

تأثیر دوکوزاهگزانونیک اسید بر سطوح آپولیپوپروتئین ها در بیماران دیابتی نوع ۲: کارآزمایی بالینی تصادفی دوسو کور کنترل شده با دارونما

مهرآسا محمدصادقی: کارشناس ارشد، گروه تغذیه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
نیاز محمدزاده هنرور: استادیار، گروه تغذیه سلولی و مولکولی، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
مصطفی قربانی: استادیار، مرکز تحقیقات بیماری های غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی البرز، کرج، ایران
آناهیتا منصوری: استادیار، مرکز تحقیقات تغذیه و بیماری های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز، اهواز، ایران
فریا کوهدانی: استاد، گروه تغذیه سلولی و مولکولی، مرکز تحقیقات دیابت، پژوهشگاه علوم غدد و متابولیسم، دانشکده علوم تغذیه و رژیم شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران- نویسنده رابط: fkoohdan@tums.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: اختلال لیپوپروتئین ها به عنوان یک جزء جدایی ناپذیر دیابت نوع ۲ است. بنابراین تشخیص و درمان زود هنگام اختلال لیپید می تواند در پیشگیری و درمان برخی عوارض دیابت نوع ۲ موثر باشد. این مطالعه با هدف تعیین اثر مصرف مکمل دوکوزاهگزانونیک اسید (DHA) بر سطوح سرمی آپولیپوپروتئین A1 (ApoA1) و آپولیپوپروتئین A2 (ApoA2)، آپولیپوپروتئین B48 (ApoB48) و آپولیپوپروتئین C3 (ApoC3) در بیماران دیابتی نوع ۲ طراحی شد.
روش کار: در این کارآزمایی بالینی دو سو کور کنترل شده با دارونما، ۲۲ نفر به طور تصادفی در گروه دریافت کننده DHA به مقدار ۲/۴ گرم و ۲۲ نفر در گروه دریافت کننده پلاکسین به عنوان دارونما به مدت ۸ هفته قرار گرفتند. غلظت سرمی آپولیپوپروتئین ها در بیماران دیابتی نوع ۲ اندازه گیری شد.
نتایج: پس از مکمل یاری با DHA، میانگین سطوح سرمی ApoA1 افراد دریافت کننده مکمل، افزایش معنی داری داشت ($p=0/014$)، همچنین میانگین سطوح ApoC3 در بین دو گروه کاهش آماری معنی داری داشت ($p=0/031$) اما میانگین تغییرات غلظت سرمی ApoA1، ApoA2، ApoB48 و ApoC3 بین دو گروه تفاوت آماری معنی داری نداشت.
نتیجه گیری: مصرف DHA در بیماران دیابتی نوع ۲، تأثیر معنی داری بر سطوح آپولیپوپروتئین ها ندارد.
واژگان کلیدی: دوکوزاهگزانونیک اسید، آپولیپوپروتئین A1، آپولیپوپروتئین A2، آپولیپوپروتئین B48، آپولیپوپروتئین C3، دیابت نوع ۲

مقدمه

دیابت یکی از دلایل عمده بیماری و مرگ و میر است و شیوع جهانی آن رو به رشد است. این بیماری می تواند منجر به بیماری های عروق ریز و درشت گردد (Guariguata et al. 2011; Wang et al. 2015). ۳۳۶ میلیون دیابتی در سال ۲۰۱۱ وجود داشته و افزایش آن تا ۵۵۲ میلیون تا سال ۲۰۳۰ مورد انتظار است (Whiting et al. 2011). اختلال لیپید یکی از بزرگترین عوامل خطر برای بیماری قلبی عروقی در دیابت ملیتوس است. تشخیص و درمان زود هنگام اختلال لیپید در دیابت نوع ۲ می تواند از اختلال قلبی آتروژنیک پیشگیری کند (Dixit et al. 2014). اختلال متابولیسم لیپوپروتئین با دانسیته بالا (High Density Lipoprotein (HDL) در

دیابت یکی از دلایل عمده بیماری و مرگ و میر است و شیوع جهانی آن رو به رشد است. این بیماری می تواند منجر به بیماری های عروق ریز و درشت گردد (Guariguata et al. 2011; Wang et al. 2015). ۳۳۶ میلیون دیابتی در سال ۲۰۱۱ وجود داشته و افزایش آن تا ۵۵۲ میلیون تا سال ۲۰۳۰ مورد انتظار است

حاوی ApoB100 موثرند اما در کنترل مناسب تولید لیپوپروتئین‌های حاوی ApoB48 و لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین Very Low Density Lipoprotein (VLDL)، لیپوپروتئین‌های روده‌ای ناموفق هستند. برای دستیابی به مزایای بیشتر، دریافت اسیدهای چرب n³ همراه با درمان استاندارد فلاواستاتین پیشنهاد می‌گردد (Valdivielso et al. 2009). مکمل یاری با اسید چرب n³ می‌تواند غلظت ApoB48 سرم را کاهش دهد (Park and Harris 2003). اسیدهای چرب بلند زنجیر غیراشباع n³ که در ماهی وجود دارد، باعث کاهش غلظت ApoC3 می‌گردد (Olivieri et al. 2005). در مطالعه Chan و همکارانش روغن ماهی، تری گلیسرید پلاسما را به طور معنی داری کاهش داد اما غلظت ApoC3 موجود در VLDL را به طور معنی داری تغییر نداد (Chan et al. 2010b). هدف گذاری بر متابولیسم ApoC3 ممکن است یک رویکرد درمانی جدید و مهم در مدیریت اختلال لیپید، مقاومت انسولین و دیابت ملیتوس نوع ۲ باشد (Chan et al. 2008).

مطالعات کمی در ارتباط با مکمل یاری DHA و سطوح سرمی هر یک از آپولیپروتئین‌های A1، A2، B48 و C3 انجام شده است، با وجود این که در مطالعات قبلی مکمل یاری با اسیدهای چرب n³ سبب افزایش HDL می‌شود اما نتایجی متناقض بر سطوح سرمی ApoA1 و ApoA2 داشته است. اگرچه با مصرف PUFA سطح تری گلیسرید سرمی کاهش پیدا می‌کرد، اما بر سطوح سرمی ApoC3 به عنوان جزئی از VLDL-TG و غلظت سرمی ApoB48 تاثیرات متناقضی داشت. به علاوه، تاثیر این مکمل یاری در جمعیت دیابتی ایران مورد بررسی قرار نگرفته است و همچنین در مطالعات خارجی نیز ارتباط این مکمل یاری با مجموع سطوح آپولیپروتئین‌ها انجام نشده و اکثرا بر یکی از این آپولیپروتئین‌ها متمرکز بوده است. بنابراین انجام مطالعات بیشتر برای تعیین اثر مصرف مکمل DHA بر سطوح سرمی آپولیپروتئین‌های A1، A2، B48، C3 در بیماران

مقاومت انسولین در افراد چاق، ممکن است علت افزایش بیماری قلبی عروقی باشد (Chan et al. 2006). افزایش لیپید بعد از غذا و افزایش غلظت پلاسمایی اجزا باقیمانده شیلومیکرون و شیلومیکرون‌ها حاوی ApoB48 در شرایط مقاومت انسولین و چاقی نشان داده شده است (Xiao et al. 2014; Hassanali et al. 2010). متابولیسم مختل شده ApoC3 در افراد چاق ممکن است علت افزایش تری گلیسرید و افزایش احتمال ابتلا به بیماری قلبی عروقی باشد (Chan et al. 2010a).

