفاده از درمان chelator به همراه انباشت آهن و در پی آن افزایش استرس اکسیداتیو منجر به تخریب بافت‌های حیاتی بدن شده و صدمات جبران‌ناپذیری به سلامت و حیات فرد وارد می‌کند (۷ و ۹). لذا با توجه به کمبود ویتامین E در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور و عدم انجام مطالعه‌ای در خصوص مکمل‌یاری ویتامین E در این بیماران؛ این مطالعه به منظور تعیین اثربخشی مکمل‌یاری ویتامین E به

قرار گرفتند.

کیت مربوطه به روش آنزیماتیک و رنگ‌سنجی تعیین گردید. برای تعیین فعالیت آنزیم‌های گلوکوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز از خون کامل سه بار شسته شده با نرمال سالین استفاده گردید و از کیت‌های آنزیمی اختصاصی RANCEL و RANSOL استفاده شد. ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم (Total Antioxidant Capacity: TAC) با استفاده از کیت اختصاصی (RANDOX, UK) تعیین گردید. برای آنالیز پرسشنامه دریافت غذایی از نرم‌افزار Food Processor II استفاده شد.

آنالیز آماری بعد از ورود نتایج به نرم‌افزار SPSS-11 انجام شد. با توجه به توزیع نرمال داده‌ها نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شدند. برای مقایسه تغییرات متغیرهای مختلف در فازهای قبل و بعد از مداخله از Paired T-test استفاده گردید. سطح اطمینان برای تمام متغیرها ۹۵ درصد در نظر گرفته شد. مقادیر معنی‌دار از لحاظ آماری با $P < 0.05$ مشخص گردید.

یافته‌ها

۲۵ نفر مرد (۴۱/۵ درصد) و ۳۵ نفر زن (۵۸/۳ درصد) بودند. میانگین سن گروه مداخله $21/8 \pm 3/1$ و گروه شاهد $21/4 \pm 2/8$ سال بود و از این نظر تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

دو گروه مداخله و شاهد از نظر BMI و ویتامین E دریافتی

گروه مداخله مکمل ویتامین E (به شکل کپسول ژله‌ای ساخت شرکت زهراوی) را به مقدار ۴۰۰ mg روزانه به مدت سه ماه دریافت کردند. گروه شاهد هیچگونه مکملی دریافت نمودند. مکمل ویتامین ماهانه در اختیار بیماران قرار گرفت و برای پایش پیروی مصرف مکمل توسط بیماران از آنان خواسته شد که هر بار پاکت مکمل مصرف شده را تحویل دهند. در طول مراجعه بیماران به بیمارستان نیز پیگیری دریافت مکمل‌ها انجام گردید. بعد از ۳ ماه از اتمام مرحله مداخله، نمونه‌گیری خون از بیماران تحت مداخله و شاهد و اندازه‌گیری تمامی موارد فوق، دوباره تکرار گردید.

ویتامین E سرم به روش HPLC اندازه‌گیری شد. اساس روش بر مبنای کروماتوگرافی فاز معکوس بود. سیستم HPLC مورد استفاده از نوع Pharmacia, LKB با آشکارساز مدل ۲۲۴۱ از نوع multi wave length, UV بود. ستون به کار رفته از نوع Super Pac pep-s بود. طول موج انتخابی در شروع آزمایش تا ۷ دقیقه ۳۲۵ نانومتر بود و بعد از آن ۲۹۲ نانومتر بود (۲۳).

فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱ با تعیین میزان فعالیت آریل استرازی آن در نمونه سرم بیماران با استفاده از سوبسترای فنیل استات توسط دستگاه اسپکتروفتومتر ۲۲۵۰ Shimadzu uv اندازه‌گیری شد (۲۴). پروفایل لیپیدها توسط

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار متغیرهای مورد مطالعه در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور در گروه‌های مداخله و شاهد

