

## بررسی اثر توکوترینول افزوده شده به روغن کلزا بر شاخص های گلیسمی و استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲: کارآزمایی بالینی تصادفی دو سو کور

**ندا حقیقت:** کارشناس ارشد تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران. neda.hag@gmail.com  
**\*دکتر محمدرضا وفا:** دانشیار و متخصص تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران (\*نویسنده مسئول). mrvafa@tums.ac.ir  
**دکتر شهیار اقتصادی:** استاد و متخصص تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. eghtesadi@tums.ac.ir  
**دکتر ایرج حیدری:** استادیار و فوق تخصص غدد درون ریز، مرکز تحقیقات غدد (فیروزگر)، انستیتو غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. irajheydari@gmail.com  
**آغا فاطمه حسینی:** مربی و متخصص آمار، دانشکده مدیریت آمار زیستی، دانشکده مدیریت و اطلاع رسانی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران. fatemeh\_h@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۸

### چکیده

**زمینه و هدف:** توکوترینولها (Tocotrienols) که در گذشته به دست فراموشی سپرده شده بودند، امروزه به علت اثرات آنتی اکسیدانی و غیر آنتی اکسیدانی مورد توجه قرار گرفته اند. بنابراین این مطالعه با هدف تعیین اثرات ۸ هفته مصرف روغن کلزا غنی شده با ۲۰۰ mg توکوترینول بر کنترل گلیسمی و استرس اکسیداتیو بیماران دیابتی نوع ۲ انجام شد.

**روش کار:** در این کارآزمایی بالینی ۵۰ بیمار دیابتی نوع ۲ (قند خون ناشتا <math>mg/dl</math> ۱۲۶) به طور تصادفی به دو گروه (مداخله و کنترل) تقسیم شدند. گروه مداخله روزانه ۱۵ گرم روغن کلزا غنی شده با ۲۰۰mg توکوترینول (T3) و گروه کنترل همان میزان روغن کلزا بدون توکوترینول دریافت کردند. نمونه خون افراد در ابتدا و بعد از ۸ هفته مداخله جمع آوری گردید و قند خون ناشتا، انسولین، شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR = Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance)، مالون دی آلدئید (MDA=Malon Di Aldehyde) و ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (Total Antioxidant Capacity =TAC) اندازه گیری شدند. در ابتدا و انتهای مطالعه وضعیت آنتروپومتری، سطوح فعالیت بدنی، دریافت مواد غذایی نیز برآورد شد و بین دو گروه مقایسه گردید.

**یافته ها:** در گروه مداخله FBS، TAC و MDA به طور قابل توجهی ۲۰، ۲۵ و ۳۵ درصد کاهش یافت و همچنین در پایان مطالعه دو گروه تفاوت آماری معنی داری داشتند ( $p < 0.05$ ). سطوح HOMA-IR در گروه مداخله کاهش یافت، اما در حد معنی دار نبود و در سطوح انسولین تغییری مشاهده نشد. **نتیجه گیری:** اطلاعات به دست آمده از این مطالعه پیشنهاد کننده این مطلب است که توکوترینول می تواند شاخص های وضعیت گلیسمی و استرس اکسیداتیو را بهبود بخشد، اما اثر آن بر حساسیت انسولینی نیاز به مطالعات آینده دارد.

**کلیدواژه ها:** توکوترینول، وضعیت گلیسمی، استرس اکسیداتیو، دیابت نوع ۲.

### مقدمه

دیابت شیرین یکی از شایع ترین بیماری های اندوکرین در حال رشد دنیای امروز می باشد که با عوارض چند گانه و مرگ زودرس همراه است (۱ و ۲). هیپرگلیسمی، هیپر انسولینمی و مقاومت انسولینی منجر به افزایش سطح استرس اکسیداتیو و در نتیجه تضعیف سیستم دفاع آنتی اکسیدانی می شود (۳). این دو عامل در بیماری زایعوارض دیابت نوع ۲ نقش دارند (۴ و ۶). آنتی اکسیدان ها از طریق متوقف کردن آسیب های حاصل از