اسیدهای چرب بلند زنجیر غیراشباع n³ Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA) تاثیرات مفید بسیاری بر اختلال لیپید و دیابت دارد (Ginsberg and Brown 2011). مطالعات از مصرف روغن ماهی (منبع غنی از اسید چرب n³) و استاتین‌ها برای درمان اختلال لیپیدها در مقاومت انسولین و چاقی حمایت می‌کند (Harris 1997; Mori and Beilin 2001). در مطالعات مکمل یاری با اسیدچرب n³ در افراد با دیابت نوع دو با کاهش سطح تری گلیسرید همراه بود، در حالی که تاثیرات متفاوتی بر سایر فراسنج‌های چربی مشاهده گردید (Petersen et al. 2002; Hartweg et al. 2008; Grimsgaard et al. 1997). مداخلات درمانی که سطح پلاسمایی HDL و ApoA1 را افزایش دهد، کنترل گلیسمی در افراد با دیابت نوع ۲ را بهبود می‌دهد. HDL و ApoA1 همچنین دیده شده افزایش HDL و ApoA1 سنتز انسولین را تقویت می‌کند (Cochran et al. 2014). روغن ماهی، به طور معنی داری کلسترول HDL پلاسما را افزایش می‌دهد (Chan et al. 2006). در دیگر مطالعات با مصرف مکمل DHA تغییر آماری معنی داری در کلسترول HDL مشاهده نشد (Hartweg et al. 2008; Montori et al. 2000). در مطالعه ای با مصرف مکمل DHA، سطوح سرمی ApoA1 کاهش یافت (Grimsgaard et al. 1997). استاتین‌ها در کاهش لیپوپروتئین‌های

نمونه در هر گروه ۱۸ نفر تعیین گردید. با در نظر گرفتن ریزش ۲۰٪ حجم نمونه برابر ۲۲ نفر تعیین شد (Theobald et al. 2004).

$$n = \frac{(\delta_1^2 + \delta_2^2) \times (z_{1-\alpha/2} + z_{1-\beta})^2}{(d)^2}$$

از ۴۴ فرد شرکت کننده، ۲۲ نفر به طور تصادفی با استفاده از جدول اعداد تصادفی، در گروه دریافت کننده DHA و ۲۲ نفر در گروه دریافت کننده دارونما قرار گرفتند سن، جنس، استعمال دخانیات، داروی مصرفی کنترل کننده قند خون، داروی مصرفی کاهنده چربی خون، سطوح ApoA1، ApoA2، ApoC3، ApoB48، سرم، نمایه توده بدن (BMI)، غلظت تری گلیسرید (TG)، غلظت کلسترول تام (Total Cholesterol (TC)، غلظت Lipoprotein (LDL_c)، غلظت HDL_c، قند خون ناشتا (Fasting Blood Sugar (FBS)، HbA1c، دور کمر، انسولین بین دو گروه کنترل و دارونما اندازه گیری و مقایسه گردید.

در ابتدای مطالعه پرسشنامه حاوی مشخصات فردی، تعداد سال‌های ابتلا به دیابت، وجود بیماری دیگر و عوارض ناشی از دیابت و تاریخچه مصرف دارو تکمیل شد. در ابتدا و انتهای مطالعه، وزن افراد با حداقل لباس، بدون کفش و در حالت ناشتا با استفاده از ترازوی سکا با دقت ۱۰۰ گرم در هنگام صبح اندازه گیری گردید. قد افراد در وضعیت ایستاده، سرمستقیم، بدون کفش، پاشنه پا چسبیده به دیوار و با دقت ۰/۵ سانتیمتر اندازه‌گیری گردید. دور کمر با حداقل لباس و به وسیله متر غیرقابل ارتجاع در ناحیه زیر آخرین دنده اندازه گیری شد. BMI با استفاده از تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجذور قد به متر به توان دو (Kg/m^2) محاسبه شد.

۱۲۰ عدد کپسول‌های مکمل و دارونما در قوطی های سفید رنگ کاملاً مشابه و توسط فردی که در هیچ یک از مراحل مداخله دخالت نداشتند به افراد تحویل داده شد.

دیابتی نوع دو ضروری به نظر می‌رسد و پژوهش حاضر بر این اساس انجام گردید.

روش کار

این کارآزمایی بالینی موازی، تصادفی دو سوکور کنترل شده با دارونما، در ادامه بررسی قبلی صورت گرفت (Mansoori et al. 2015). در این پژوهش بیماران دیابتی نوع دو مراجعه کننده به کلینیک تخصصی دیابت و بیماری‌های متابولیک پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم شهر تهران وارد مطالعه شدند. پیش از شروع مطالعه از بیماران رضایت نامه کتبی اخذ گردید.

معیارهای ورود شرکت کنندگان زن و مرد در مطالعه، ابتلا به دیابت نوع ۲ (حداقل سه ماه از زمان تشخیص آن گذشته باشد)، BMI بین ۱۸/۵ تا ۴۰ کیلوگرم بر مترمربع، و محدوده سنی ۷۰-۳۰ سال بود. معیارهای خروج از مطالعه، عدم تمایل شرکت کنندگان به ادامه مطالعه، دریافت ماهی یا مکمل n۳ و ویتامین های محلول در چربی و محلول در آب، ابتلا به اختلالات کبدی، کلیوی و انعقادی و مشکلات غده تیروئید، مصرف داروهای انسولین، تiazولیدین دیون ها، مهارکننده انعقاد، ضد التهاب، سابقه آلرژی به ماهی یا روغن ماهی، باردار یا شیرده بودن، عدم استفاده بیش از ۱۰٪ کپسول‌های روغنی بود. جهت انتخاب افراد برای مداخله در اولین تماس معیارهای ورود و عدم ورود و خروج در نظر گرفته شد و گروه شاهد نیز معیارهای فوق را داشتند و مایل به اجرای مداخله بودند (Mansoori et al. 2015).

در این کارآزمایی بالینی اثر مصرف مکمل DHA بر سطوح سرمی آپولیپوپروتئین های A1، A2، B48، C3 در بیماران دیابتی نوع ۲ مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به مطالعه Theobald و همکارانش و با در نظر گرفتن خطای نوع اول و دوم به ترتیب برابر ۰/۰۵ و ۰/۱ و با توجه به تاثیر مداخله DHA بر سطوح آپو B برابر ۰/۰۳ گرم بر لیتر و انحراف معیار در گروه اول برابر با ۰/۰۲۷ و در گروه دوم برابر با ۰/۰۲۸ مطابق با فرمول ذیل حجم

انجام آزمایشات، در فریزر ۸۰- درجه سانتی گراد نگهداری شده است.

پروفایل لیپیدی (HDL-c, LDL-c, TG, TC) و FBS با متد رنگ سنجی آنزیمی به وسیله دستگاه اتوآنالیزر با استفاده از کیت های تجاری (پارس آزمون، ایران) اندازه گیری گردد.

HbA1c با استفاده از متد High-performance liquid chromatography (HPLC) انجام گردید. انسولین سرم نیز با استفاده از کیت الایزا (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Monobind, USA) اندازه گیری شد.

آزمایشات مربوط به اندازه گیری سطوح ApoA1, ApoA2, ApoC3 با استفاده از کیت الایزا شرکت Assaypro و ApoB48 با استفاده از کیت الایزا شرکت Mybiosource به روش آنزیمی استفاده شد.