متغیر	گروه مداخله		p-value	گروه شاهد		p-value
	قبل از مداخله	بعد از مداخله		انحراف معیار \pm میانگین	انحراف معیار \pm میانگین	
سن (سال)	$21/8 \pm 2/4$	-	-	$21/4 \pm 2/2$	-	-
ویتامین E سرم (mg/dl)	$0/33 \pm 0/18$	$0/91 \pm 0/5$	$< 0/001^{***}$	$0/35 \pm 0/13$	$0/35 \pm 0/12$	$0/46$
تری گلیسرید (mg/dl)	145 ± 68	147 ± 81	$0/84$	163 ± 70	163 ± 74	$0/95$
کلسترول تام (mg/dl)	$146/4 \pm 67$	123 ± 33	$0/43$	$109/6 \pm 23$	106 ± 23	$0/6$
LDL-C (mg/dl)	$65/5 \pm 26$	$63/8 \pm 27/5$	$0/75$	$51/1 \pm 27$	$47/6 \pm 22/7$	$0/47$
HDL-C (mg/dl)	$21/6 \pm 5/5$	$32 \pm 9/5$	$< 0/001^{***}$	$26/9 \pm 9/4$	$25/4 \pm 8/2$	$0/6$
TAC (mmol/L)	$1/07 \pm 0/18$	$1/12 \pm 0/29$	$0/45$	$1/04 \pm 0/21$	$1/07 \pm 0/24$	$0/86$
GPX (U/gr Hbg)	$46 \pm 6/4$	$38/9 \pm 14/7$	$0/03^{**}$	$46/5 \pm 7/4$	$44/7 \pm 11$	$0/4$
SOD (U/gr Hbg)	$1924/8 \pm 631/1$	$1759/5 \pm 569/7$	$0/5$	$1892 \pm 546/8$	$2485 \pm 1676/2$	$0/3$
PON-1 (U/L)	$5/9 \pm 1/4$	$7/2 \pm 1/7$	$< 0/001^{***}$	$7/3 \pm 2$	$7/6 \pm 2$	$0/5$
BMI (kg/m2)	$19/8 \pm 2/2$	$20/35 \pm 2/3$	$0/001^{**}$	$19/4 \pm 2/2$	$19/8 \pm 2/4$	$0/3$
انرژی (kcal/day)	$2390/4 \pm 1238$	2996 ± 740	$< 0/001^{***}$	$2650 \pm 561/6$	$2661/3 \pm 1001$	$0/2$
ویتامین E دریافتی از غذا (mg)	$23/4 \pm 18/3$	$25/7 \pm 17/3$	$0/8$	$21/2 \pm 13/1$	$24/1 \pm 12$	$0/6$

$P < 0/001^{***}$ و $P < 0/05^{**}$

در ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها با مقادیر زیاد آن در ذرات LDL-C و HDL-C توجه می‌شود؛ به طوری که در هر مول از LDL-C، دوازده مول ویتامین E وجود دارد و تجویز ویتامین E با مقاومت به پراکسیداسیون LDL-C همراه بوده است. در ضمن وجود مقادیر زیاد آهن و مس با افزایش قابلیت پراکسیداسیون LDL-C همراهی دارد (۲۶).

همان‌طور که پیشتر گفته شد؛ ویتامین E یک ویتامین آنتی‌اکسیدانی است که رادیکال‌های آزاد را که ممکن است باعث کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی پاراکسوناز شوند؛ پاکسازی می‌کند. در مطالعه‌ای دریافت خوراکی ویتامین E یک عامل پیش‌بینی کننده برای فعالیت این آنزیم بود و افزایش دریافت این ویتامین با افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز همراه بود (۲۱). در مطالعه حاضر نیز مکمل‌یاری ویتامین E باعث افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز گردید.

در مطالعه Selek و همکاران روی بیماران مبتلا به بتاتالاسمی مینور؛ وضعیت آنزیم پاراکسوناز، فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز به مقدار قابل ملاحظه‌ای کمتر از افراد طبیعی بود. نتیجه‌گیری شد با افزایش استرس اکسیداتیو، فعالیت آنزیم پاراکسوناز در سرم بیماران مبتلا به تالاسمی مینور کاهش می‌یابد (۲۰).

در مطالعه‌ای دیگر مشاهده شد که آنزیم پاراکسوناز بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور تحت شرایط استرس اکسیداتیو می‌تواند غیرفعال شده و به کاهش خاصیت آنتی‌اکسیدانی HDL-C منجر گردد. درجه غیرفعال شدن آن هم بستگی به شدت اکسیداسیون HDL-C و سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی داشت (۱۹).

در مطالعه Jarvik و همکاران ویتامین E توانست از اکسیداسیون LDL-C ممانعت کند و از طرف دیگر نقش آنزیم پاراکسوناز در جلوگیری از پراکسیداسیون LDL-C مستقل از عمل ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی بود. اما در اثر افزایش پراکسیداسیون LDL-C آنزیم پاراکسوناز غیرفعال می‌شود؛ در این حالت ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی وارد عمل شده و از غیرفعال شدن آن جلوگیری می‌نمایند. به عبارت دیگر هرگونه کاهشی که در استرس اکسیداتیو در اثر دریافت خوراکی ویتامین E ایجاد شود؛ سبب ابقای آنزیم پاراکسوناز

از طریق رژیم غذایی، قبل و بعد از مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری با یکدیگر نداشتند.