رادیکال های آزاد، عوارض دیابت را کاهش می دهند (۷ - ۹). ویتامین E شامل دو گروه مواد بیولوژیکی فعال به نام توکوفرولها (Tocopherols) و توکوترینولها (Tocotrienols) می باشد که هر کدام چهار ایزومر (آلفا، بتا، گاما، دلتا) دارند. تفاوت این دو گروه ویتامین E در نوع زنجیره متصل به آنها است، به طوری که توکوفرولها زنجیره فنیل اشباع و توکوترینولها زنجیره ایزوپرنوئید غیراشباع دارند. تفاوت در نوع زنجیره این دو ایزومر ویتامین E باعث

## روش کار

**شرکت کنندگان:** پنجاه بیمار مبتلا به دیابت ملیتوس نوع ۲ در این مطالعه تصادفی دو سو کور شرکت کردند. این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران مورد تایید قرار گرفت (مجوز کمیته اخلاق به شماره ۱۴۲۱ در تاریخ ۸۹/۴/۲۷) و در مرکز ثبت کار آزمایشی بالینی با شماره شناسه IRCT201008092365N2 ثبت شد. حجم نمونه مورد نیاز پژوهش با استفاده از معیار قند خون ناشتا، طبق مطالعه بیلاریسینگ بر اساس فرمول زیر تعیین شد (۱۹):

$$n = \frac{1}{1-F} \times \frac{2 \left( Z \left( 1 - \frac{\alpha}{2} \right) + Z(1 - \beta) \right) s^2}{(\mu_1 - \mu_2)}$$

با توجه به رابطه آماری فوق، با در نظر گرفتن سطح احتمال خطای نوع اول ( $\alpha=0/05$ )، با توان آزمون ( $1-\beta=0/80$ ) حجم نمونه در هر گروه ۲۰ نفر محاسبه شد که پیشبینی ۲۰٪ افت نمونه، در مجموع دو گروه مداخله و شاهد، ۵۰ نفر تخمین زده شد. این افراد از مرکز غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی تهران انتخاب شدند. بیماران در صورت دارا بودن سنین بین ۳۵ تا ۶۰ سال، شاخص توده بدنی شاخص توده بدنی  $>40$ ، قند خون ناشتا (FBS)  $<126$  و داشتن سابقه ابتلا به دیابت حداقل ۱ سال می‌توانستند در این مطالعه شرکت کنند. زنان باردار یا شیرده، افراد مبتلا به بیماری کبدی، تیروئیدی، سرطان، التهاب یا بیماری عفونی، افراد تحت درمان با انسولین، مصرف داروهای ضد التهاب یا ضد انعقاد، مصرف سیگار و الکل از مطالعه حذف شدند. کلیه شرکت کنندگان حداقل یک ماه قبل از مطالعه و در طول مطالعه نباید از هیچ گونه مولتی ویتامین و مولتی مینرال استفاده می‌کردند. هدف مطالعه برای شرکت کنندگان توضیح داده شد و رضایت نامه کتبی آگاهانه از آنان اخذ گردید.

**طرز تهیه روغن کانولا غنی از توکوترینول:**  
محلول‌های توکوماس (Tocomas) حاوی

فعالیت بیولوژیک منحصر به فرد و متفاوت آنها شده است (۱۰). توکوترینول‌ها به علت توزیع بهتر در لایه چربی غشا سلولی نسبت به آلفا-توکوفرول‌ها در مهار رادیکال‌های آزاد کارآمدتر هستند (۱۱ و ۱۲). توکوترینول‌ها به نسبت توکووفرول‌ها بسیار کمتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند و مطالعات انسانی محدودی در این زمینه وجود دارد. اغلب تحقیقات پیشین در شرایط آزمایشگاهی و به صورت حیوانی انجام شده است، بنابراین خواص عملکردی توکوترینول‌ها (T3) هنوز به طور کامل شناخته نشده است. در یک مطالعه انسانی توکوترینول حاصل از سیبوس برنج یا روغن پالم با کاهش استرس اکسیداتیو در افراد سالم مرتبط بود و پروفایل چربی را در افراد مبتلا به دیابت و هیپرکلسترولمی بهبود بخشید (۱۶) - (۱۹). همچنین در افراد مبتلا به هیپرکلسترولمی اثر هم افزایی توکوترینول‌ها و لواستاتین در بهبود پروفایل چربی اثبات شده است (۲۰). طبق جستجوی ما تاثیر توکوترینول‌ها بر استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی مورد بررسی قرار نگرفته و تنها یک مطالعه اثرات توکوترینول رابر کنترل قند خون در بیماران دیابتی مورد بررسی قرار داده است. اگرچه در این مطالعه به علت استفاده از داروهای ضد دیابت، سطح قند خون و HbA1c نزدیک به نرمال، اثر توکوترینول در کاهش قند خون مشاهده نشد. از طرفی جای خالی این نوع ویتامین E که اثرات مفید به مراتب بالاتری نسبت به  $\alpha$ -توکوفرول دارد، در سبد غذایی کشور ما دیده می‌شود، زیرا اغلب از روغن‌های آفتابگردان، کلزا، سویا و... مصرف می‌شود که فقط حاوی آلفا-توکوفرول می‌باشند. بنابراین در مطالعه حاضر اثر ویتامین E غنی از توکوترینول را بر قند خون ناشتا (FBS)، سطح انسولین ناشتا، شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR)، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و مالون دی‌آلدئید (MDA) در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مورد بررسی قرار گرفت.