از نرم افزار آماری SPSS 16 جهت تجزیه و تحلیل داده ها استفاده شد. جهت مقایسه متغیرهای کیفی بین گروهها از آزمون درصد، نسبت، آزمون مجذور کا و برای مقایسه متغیرهای نرمال کمی از آزمون t مستقل، به صورت میانگین و انحراف معیار استفاده گردید. آنالیز Univariate Linear Model جهت بررسی واکنش ها با تاثیر مخدوشگرها (سن، جنس، تغییرات HDL، تغییرات LDL) استفاده شد. P-value کمتر از ۰/۰۵ معنی داری تلقی گردید.

نتایج

بیماران در محدوده سنی ۶۷-۳۳ سال و با BMI مساوی و بیشتر از ۲۲/۵ و کمتر از ۴۰ کیلوگرم بر متر مربع بودند. در ابتدای مطالعه، گروه دریافت کننده DHA دارونما، از لحاظ متغیرهای جنسیت، اختلالات قلبی عروقی یا فشارخون، کلیوی و کبدی، نوروپاتی و رتینوپاتی، سابقه ابتلا به دیابت، مصرف داروهای کاهنده قند خون، مصرف داروهای کاهنده چربی خون، استعمال دخانیات و مصرف الکل و همچنین متغیرهای کمی سن، BMI، Waist

تا انتهای مداخله محقق و بیمار از نوع قوطی ها آگاه نبودند. مکمل روغن ماهی غنی از DHA به مدت ۸ هفته استفاده گردید. نام تجاری این مکمل DHA Ultimate Pure Encapsulations می باشد که از شرکت (Boston, USA) تهیه شده بود. هر کپسول روغنی حاوی ۶۰۰ میلی گرم روغن ماهی بدون یو حاوی Vit E=1IU و EPA =۱۰۰mg, DHA=362/5mg بود. دارونما هم شکل، هم رنگ و هم اندازه کپسول های روغنی مکمل، محتوی پارافین، از شرکت زهراوی (تبریز، ایران) تهیه شد. در اولین مراجعه ۱۲۰ عدد کپسول برای مصرف یکماه به بیماران داده شد. دستور مصرف این مکمل های روغنی را به صورت دو عدد بعد از صبحانه و دو عدد بعد از شام بود. شرکت کنندگان گروه کنترل نیز به همین شکل دارونما استفاده کردند. در نتیجه افراد ۲۴۰۰ میلی گرم روغن ماهی (حاوی DHA=۱۴۵۰mg و EPA =۴۰۰mg) و دارونما استفاده کردند. پس از یک ماه، بیماران پس از مصرف اولین قوطی، دومین قوطی را دریافت می کردند. به بیماران آموزش داده شد تعداد کپسول های مصرفی خود را در روز در فرم یادداشت کنند و در هنگام دریافت دومین قوطی، فرم را تحویل دهند. همچنین از آن ها تقاضا شد که رژیم غذایی، فعالیت بدنی و داروهای مورد استفاده خود را تغییر ندهند، در صورتی که تغییری ایجاد شد، آن را در فرم خود یادداشت کنند. پس از هر دو هفته با بیماران تلفنی تماس گرفته می شد و وضعیت مصرف کپسول ها پرسیده می شد. همچنین به آنها یادآوری می شد که سبک زندگی و داروهای مصرفی خود را تغییر ندهند. همچنین تکمیل پرسشنامه بسامد خوراک و همچنین زمان مراجعات به آنها یادآوری می شد.

عمل خونگیری صبح روز اول و آخر مداخله، در آزمایشگاه کلینیک تخصصی دیابت پژوهشکده علوم غدد و متابولیسم دانشگاه تهران از بیماران با ۱۲ ساعت ناشتایی انجام شد نمونه های خون تهیه شده تا زمان

میانگین تغییرات غلظت این فاکتور در دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/63$)، همچنین با کنترل اثر سن و جنس نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/53$).

میانگین غلظت ApoB48 قبل از مداخله بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/49$). پس از مداخله نیز، میانگین غلظت این فاکتور در گروه دریافت‌کننده مکمل DHA تفاوت معنی‌داری نداشت ($p=0/77$) و در گروه دارونما نیز تفاوت معنی‌داری نداشت ($p=0/76$) و همچنین بین دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/23$).

میانگین تغییرات غلظت این فاکتور در دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/67$)، همچنین با کنترل اثر سن و جنس نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/81$).

میانگین غلظت ApoC3 قبل از مداخله بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/10$). پس از مداخله نیز، میانگین غلظت ApoC3 در گروه دریافت‌کننده مکمل DHA تفاوت معنی‌داری نداشت ($p=0/85$) و در گروه دارونما نیز تفاوت معنی‌داری نداشت ($p=0/10$)، اما بین دو گروه دریافت‌کننده مکمل و دارونما کاهش آماری معنی‌داری داشت ($p=0/03$).

میانگین تغییرات غلظت Apo C3 در دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/38$) و با کنترل اثر سن و جنس نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/44$).

بحث

ترکیب اسیدهای چرب رژیم غذایی متابولیسم لیپید و لیپوپروتئین‌ها را تنظیم می‌کند و می‌تواند مزیت‌هایی بسیاری داشته باشد، برای شناخت تأثیرات اسیدهای چرب رژیم غذایی بر متابولیسم لیپوپروتئین، غالباً بر اسیدهای چرب PUFA تمرکز شده است (Ooi et al. 2013).

(WC)، FBS، HbA1C، پروفایل لیپیدی، فعالیت بدنی مشابه بودند و تفاوت معنی‌داری نداشتند. میانگین BMI در هر دو گروه نشان داد که بیماران دارای اضافه وزن می‌باشند. میانگین HbA1c در هر دو گروه بالاتر از ۸ نشان داد که بیماران کنترل گلاسیمی نامناسب داشتند. مقایسه TG نشان داد که گروه دریافت‌کننده مکمل افزایش چربی خون داشتند (جدول ۱).

در زمان شروع مداخله، مقادیر پروفایل لیپیدی بین گروه دریافت‌کننده مکمل و دارونما تفاوت معنی‌داری نداشت. مقایسه تغییرات مقادیر بین گروه‌های دریافت‌کننده مکمل و دارونما نشان داد، مکمل DHA باعث کاهش معنی‌دار TG می‌گردد ($p=0/00$). در دیگر متغیرهای لیپیدی و همچنین کنترل گلاسیمی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۲).

در جدول ۳ مقایسه سطوح لیپوپروتئین‌های بررسی شده در هر گروه و بین گروه‌ها گزارش شده است. میانگین غلظت ApoA1 قبل از مداخله بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/97$). پس از مداخله نیز، میانگین غلظت ApoA1 در گروه دریافت‌کننده مکمل به میزان $0/22 \mu\text{g/ml}$ افزایش معنی‌داری داشت ($p=0/01$) ولی در گروه دارونما تغییر معنی‌داری نداشت ($p=0/24$).

میانگین تغییرات غلظت ApoA1 در دو گروه مورد مطالعه در انتهای مداخله تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/28$)، با کنترل اثر سن و جنس نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/32$).

میانگین غلظت ApoA2 قبل از مداخله بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری نداشت ($p=0/36$). پس از مداخله نیز، میانگین غلظت ApoA2 در گروه دریافت‌کننده مکمل DHA تفاوت معنی‌داری با غلظت آن قبل از مداخله نداشت ($p=0/95$) و در گروه دارونما نیز تفاوت معنی‌داری در آغاز و پایان مداخله وجود نداشت ($p=0/41$) و همچنین بین دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ($p=0/58$).