در گروه مداخله غلظت سرمی ویتامین E به میزان معنی‌داری افزایش نشان داد ($P < 0/001$). همچنین در گروه مداخله افزایش معنی‌داری در سطح سرمی و فعالیت آنزیم پاراکسوناز ($P < 0/001$)، HDL-C ($P < 0/001$) و میانگین فعالیت آنزیم GPX ($P < 0/05$) دیده شد. سایر متغیرها تغییرات آماری معنی‌داری نشان ندادند. در گروه شاهد تغییرات آماری معنی‌داری در هیچیک از متغیرها دیده نشد (جدول یک).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که مکمل‌یاری ویتامین E موجب تغییراتی در فراسنج‌های خونی و سرمی گروه مداخله گردید که شامل افزایش معنی‌دار سطح سرمی ویتامین E، HDL-C، کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز، افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پاراکسوناز و BMI بود. از طرفی سطوح تری‌گلیسرید، LDL-C، کلسترول تام، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تغییر معنی‌داری نشان ندادند.

مروری بر مطالعات نشان داد که تاکنون مطالعه‌ای در خصوص مکمل‌یاری ویتامین E در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور انجام نشده است. مطالعات محدود مشابهی فقط در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی مینور و اینترمدیا در دسترس بود و مابقی مطالعات بیشتر در زمینه بررسی وضعیت در این بیماران بود. از این رو امکان برخورداری ما از منابع و متون علمی در این مورد برای مقایسه بسیار اندک بود.

مطالعه ما نشان داد که وضعیت ویتامین E پایه سرم در دو گروه مداخله و شاهد کمتر از حد طبیعی است و مکمل‌یاری ویتامین E سبب افزایش این ویتامین در گروه مداخله گردید. همچنین در گروه مداخله HDL-C سرم افزایش معنی‌داری داشت. بنابراین مکمل‌یاری ویتامین E اثرات مفیدی بر پروفایل لیپیدی سرم در این بیماران داشته است.

همسو با نتایج مطالعه حاضر در یک مطالعه انجام شده روی بیماران مبتلا به بتاتالاسمی اینترمدیا؛ آنان نیز دچار کمبود شدید این ویتامین بودند. این کاهش همبستگی قوی با افزایش قابلیت پراکسیداسیون LDL-C داشت (۲۵). اهمیت ویتامین E

می گردد (۲۲). در مطالعه حاضر نیز در یافت مکمل ویتامین E با افزایش سطوح سرمی آن و افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز در گروه مداخله همراه بود.

در مطالعه Cakmak و همکاران فعالیت آنزیم پاراکسوناز در ۸۷ بیمار مبتلا به بتاتالاسمی ماژور تعیین گردید و فعالیت پاراکسونازی و آریل استرازی آنزیم پاراکسوناز به مقدار قابل ملاحظه‌ای در این بیماران کاهش نشان داد. به علاوه در این بررسی سطوح سرمی کلسترول تام، HDL-C و LDL-C سطوح پایینی نشان دادند. به طور کلی ماهیت بیماری بتاتالاسمی ماژور و همه انواع سندرم‌های تالاسمی با کاهش سطح LDL-C همراه است. زیرا مغز استخوان LDL-C بیشتری را بدم می‌اندازد تا پیش‌سازهای اریتروئید را بسازد. از طرفی افزایش ترشح بعضی از سیتوکین‌ها که باعث کاهش ترشح کبدی کلسترول می‌گردند و افزایش کاتابولیسم LDL-C به عنوان دلایل بعدی مطرح هستند. این بیماران در خطر ابتلا به آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی عروقی به علت کاهش فعالیت آنزیم پاراکسوناز می‌باشند (۲۴).

مطالعات دیگر در مورد اثرات مکمل یاری ویتامین E روی بیماران غیر تالاسمیک که در شرایط ازدیاد استرس اکسیداتیو هستند؛ مانند بیماران دیابتی و دیالیزی نیز نشان داده‌اند که تجویز این مکمل باعث کاهش قابل ملاحظه‌ای در LDL-C اکسیدشده، LDL-C و کلسترول تام گردیده است (۲۷ و ۲۸). در یک مطالعه تجربی موش‌های صحرایی با تزریق استرپتوزوسین دیابتی شدند و مشخص گردید که مکمل یاری با منبع غذایی غنی از ویتامین E سبب افزایش HDL-C، کاهش LDL-C و کلسترول تام سرم شده است (۲۹).

در مطالعه دیگری روی خرگوش‌ها، مکمل یاری با ویتامین E باعث کاهش LDL-C و کلسترول تام شد؛ ولی بر سطوح تری‌گلیسرید سرم اثری نداشت. افزایش غلظت HDL-C به دنبال مکمل یاری با ویتامین E باعث افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز گردید. همچنین اثر حفاظتی HDL-C بر LDL-C در برابر اکسیداسیون که از طریق آنزیم پاراکسوناز اعمال می‌شود؛ بسیار پایدارتر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بود (۳۰). نتایج مطالعه ما مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم پاراکسوناز و HDL-C بعد از مکمل یاری ویتامین E، در تائید نتایج

مطالعات فوق (۳۰-۲۷) می‌باشد.

طبق نتایج ما سطوح پایه LDL-C و کلسترول تام و تری‌گلیسرید در حد مقادیر طبیعی هستند؛ ولی HDL-C کمتر از حد طبیعی بود که بعد از مکمل یاری در گروه مداخله افزایش قابل توجهی نشان داد. همان طور که می‌دانیم کمبود HDL-C عامل خطر ابتلا به آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی و عروقی است. عموماً مرگ بیماران تالاسمیک به دنبال بیماری‌های قلبی و عروقی است؛ از این رو افزایش HDL-C سرم به دنبال مکمل یاری ویتامین E در بیماران مبتلا به بتاتالاسمی ماژور می‌تواند اثر حفاظتی و مثبت آن را نشان دهد.

به علت ترانسفوزیون‌های خونی مکرر انباشت آهن و به تبع آن تولید رادیکال‌های آزاد و افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از آن، آسیب بافتی و کاهش آنتی‌اکسیدان‌های درون‌زاد در این بیماران به وجود خواهد آمد. براساس مدل‌های حیوانی انباشت آهن همراه با افزایش پراکسیداسیون لیپید و عوامل اکسیداتیو بوده است. همان طور که قبلاً گفته شده مکمل یاری با عوامل آنتی‌اکسیدان می‌تواند سبب بهبود و تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و کاهش استرس اکسیدان شود. در مطالعه Cakmak و همکاران روی بیماران مبتلا به بتاتالاسمی؛ بعد از مکمل یاری ویتامین E، فعالیت آنزیم SOD که بالاتر از حد عادی بود؛ به مقادیر طبیعی رسید و فعالیت آنزیم GPX نیز به میزان قابل توجهی کاهش یافت (۲۴). نتایج مطالعه ما در مورد کاهش فعالیت آنزیم GPX در گروه مداخله مشابه با نتایج مطالعه فوق بود.

نتایج مطالعات انجام یافته در مورد فعالیت آنزیم‌های SOD و GPX در بیماران بتاتالاسمیک متفاوت است. افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD و GPX در دو مطالعه که هدف آنها بررسی وضعیت سیستم آنتی‌اکسیدانی بود؛ در بیماران تالاسمیک گزارش شده است (۳۱ و ۳۰). برعکس مطالعات فوق، در مطالعه‌ای دیگر روی بیماران تالاسمی کاهش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD گزارش شده است. این کاهش به نوعی فعالیت جبرانی در مقابل افزایش پراکسیداسیون لیپیدها در این بیماران نسبت داده شد (۳۲). در مطالعه ما تغییرات آنزیم SOD معنی‌دار نبود. در یک بررسی

فعالیت آنزیم پاراکسوناز-۱، بهبود پروفایل لیپید و به تعویق انداختن عوارض بیماری در بیماران مفید باشد. مطالعات دیگری در مورد اثرات مکمل یاری ویتامین E با دوزهای مختلف ویتامین E و مدت زمان‌های متفاوت در این بیماران پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه برای اخذ درجه دکتری تخصصی در علوم تغذیه بود. بدین وسیله از مرکز تحقیقات علوم دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات تغذیه دانشکده بهداشت و تغذیه دانشگاه علوم پزشکی تبریز و معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تبریز به خاطر حمایت مالی تقدیر و تشکر می‌گردد. همچنین از دانشکده پیراپزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان و بخش تالاسمی مرکز آموزشی درمانی طالقانی شهرستان گرگان به خاطر یاری در انجام تحقیق؛ سپاسگزاریم.