مکمل DHA، میانگین غلظت ApoA1 به میزان ۰/۲۲ میکرومول بر میلی لیتر افزایش معنی‌داری نشان داد اما میانگین غلظت سرمی Apo A1 پس از انجام مداخله بین دو گروه دریافت‌کننده مکمل DHA و دارونما تفاوت آماری معنی‌داری نداشت. همراستا با نتایج مطالعه حاضر، در یک مطالعه متقاطع یک سو کور نشان دادند در طول یک ماه مکمل یاری با دو مقدار ۴ و ۷/۵ گرم روغن ماهی به صورت جداگانه در مقایسه با ۱۲ گرم روغن دانه آفتابگردان به عنوان دارونما در افراد دیابتی نوع دو، سطوح HDL و ApoA1 در طی مدت مکمل یاری با روغن ماهی تغییر معنی‌داری نداشت (Schectman et al. 1988). همچنین، در مطالعه‌ای دیگر، ۴۴ فرد با سطح لیپیدی نرمال برای ۴ هفته در یک مطالعه دو سو کور کنترل شده با دارونما مکمل یاری EPA و DHA را دریافت کردند. در داخل گروه‌های درمانی هیچ تغییر معنی‌داری در ApoA1 دیده نشد (Buckley et al. 2004).

علی‌رغم این که برخلاف مطالعه حاضر، در بخشی از یک مطالعه‌ای مقطعی تاثیر DHA را در مقایسه با EPA مطالعه کردند و مشاهده شد DHA همبستگی آماری معنی‌دار منفی با کلسترول HDL و ApoA1 داشت. علت این اثر می‌تواند مربوط به تفاوت‌های متابولیکی DHA و EPA باشد. از جمله این که DHA از بافت چربی آزاد می‌شود و تاثیر متفاوتی در فعالیت پروتئین جابجا‌کننده چربی (LTP) و کلسترول آسیل ترانسفراز (LCAT) دارد (Bonaa et al. 1992). در جهت بررسی مکانیسم این اثر در مطالعه‌ای بیان شده است که DHA از طریق کاهش فاکتور هسته ای کبدی B³ بیان ژن ApoA1 را کاهش می‌دهد. DHA از اتصال HNF-3B به پروموتور ApoA1 جلوگیری می‌کند و در نتیجه منجر به سرکوب انتقال پروموتور ApoA1 و در نهایت کاهش بیان ApoA1 می‌گردد (Kuang et al. 2011). اما همراستا با بخشی از این مطالعه (افزایش ApoA1 در گروه دریافت‌کننده مکمل)، مطالعه‌ای مقطعی پیشنهاد می‌کند که سطوح سرمی بالاتر اسیدهای چرب n³ با افزایش سطح ApoA1

در مطالعه حاضر، تری‌گلیسرید در گروه دریافت‌کننده مکمل DHA، به میزان ۲۷٪ کاهش یافت. در همین راستا، نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که مکمل یاری با روغن ماهی می‌تواند سبب کاهش تری‌گلیسرید شود (Schectman et al. 1988; Kelley et al. 2007; Reis et al. 2014; Mansoori et al. 2015; Woodman et al. 2002; Pirillo and Catapano 2013) اما تاثیرات متفاوتی بر سطوح HDL و LDL دیده شد. در برخی با دریافت روغن ماهی، سطح LDL-c افزایش پیدا کند (Schectman et al. 1988; Kelley et al. 2007; Reis et al. 2014) و در حالی که در مطالعه‌ای دریافت ۴ گرم اسیدهای چرب n³ بر سطح LDL و HDL بی‌اثر بود (Woodman et al. 2002). ارتباط وابسته به دوز دریافت اسیدهای چرب n³ (Schectman et al. 1988; Pirillo and Catapano 2013; Conquer and Holub 1998) و وابسته به طول مدت در دریافت اسیدهای چرب n³ بر سطوح فراسنج‌های چربی دیده شده است (Conquer and Holub 1998). در مطالعه‌ای همسو با این مطالعه، کلسترول تام و LDL با مصرف اسیدهای چرب n³ تغییر معنی‌داری نداشت، اما در آن‌هایی که تفاوت معنی‌دار ایجاد شده بود، می‌توان به علت دوز مصرفی بیشتر از ۲ گرم در روز باشد. در مطالعات مشابه با مطالعه حاضر، تغییر معنی‌داری در سطوح HDL دیده نشد. در حالی که بعضی مطالعات با دوز بیشتری از ۳ گرم مکمل DHA یا در مدت زمان بیشتری افزایش سطوح HDL مشاهده گردید.

ApoA1 بخش مهمی از HDL می‌باشد (Maiga et al. 2014). ApoA1 به عنوان لیگاند گیرنده HDL در سطح سلول‌های کبدی، از طریق برداشت کلسترول از بافت، فعال کردن آنزیم لستین کلسترول آسیل ترانسفراز (LCAT) در متابولیسم HDL موثر است (Eftiari et al. 2005). روغن ماهی می‌تواند بر متابولیسم HDL از طریق ApoA1 تاثیر گذارد (Chan et al. 2006). در این مطالعه، با وجود این که در گروه دریافت‌کننده

Apo B48 مشخص کننده اجزا شیلومیکرون روده است که این آپولیپوپروتئین تنها در روده انسان ساخته می‌شود و مناسب ترین شاخص برای تحقیقات تغذیه‌ای در زمینه متابولیسم شیلومیکرون‌ها بعد از غذا می‌باشد (Nakajima et al. 2014). در بیشتر مطالعات، مشاهده کردیم دریافت اسیدهای چرب n^3 می‌تواند غلظت **Apo B48** روده‌ای را کم کنند (Valdivielso et al. 2009). فرضیه این مطالعه هم این بود که مصرف مکمل **DHA** می‌تواند باعث تغییرات سطح سرمی **Apo B48** شود اما این اثر مشاهده نشد. همسو با نتایج بررسی حاضر مشاهده شد، بعد از ۵ هفته مکمل یاری با $4/5$ گرم ایکوزانوئیک اسید و دوکوزاهگزانوئیک اسید روزانه تغییرات **ApoB** و کلسترول تام در مقایسه با گروه کنترل اثر معنی دار نداشت (Cobiac et al. 1991).

بر خلاف نتایج این مطالعه، در یک گزارش مقدماتی زمانی که بیماران دیابتی نوع دو و دارای چربی خون بالا با رژیم به تنهایی، رژیم و 80 میلی گرم فلاواستاتین، رژیم و 80 میلی گرم فلاواستاتین و 4 گرم اسیدهای چرب n^3 درمان می‌شدند، فراسنج های چربی ناشتا آنان اندازه‌گیری شد. گروه دریافت کننده فلاواستاتین، کاهش 14% در **Apo B48** داشت. در حالی که، اضافه کردن اسیدهای چرب n^3 باعث 36% کاهش در **Apo B48** شد (Valdivielso et al. 2009). در بیماران با چربی خون بالا، سطح **Apo B** با مصرف دوز بالا ($3/4$ گرم **DHA+EPA**) اسیدهای چرب n^3 نسبت به دوز پایین ($0/85$ گرم **DHA+EPA**) و دارونما به طور معنی داری کاهش یافت (Skulas-Ray et al. 2015). در مطالعه‌ای دیگر، با هدف بررسی تاثیرات ایکوزاپنتانوئیک اسید و دوکوزا هگزانوئیک اسید بر ساخت و ترشح شیلومیکرون و **VLDL** مشاهده شد، **EPA** و **DHA** باعث کاهش معنی داری در ساخت و ترشح سلولی **Apo B48** گردید (Wang et al. 2014). البته در مطالعه مذکور، تاثیر مستقیم اسیدهای چرب n^3 (نه از طریق مکمل یاری و یا رژیم غذایی) را بر ساخت و ترشح

سرمی، ارتباط دارد (Tani et al. 2015). که البته در این مطالعه حجم نمونه زیادی بررسی گردید و با حجم نمونه مطالعه حاضر، متفاوت می‌باشد. احتمالاً با افزایش حجم نمونه بتوان تفاوت معنی داری با مقایسه تغییرات سطوح **ApoA1** سرمی بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده کرد.

ApoA2 بخش مهم دیگر از **HDL** است و یک عامل تنظیمی برای متابولیسم **HDL** می‌باشد (Maiga et al. 2014). نقش بازدارندگی در فعالیت **ApoA1** و آنزیم لستین کلسترول آسپیل ترانسفراز (**LCAT**) دارد (Ekhtiari et al. 2005). در مطالعات، دوکوزاهگزانوئیک اسید باعث افزایش سطح سرمی **HDL** شده است (Grimsgaard et al. 1997; Jacobson et al. 2012; Valdivielso et al. 2009). یافته‌ها نشان داد که ضمن مداخله، میانگین غلظت سرمی **ApoA2** در هر دو گروه دریافت کننده مکمل **DHA** و دارونما و همچنین بین دو گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی داری نداشت. در تایید یافته‌های مطالعه حاضر، در پژوهشی تاثیر مکمل یاری اسیدهای چرب n^3 و آتروواستاتین را در کیتیک **HDL ApoA1** و **ApoA2** را بررسی کردند. دریافت 4 گرم در روز روغن ماهی و 40 میلی گرم در روز آتروواستاتین، به مدت 6 هفته در مردان چاق **HDL** را افزایش داد، در حالی که کاتابولیسم **HDL ApoA2** را به طور معنی-داری کاهش داد. این وضعیت با کاهش معنی دار در میزان تولید این آپولیپوپروتئین همراه شد و در نتیجه آن غلظت **HDL ApoA2** تغییر معنی داری نکرد. در حالی که آتروواستاتین تاثیر معنی‌داری بر **HDL ApoA2** نداشت. در نتیجه، روغن ماهی، در متابولیسم **HDL** موثر بود (Chan et al. 2006). با بررسی مطالعات به این نتیجه رسیدیم که تاثیر اسیدهای چرب n^3 بر روی سطح **ApoA2** در مطالعات محدودی بررسی شده است و با وجودی این که نتیجه این مطالعه همسو با مطالعه ما است. در نهایت، انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

2010b). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات TG در این مطالعه از مسیر ApoC3 نمی‌باشد و لازم است برای روشن نمودن مکانیسم تغییرات TG بر روی سایر مسیرها تمرکز نمود.

در مطالعه دیگر با بررسی دوزهای مختلف اسیدهای چرب n3 دریایی به این نتیجه رسیدند که دوز بالا (۳/۴ گرم) اسیدهای چرب n3 نسبت به دوز پایین (۰/۸۵ گرم) و دارونما، غلظت ApoC3 را به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد (Skulas-Ray et al. 2015). مغایرت نتایج مطالعه حاضر با این مطالعه می‌تواند به علت تفاوت دوز مصرفی مکمل DHA باشد.

از طرفی محدوده تغییرات وسیع در سطوح تری‌گلیسرید جمعیت انسانی با دگرگونی ژنتیکی در مکان کروموزومی کد کننده ژن های ApoC3 و خوشه‌های ژنی ApoA1/C3/A4/A5 مرتبط است (van Dijk et al. 2004). مغایرت نتایج بررسی حاضر با فرضیات، می‌تواند مربوط به پلی‌مرفیسم‌های ژنی در جمعیت مورد مطالعه می‌باشد. از نقاط قوت مطالعه می‌توان به بررسی ارتباط مکمل یاری DHA با مجموعه سطوح غلظت آپولیپوپروتئین های A1, A2, B48, c3 در بیماران دیابتی نوع ۲ برای اولین بار و همچنین استفاده از مقادیری از اسید چرب امگا ۳ بود که به راحتی با استفاده از مکمل های روغن ماهی رایج قابل دست یابی است، ضمن اینکه درجه خالص بودن مکمل اسیدهای چرب امگا ۳ ۷۷٪ بود که این میزان خوب و بالا می‌باشد، اشاره کرد. در مطالعه حاضر به علت محدودیت محدودیت مالی و آزمایشگاهی، سطح اسیدهای چرب خون ارزیابی نشد و همچنین پیشنهاد می‌شود برای بررسی دقیقتر اثر n3 بر آپولیپوپروتئین ها و قابلیت تعمیم آن به جامعه، در مطالعات آینده مقادیر بالاتر n3 در جمعیت غیر دیابتی و با حجم نمونه بیشتر مورد تحقیق قرار گیرد.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد زمانی که بیماران دیابتی نوع دو با اسیدهای چرب امگا ۳، مکمل یاری می

سلولی Apo B48 را بررسی کرده است که از این جهت با مطالعه حاضر متفاوت می‌باشد.

در نتیجه با بررسی نتایج به نظر می‌آید اثر اسیدهای چرب n3 بر Apo B48 وابسته به دوز است، ممکن است علت ناهم‌سویی با نتایج ما به علت مصرف دوز پایین تر (۲/۴ گرم در روز) باشد، ضمناً سطح اولیه مقدار تری‌گلیسرید افراد شرکت کننده می‌تواند در نتایج مطالعه تاثیر گذار باشد.

ApoC3 یکی از اجزا لیپوپروتئین با چگالی بسیار پایین (VLDL) است (Ginsberg and Brown 2011) ApoC3 نشانگری است که با لیپوپروتئین های غنی از TG مرتبط است. اسیدهای چرب n3 موجود در روغن ماهی، برای کاهش این آپولیپوپروتئین شناخته شده هستند (Olivieri et al. 2005). بنابراین فرضیه تحقیق حاضر، این بود که دریافت مکمل DHA می‌تواند باعث کاهش غلظت سطح سرمی ApoC3 گردد. اگرچه پس از مداخله، میانگین غلظت این آپولیپوپروتئین در هر یک از گروه دریافت کننده مکمل DHA و دارونما به تنهایی تفاوت آماری معنی‌داری نداشت اما پس از مقایسه میانگین غلظت ApoC3 پس از اجرای مداخله بین دو گروه دریافت کننده مکمل DHA و دارونما کاهش آماری معنی‌داری مشاهده شد.

در راستای نتایج مطالعه حاضر، در پژوهشی دو سو کور کنترل شده با دارونما مکمل یاری با ۴/۹ گرم DHA در روز به مدت ۴ هفته، در داخل گروه های درمانی هیچ تغییر معنی‌داری در ApoC3 مشاهده نگردید (Buckley et al. 2004). و در یک مداخله تصادفی ۶ هفته‌ای تاثیرات مستقل و مشترک ۴۰ میلی گرم آترواستاتین در روز و ۴ گرم روغن ماهی در روز را بر روی متابولیسم Apo C3 VLDL، با گروه دارونما کنترل شد. روغن ماهی، غلظت ApoC3 VLDL را به طور معنی‌داری تغییر نداد. درمان مشترک با روغن ماهی هیچ مزیت بیشتری نسبت به آترواستاتین به تنهایی، بر روی غلظت ApoC3 VLDL نداشت (Chan et al.)