References

1. Fauci AS, Braunwald E, Kasper D, Braunwald E, Jameson JL, Loscalzo J, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine, 17th. New York: MC Grow Hill. 2008; pp:636-40.
2. Beutler B. Hemolytic anemia due to chemical and physical agents. In: Beutler B, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TH, Seligsohn U (eds.). Williams Hematology. 6th. New York: McGraw-Hill. 2001; pp:629-32.
3. Lanzkowsky P. Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 3rd. New York: Academic Press. 2000; pp:124-44.
4. Alphonso A. [Thalassemia Information, A Guide for Practitioners, Patients and Families]. Translate by Abrishami D, Mirbaha M. Tehran: Institute Special Disease Organization Press. 2003; p: 116. [Persian]
5. Genetic Institute Groups. [Statistical report of beta thalassemia major patients prevention project in Iran, 1997-2003]. Tehran: Ministry of Health and Medical Education, Vice Chancellor of Health, Disease Management Center. 2004; p:28. [Persian]
6. Azarkeyvan A. [A Complete Therapeutic Management Package in Thalassaemic Patients]. Tehran: Graft and Special Disease Management Center of Ministry of Health and Medical Education. 2006; pp:1-2. [Persian]
7. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, et al. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th. New York: McGraw-Hill. 2005; pp: 598-9, 2059.
8. Scott MD. H₂O₂ injury in beta thalassaemic erythrocytes: protective role of catalase and the prooxidant effects of GSH. Free Radic Biol Med. 2006 Apr;40(7):1264-72.

دیگر روی این بیماران علی‌رغم افزایش در فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی SOD، ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی تفاوت معنی‌داری با افراد طبیعی نداشت (۳۳). در مطالعه ما نیز تغییرات معنی‌دار در ظرفیت کل آنتی‌اکسیدانی سرم مشاهده نشد. همچنین در مطالعه Das و همکاران که مکمل‌یاری ویتامین E روی بیماران تالاسمی انجام شد؛ تغییرات واضحی در افزایش وزن بدن پیدا شد که آن را ناشی از اثر ویتامین E در بهبود سلامت عمومی بیماران دانستند (۱۵). در مطالعه ما نیز افزایش در BMI در گروه مداخله دیده شد که این امر می‌تواند تا اندازه‌ای به علت افزایش دریافت انرژی در این افراد باشد. از این رو در مطالعه ما نیز مکمل‌یاری ویتامین E اثر مثبتی در سلامت عمومی افراد داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که در بیماران مبتلا به تالاسمی ماژور که تحت استرس اکسیداتیو شدید هستند؛ مکمل‌یاری ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مهم می‌تواند در افزایش

9. Kassab-Chekir A, Laradi S, Ferchichi S, Haj Khelil A, Feki M, Amri F, et al. Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia. Clin Chim Acta. 2003 Dec; 338(1-2):79-86.
10. Chan AC, Chow CK, Chiu D. Interaction of antioxidants and their implication in genetic anemia. Proc Soc Exp Biol Med. 1999 Dec; 222(3):274-82.
11. Michiels C, Raes M, Toussaint O, Remacle J. Importance of Se-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn-SOD for cell survival against oxidative stress. Free Radic Biol Med. 1994 Sep; 17(3):235-48.
12. Naithani R, Chandra J, Bhattacharjee J, Verma P, Narayan S. Peroxidative stress and antioxidant enzymes in children with beta-thalassemia major. Pediatr Blood Cancer. 2006 Jun;46(7):780-5.
13. Tesoriere L, D'Arpa D, Butera D, Allegra M, Renda D, Maggio A, et al. Oral supplements of vitamin E improve measures of oxidative stress in plasma and reduce oxidative damage to LDL and erythrocytes in beta-thalassemia intermedia patients. Free Radic Res. 2001 May;34(5):529-40.
14. Nasr MR, Ali S, Shaker M, Elgabry E. Antioxidant micronutrients in children with thalassaemia in Egypt. East Mediterr Health J. 2002 Jul-Sep;8(4-5):490-5.
15. Das N, Das Chowdhury T, Chattopadhyay A, Datta AG. Attenuation of oxidative stress-induced changes in thalassaemic erythrocytes by vitamin E. Pol J Pharmacol. 2004 Jan-Feb; 56(1):85-96.
16. Karabina SA, Lehner AN, Frank E, Parthasarathy S, Santanam