تشکر و قدرانی

این مطالعه ضمن حمایت مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران با کد IR.TUMS.REC.94-01-161-28846 کمیته اخلاق و شماره پایان نامه ۹۲۱۱۳۲۳۰۰۵ انجام شده است. از تمامی شرکت کنندگان که بدون آنها انجام این مطالعه میسر نبود، سپاسگزاریم.

شوند، سطح تری گلیسرید کاهش می‌یابد. مکمل یاری با n۳ می‌تواند باعث افزایش غلظت ApoA1 در گروه دریافت کننده مکمل گردد و بی اثر بر سطوح سرمی ApoB48، ApoA2 و علی رغم این که پس از اجرای مداخله سطوح سرمی ApoC3 بین دو گروه تفاوت معنی داری نشان داد اما پس از مقایسه تغییرات بین دو گروه، این تفاوت معنی دار از بین رفت.

جدول ۱ - مقایسه ویژگی های پایه بیماران دیابتی نوع دو شرکت کننده در مطالعه بین گروه دریافت کننده مکمل DHA و دارونما قبل از مداخله

p-value*	دریافت کننده دارونما (۲۲=تعداد)		دریافت کننده مکمل (۲۲=تعداد)		متغیر
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
۰/۵۴	۹	۴۰/۹	۵۰	۱۱	جنس
	۱۳	۵۹/۱	۵۰	۱۱	مرد
۰/۶۱	۳	۱۳/۶	۱۸/۲	۴	زن
	۱۹	۸۶/۴	۸۱/۸	۱۸	اختلالات قلبی عروقی یا فشار خون
۰/۵۰	۱	۴/۵	۴/۵	۱	بله
	۲۱	۹۵/۵	۹۵/۵	۲۱	خیر
۰/۵۰	۳	۱۳/۶	۱۸/۲	۴	سابقه اختلالات کلیوی یا کبدی
	۱۹	۸۶/۴	۸۱/۸	۱۸	بله
۰/۳۴	۱۷	۷۷/۳	۸۶/۴	۱۹	خیر
	۵	۲۲/۷	۱۳/۶	۳	سابقه نوروپاتی یا رتینوپاتی
۰/۳۳	۱۹	۸۶/۴	۹۰/۹	۲۰	بله
	۳	۱۳/۶	۹/۱	۲	خیر
۰/۷۶	۱۱	۵۰	۵۹/۱	۱۳	مصرف داروهای کاهنده قند خون
	۱۱	۵۰	۴۰/۹	۹	بله
۰/۶۹	۲	۹/۱	۹/۱	۲	خیر
	۲۰	۹۰/۹	۹۰/۹	۲۰	مصرف داروهای کاهنده چربی خون
۰/۷۵	۱	۴/۵	۴/۵	۱	بلی
	۲۱	۹۵/۵	۹۵/۵	۲۱	خیر

*جهت مقایسه فراوانی ها از آزمون Chi-square استفاده شد.

جدول ۲- مقایسه ویژگی های پایه بیماران دیابتی نوع دو شرکت کننده در مطالعه بین گروه دریافت کننده مکمل DHA و دارونما قبل از مداخله

متغیر	دریافت کننده مکمل (تعداد=۲۲)	دریافت کننده دارونما (تعداد=۲۲)	p-value*	p-value**
وزن (kg)	۲۷/۷۸±۶۵/۱۳	۲۵/۷۶±۳۴/۱۲	۰/۶۰	۰/۸۳
BMI (kg/m ²)	۲۸/۶۸±۷۲/۳	۲۸/۳۵±۲۳/۴	۰/۷۸	۰/۷۵
WC (cm)	۹۵/۸۶±۱۰/۲۵	۹۱/۰۲±۱۰/۲۹	۰/۴۷	۰/۵۴
FBS (mg/dL)	۰۰/۱۷۸±۱۹/۷۲	۵۹/۱۶۴±۴۹/۵۴	۰/۴۹	۰/۳۹
HBA1C	۸/۶۰±۲/۳۴	۸/۵۸±۱/۶۹	۰/۹۸	۰/۸۵
TG (mg/dL)	۲۰۳/۰۵±۱۲۸/۰۹	۱۴۸/۸۲±۶۳/۶۱	۰/۰۸	۰/۱۲
TC (mg/dL)	۱۸۸/۵۵±۵۰/۸۵	۱۶۹/۵۵±۲۲/۱۹	۰/۱۱	۰/۱۱
HDL (mg/dL)	۴۷/۸۶±۱۰/۶۷	۴۶/۸۲±۹/۲۰	۰/۷۳	۰/۴۱
LDL (mg/dL)	۹۷/۸۶±۳۱/۴۳	۸۷/۵۹±۱۴/۹۳	۰/۱۷	۰/۱۸
فعالیت بدنی (MET-h/day)	۸۰/۳۴±۲۴/۳	۸۰/۳۶±۳۱/۵	۰/۱۴	۰/۱۱
انسولین ناشتا (mU/L)	۸/۰۷±۵/۴۴	۷/۹۵±۴/۵۸	۰/۹۳	۰/۹۹

مقادیر متغیرها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشد.

* جهت مقایسه میانگین ها از آزمون t مستقل (Independent Student's t-test) استفاده شد.

** جهت مقایسه میانگین ها با کنترل اثر سن، جنس از آزمون Univariate Analysis of Variance استفاده شد.

جدول ۳- مقایسه غلظت سرمی آپولیپروتئین ها بین گروه دریافت کننده مکمل DHA و دارونما قبل و بعد از مداخله

p-value ****	p-value ***	p-value **	p-value *	دریافت کننده دارونما (۲۲=تعداد)		دریافت کننده مکمل (۲۲=تعداد)		قبل از مداخله	بعد از مداخله	p-value (paired sample t-test)	قبل از مداخله	بعد از مداخله	
				قبل از مداخله	بعد از مداخله	قبل از مداخله	بعد از مداخله						
				۰/۲۴	۱/۵۸±۰/۲۸	۰/۰۱	۱/۷۰±۰/۲۸	۱/۴۸±۰/۳۴					ApoA1 غلظت سرمی
۰/۳۲	۰/۲۸				۰/۰۹±۰/۳۸		۰/۲۲±۰/۳۹						ApoA1 تغییرات غلظت سرمی
				۰/۴۱	۱/۵۲±۲۹/۸۰	۰/۹۵	۱/۶۷±۱۲۶/۱	۱/۱۶۸±۱۱۳/۸۹					ApoA2 غلظت سرمی
۰/۵۳	۰/۶۳				۶/۸۳±۳۸/۴۳		-۰/۸۱±۶۳/۰۶						ApoA2 تغییرات غلظت سرمی
				۰/۷۶	۳۶/۳۹±۲۸/۹۹	۰/۷۷	۴۵/۱۸±۱۷/۸۰	۴۳/۷۵±۲۸/۴۰					ApoB48 غلظت سرمی
۰/۸۱	۰/۶۷				-۱/۰۶±۱۶/۵۸		۱/۴۳±۲۲/۶۱						ApoB48 تغییرات غلظت سرمی
				۰/۱۰	۴۵/۳۵±۲۵/۹۱	۰/۸۵	۶۵/۷۹±۳۴/۰۵	۶۶/۵۶±۳۵/۲۶					ApoC3 غلظت سرمی
۰/۴۴	۰/۳۸				-۵/۲۱±۱۴/۲۹		-۰/۷۶±۱۹/۰۷						ApoC3 تغییرات غلظت سرمی

مقادیر متغیرها به صورت میانگین ± انحراف معیار می باشد.