- N. Oxidative inactivation of paraoxonase--implications in diabetes mellitus and atherosclerosis. *Biochim Biophys Acta*. 2005 Sep; 1725(2):213-21.
17. Aviram M, Fuhrman B. LDL oxidation by arterial wall macrophages depends on the oxidative status in the lipoprotein and in the cells: role of prooxidants vs. antioxidants. *Mol Cell Biochem*. 1998 Nov;188(1-2):149-59.
18. Shimoni N, Kaplan M, Keidar S. Cardiovascular diseases in patients with high levels of plasma high density lipoprotein: association with increased plasma oxidative state. *Isr Med Assoc J*. 2003 Oct;5(10):702-5.
19. Phumala Morales N, Cherlermchoung C, Fucharoen S, Chantharak Sri U. Paraoxonase and platelet-activating factor acetylhydrolase activities in lipoproteins of beta-thalassemia/hemoglobin E patients. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(7):884-9.
20. Selek S, Aslan M, Horoz M, Gur M, Erel O. Oxidative status and serum PON1 activity in beta-thalassemia minor. *Clin Biochem*. 2007 Mar;40(5-6):287-91.
21. Aviram M, Kaplan M, Rosenblat M, Fuhrman B. Dietary antioxidants and paraoxonases against LDL oxidation and atherosclerosis development. *Handb Exp Pharmacol*. 2005;(170):263-300.
22. Jarvik GP, Tsai NT, McKinstry LA, Wani R, Brophy VH, Richter RJ, et al. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002 Aug;22(8):1329-33.
23. Aarabi MH, Jalali M. [Simultaneous measurement of vitamin A and E using reversed phase HPLC]. *Feyz*. 2003;7(27): 1-7. [Article in Persian]
24. Cakmak A, Soker M, Koc A, Erel O. Paraoxonase and arylesterase activity with oxidative status in children with thalassemia major. *J Pediatr Hematol Oncol*. 2009 Aug;31(8): 583-7.
25. Tesoriere L, D'Arpa D, Maggio A, Giaccone V, Pedone E, Livrea MA. Oxidation resistance of LDL is correlated with vitamin E status in beta-thalassemia intermedia. *Atherosclerosis*. 1998 Apr; 137(2):429-35.
26. Marchioli R. Antioxidant vitamins and prevention of cardiovascular disease: laboratory, epidemiological and clinical trial data. *Pharmacol Res*. 1999 Sep;40(3):227-38.
27. Karasu C, Ozansoy G, Bozkurt O, Erdoğan D, Omeroglu S. Antioxidant and triglyceride-lowering effects of vitamin E associated with the prevention of abnormalities in the reactivity and morphology of aorta from streptozotocin-diabetic rats. *Antioxidants in Diabetes-Induced Complications (ADIC) Study Group. Metabolism*. 1997 Aug;46(8):872-9.
28. Mafra D, Santos FR, Lobo JC, de Mattos Grosso D, Barreira AL, Velarde LG, et al. Alpha-tocopherol supplementation decreases electronegative low-density lipoprotein concentration [LDL(-)] in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009 May; 24(5):1587-92.
29. Budin SB, Othman F, Louis SR, Bakar MA, Das S, Mohamed J. The effects of palm oil tocotrienol-rich fraction supplementation on biochemical parameters, oxidative stress and the vascular wall of streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinics (Sao Paulo)*. 2009; 64(3):235-44.
30. Jeon SM, Park YB, Kwon OS, Huh TL, Lee WH, Do KM, et al. Vitamin E supplementation alters HDL-cholesterol concentration and paraoxonase activity in rabbits fed high-cholesterol diet: comparison with probucol. *J Biochem Mol Toxicol*. 2005;19(5):336-46.
31. Meral A, Tuncel P, Sürmen-Gür E, Ozbek R, Oztürk E, Günay U. Lipid peroxidation and antioxidant status in beta-thalassemia. *Pediatr Hematol Oncol*. 2000 Dec;17(8):687-93.
32. Cheng ML, Ho HY, Tseng HC, Lee CH, Shih LY, Chiu DT. Antioxidant deficit and enhanced susceptibility to oxidative damage in individuals with different forms of alpha-thalassaemia. *Br J Haematol*. 2005 Jan;128(1):119-27.
33. Carpino A, Tarantino P, Rago V, De Sanctis V, Siciliano L. Antioxidant capacity in seminal plasma of transfusion-dependent beta-thalassemic patients. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2004 Mar;112(3):131-4.