* جهت مقایسه غلظت آپولیپروتئین ها بین دو گروه دریافت کننده مکمل و دارونما بدون کنترل مخدوش گر ها قبل از مداخله از آزمون t مستقل (Independent Student's t-test) استفاده گردید.

** جهت مقایسه غلظت آپولیپروتئین ها بین دو گروه دریافت کننده مکمل و دارونما بدون کنترل مخدوش گر ها بعد از مداخله از آزمون t مستقل (Independent Student's t-test) استفاده گردید.

*** جهت مقایسه تغییرات آپولیپروتئین ها بین دو گروه دریافت کننده مکمل و دارونما از آزمون t مستقل (Independent Student's t-test) استفاده گردید.

**** جهت مقایسه تغییرات آپولیپروتئین ها بین دو گروه دریافت کننده مکمل و دارونما با کنترل تاثیر متغیر سن و جنس از آزمون Univariate Analysis of Variance استفاده گردید.

References

- Bonaa, K.H., Bjerve, K.S. and Nordoy, A., 1992. Habitual fish consumption, plasma phospholipid fatty acids, and serum lipids: the Tromso study. *Am J Clin Nutr*, 55, pp. 1126-34.
- Buckley, R., Shewring, B., Turner, R., Yaqoob, P. and Minihane, A.M., 2004. Circulating triacylglycerol and apoE levels in response to EPA and docosahexaenoic acid supplementation in adult human subjects. *Br J Nutr*, 92, pp. 477-83.
- Chan, D.C., Chen, M.M., Ooi, E.M. and Watts, G.F., 2008. An ABC of apolipoprotein C-III: a clinically useful new cardiovascular risk factor? *Int J Clin Pract*, 62, pp. 799-809.
- Chan, D.C., Nguyen, M.N., Watts, G.F., Ooi, E.M. and Barrett, P.H., 2010a. Effects of atorvastatin and n-3 fatty acid supplementation on VLDL apolipoprotein C-III kinetics in men with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr*, 91, pp. 900-906.
- Chan, D.C., Nguyen, M.N., Watts, G.F., Ooi, E.M. and Barrett, P.H.R., 2010b. Effects of atorvastatin and n-3 fatty acid supplementation on VLDL apolipoprotein C-III kinetics in men with abdominal obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91, pp. 900-906.
- Chan, D.C., Watts, G.F., Nguyen, M.N. and Barrett, P.H., 2006. Factorial study of the effect of n-3 fatty acid supplementation and atorvastatin on the kinetics of HDL apolipoproteins A-I and A-II in men with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr*, 84, pp. 37-43.
- Cobiac, L., Clifton, P.M., Abbey, M., Belling, G.B. and Nestel, P.J., 1991. Lipid, lipoprotein, and hemostatic effects of fish vs fish-oil n-3 fatty acids in mildly hyperlipidemic males. *Am J Clin Nutr*, 53, pp. 1210-1216.
- Cochran, B.J., Bisoesndial, R.J., Hou, L., Glaros, E.N., Rossy, J., Thomas, S.R., Barter, P.J. and Rye, K.A., 2014. Apolipoprotein A-I increases insulin secretion and production from pancreatic beta-cells via a G-protein-cAMP-PKA-FoxO1-dependent mechanism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 34, pp. 2261-2267.
- Conquer, J.A. and Holub, B.J., 1998. Effect of supplementation with different doses of DHA on the levels of circulating DHA as non-esterified fatty acid in subjects of Asian Indian background. *J Lipid Res*, 39, pp. 286-92.
- Dixit, A. K., Dey, R., Suresh, A., Chaudhuri, S., Panda, A. K., Mitra, A. and Hazra, J., 2014. The prevalence of dyslipidemia in patients with diabetes mellitus of ayurveda Hospital. *J Diabetes Metab Disord*, 13, P. 58.
- Ekhtiari, H., Jannati, A., Moghimi, B., Nuryan, A.R., Fyazzadeh, E. and Mirzaee, M.Ed., 2005. *Essential requirements and tests of basic science references 2E-Harper-Devlin-Leninger Biochemistry*. Mir Publishing, Tehran. pp. 105-110.
- Ginsberg, H.N. and Brown, W.V., 2011. Apolipoprotein CIII: 42 years old and even more interesting. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31, pp. 471-473.
- Grimsgaard, S., Bonaa, K.H., Hansen, J.B. and Nordoy, A., 1997. Highly purified eicosapentaenoic acid and

- docosahexaenoic acid in humans have similar triacylglycerol-lowering effects but divergent effects on serum fatty acids. *Am J Clin Nutr*, 66, pp. 649-659.
- Guariguata, L., Whiting, D., Weil, C. and Unwin, N., 2011. The International Diabetes Federation diabetes atlas methodology for estimating global and national prevalence of diabetes in adults. *Diabetes Res Clin Pract*, 94, pp. 322-32.
- Harris, W.S., 1997. n-3 fatty acids and serum lipoproteins: human studies. *Am J Clin Nutr*, 65, pp. 1645S-1654S.
- Hartweg, J., Perera, R., Montori, V., Dinneen, S., Neil, H.A. and Farmer, A., 2008. Omega-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) for type 2 diabetes mellitus. *Cochrane Database Syst Rev*, CD003205.
- Hassanali, Z., Ametaj, B.N., Field, C.J., Proctor, S.D. and Vine, D.F., 2010. Dietary supplementation of n-3 PUFA reduces weight gain and improves postprandial lipaemia and the associated inflammatory response in the obese JCR:LA-cp rat. *Diabetes Obes Metab*, 12, pp. 139-47.
- Jacobson, T.A., Glickstein, S.B., Rowe, J.D. and Soni, P.N., 2012. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on low-density lipoprotein cholesterol and other lipids: a review. *J Clin Lipidol*, 6, pp. 5-18.
- Kelley, D.S., Siegel, D., Vemuri, M. and Mackey, B.E., 2007. Docosahexaenoic acid supplementation improves fasting and postprandial lipid profiles in hypertriglyceridemic men. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 86, pp. 324-333.
- Kuang, Y.-L., Paulson, K.E., Lichtenstein, A.H., Matthan, N.R. and Lamon-Fava, S., 2011. Docosahexaenoic acid suppresses apolipoprotein A-I gene expression through hepatocyte nuclear factor-3 β . *The American Journal of Clinical Nutrition*, 94, pp. 594-600.
- Maiga, S.F., Kalopissis, A.D. and Chabert, M., 2014. Apolipoprotein A-II is a key regulatory factor of HDL metabolism as appears from studies with transgenic animals and clinical outcomes. *Biochimie*, 96, pp. 56-66.
- Mansoori, A., Sotoudeh, G., Djalali, M., Eshraghian, M.R., Keramatipour, M., Nasli-esfahani, E., Shidfar, F., Alvandi, E., Toupchian, O. and Koohdani, F., 2015. Effect of DHA-rich fish oil on PPARgamma target genes related to lipid metabolism in type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Lipidol*, 9, pp. 770-777.
- Montori, V.M., Farmer, A., Wollan, P.C. and Dinneen, S.F., 2000. Fish oil supplementation in type 2 diabetes: a quantitative systematic review. *Diabetes Care*, 23, pp. 1407-1415.
- Mori, T.A. and Beilin, L.J., 2001. Long-chain omega 3 fatty acids, blood lipids and cardiovascular risk reduction. *Curr Opin Lipidol*, 12, pp. 11-7.
- Nakajima, K., Nagamine, T., Fujita, M.Q., Ai, M., Tanaka, A. and Schaefer, E., 2014. Apolipoprotein B-48: a unique marker of chylomicron metabolism. *Adv Clin Chem*, 64, pp. 117-77.
- Olivieri, O., Martinelli, N., Sandri, M., Bassi, A., Guarini, P., Trabetti, E., Pizzolo, F., Girelli, D., Friso, S., Pignatti, P.F. and Corrocher, R., 2005. Apolipoprotein C-III, n-3 polyunsaturated fatty acids, and "insulin-resistant" T-455C APOC3 gene polymorphism in heart

- disease patients: example of gene-diet interaction. *Clin Chem*, 51, pp. 360-367.
- Ooi, E.M., Ng, T.W., Watts, G.F. and Barrett, P.H., 2013. Dietary fatty acids and lipoprotein metabolism: new insights and updates. *Curr Opin Lipidol*, 24, pp. 192-197.
- Park, Y. and Harris, W.S., 2003. Omega-3 fatty acid supplementation accelerates chylomicron triglyceride clearance. *J Lipid Res*, 44, pp. 455-463.
- Petersen, M., Pedersen, H., Major-Pedersen, A., Jensen, T. and Marckmann, P., 2002. Effect of fish oil versus corn oil supplementation on LDL and HDL subclasses in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 25, pp. 1704-1708.
- Pirillo, A. and Catapano, A.L., 2013. Omega-3 polyunsaturated fatty acids in the treatment of hypertriglyceridaemia. *Int J Cardiol*, 170, S16-20.
- Reis, C.E., Landim, K.C., Nunes, A.C. and Dullius, J., 2014. Safety in the hypertriglyceridemia treatment with N-3 polyunsaturated fatty acids on glucose metabolism in subjects with type 2 diabetes mellitus. *Nutr Hosp*, 31, pp. 570-576.
- Schechtman, G., Kaul, S. and Kissebah, A.H., 1988. Effect of fish oil concentrate on lipoprotein composition in NIDDM. *Diabetes*, 37, pp. 1567-1573.
- Skulas-ray, A.C., Alaupovic, P., Kris-Etherton, P.M. and West, S.G., 2015. Dose-response effects of marine omega-3 fatty acids on apolipoproteins, apolipoprotein-defined lipoprotein subclasses, and Lp-PLA2 in individuals with moderate hypertriglyceridemia. *J Clin Lipidol*, 9, pp. 360-367.
- Tani, S., Nagao, K. and Hirayama, A., 2015. Association of atherosclerosis-related markers and its relationship to n-3 polyunsaturated fatty acids levels with a prevalence of coronary artery disease in an urban area in Japan. *Heart Vessels*, 30, pp. 9-19.
- Theobald, H.E., Chowienczyk, P.J., Whittall, R., Humphries, S.E. and Sanders, T.A., 2004. LDL cholesterol-raising effect of low-dose docosahexaenoic acid in middle-aged men and women. *Am J Clin Nutr*, 79, pp. 558-563.
- Valdivielso, P., Rioja, J., Garcia-Arias, C., Sanchez-Chaparro, M.A. and Gonzalez-Santos, P., 2009. Omega 3 fatty acids induce a marked reduction of apolipoprotein B48 when added to fluvastatin in patients with type 2 diabetes and mixed hyperlipidemia: a preliminary report. *Cardiovasc Diabetol*, 8, P. 1.
- Van Dijk, K.W., Rensen, P.C., Voshol, P.J. and Havekes, L.M., 2004. The role and mode of action of apolipoproteins CIII and AV: synergistic actors in triglyceride metabolism? *Curr Opin Lipidol*, 15, pp. 239-246.
- Wang, H., Liu, J. and Zhao, H., 2015. Emerging options for the treatment of type 2 diabetes in Chinese patients: focus on arterial function and alogliptin. *Drug Des Devel Ther*, 9, pp. 683-686.
- Wang, Y., Lin, Q., Zheng, P., Li, L., Bao, Z. and Huang, F., 2014. Effects of eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on chylomicron and VLDL synthesis and secretion in Caco-2 cells. *Biomed Res Int*, 2014, 684325.
- Whiting, D.R., Guariguata, L., Weil, C. and Shaw, J., 2011. IDF diabetes atlas: global

estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract.*

Woodman, R.J., Mori, T.A., Burke, V., Puddey, I.B., Watts, G.F. and Beilin, L.J., 2002. Effects of purified eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids on glycemic control, blood pressure, and serum lipids in type 2

diabetic patients with treated hypertension. *Am J Clin Nutr*, 76, pp. 1007-1015.

Xiao, C., Dash, S., Morgantini, C. and Lewis, G.F., 2014. New and emerging regulators of intestinal lipoprotein secretion. *Atherosclerosis*, 233, pp. 608-615.

The Effect of Docosahexaenoic Acid on Serum Levels of Apolipoproteins in Patients with Type-2 Diabetes Mellitus: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Clinical Trial

Mohammadsadeghi, M., MSPH. Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Mohammadzadeh Honarvar, N., Ph.D. Assistant Professor, Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Qorbani, M., Ph.D. Assistant Professor, Non-Communicable Diseases Research Center, Alborz University of Medical Sciences, Karaj, Iran

Mansoori, A., Ph.D. Assistant Professor, Nutrition and Metabolic Diseases Research Center, Ahvaz Jundishapur University of Medical Sciences, Ahvaz, Iran

Koohdani, F., Ph.D. Professor, Department of Cellular and Molecular Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Diabetes Research Center, Endocrinology and Metabolism Clinical Sciences Institute, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Corresponding Author: fkoohdan@tums.ac.ir

Received: Dec 30, 2016

Accepted: Feb 6, 2018

ABSTRACT

Background and Aim: Lipoprotein disorders are an integral component of type-2 diabetes mellitus (T2DM). Therefore, early diagnosis and treatment of lipid disorders can be beneficial in prevention and treatment of many complications associated with T2DM. The aim of this study was to determine the effect of docosahexaenoic acid (DHA) supplementation on the serum levels of apolipoproteins (Apos) A1, A2, B48 and C3 in patients with T2DM.

Materials and Methods: In this 8-week randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial, 44 T2DM patients were randomly assigned to either an experimental group (n=22, receiving daily 2.4 g DHA) or a placebo group (n = 22, receiving paraffin). The serum levels of Apos A1, A2, B48 and C3 were measured in all the patients at the beginning and at the end of the period.

Results: There was a statistically significant increase in the mean serum level of ApoA1 in the DHA group ($p = 0.014$). In addition, a significant difference was observed in the serum level of ApoC3 after intervention between the DHA and placebo group ($p=0.031$). There were no significant differences between the two groups as regards the mean changes in serum levels of ApoA1, ApoA2, ApoB48 and ApoC3.

Conclusions: Dietary supplementation with docosahexaenoic acid has no effects on the serum levels of apolipoproteins in patients with type-2 diabetes.

Keywords: Docosahexaenoic Acid, Apolipoprotein A1, Apolipoprotein A2, Apolipoprotein B48, Apolipoprotein C3, Type-2 Diabetes