شد که از این روغن در فرایند پخت و پز استفاده نکنند. همچنین از آنها خواسته شد رژیم غذایی و فعالیت بدنی معمول خود را در طی این مطالعه حفظ کنند.

مشخصات زمینه‌ای و تن سنجی شامل سن، وزن، قد، مدت ابتلا و دوز داروی مصرفی بیماران ثبت شد. قد با استفاده از قدسنج متصل به ترازو و با دقت ۰/۵ سانتی متر بدون کفش اندازه گیری شد، وزن نیز با ترازوی Seca و با دقت ۰/۵ کیلوگرم در حالت ناشتا با حداقل لباس و بدون کفش در ابتدا و انتهای مطالعه اندازه گیری شد و شاخص توده بدن نیز تقسیم وزن بر مجذور قد ( $\text{kg/m}^2$ ) محاسبه شد. هم چنین در شروع و پایان مطالعه پرسش نامه بین المللی فعالیت بدنی، پرسش نامه ۲۴ ساعته یاد آمد خوراک سه روز ابتدایی مطالعه (یک روز تعطیل و دو روز عادی) و سه روز انتهایی مطالعه توسط هر دو گروه مداخله و شاهد تکمیل گردید. پرسشنامه ۲۴ ساعته یاد آمد خوراک با استفاده از نرم افزار Nut4 (N4) آنالیز و مقدار انرژی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، روی، ویتامین A، C، E و سلنیوم محاسبه شد.

**ارزیابی آزمایشگاهی:** نمونه خون در شروع و پایان مطالعه بعد از ۱۰ تا ۱۲ ساعت ناشتا بودن و قبل از مصرف قرص‌های کاهنده قند خون جمع آوری شد. سرم نیز توسط سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ تا ۴۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه بلافاصله بعد از خون گیری به دست آمد. قند خون ناشتا سرم ( $\text{mg/dl}$ ) با روش گلوکز اکسیداز با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر Liasys، انسولین ( $\mu\text{IU/ml}$ ) با روش IRMA (Immunoradiometric assay) و با استفاده از کیت شرکت TAC, Immunotech ( $\text{gr/dl}$ ) با روش 2,2-azino-bis-3-ethyl-benzo-thiazoline-6-sulfonic-acid (ABTS) و MDA ( $\text{nmol/mL}$ ) با استفاده از روش اسپکتروفتومتری اندازه گیری شد.

**روش‌های آماری:** در این مطالعه مقایسه متغیرهای کمی بین دو گروه با آزمون T مستقل (Independent t-test) یا من ویتنی (Man - Whitney) و مقایسه تغییرات در هر گروه در طول مطالعه با استفاده از آزمون زوج

توکوترینول، از شرکت تولید کننده مالزیایی ICOF (Inter-Continental Oils and Fats) خریداری شد. توکوماس مورد استفاده طبق آنالیز آزمایشگاه حاوی ۳۸/۴٪ توکوترینول بود که شامل ۱۶/۶٪ گاما-توکوترینول (Gamma-Tocotrienol) و ۱۳/۲٪ آلفا - توکوترینول (Alfa-Tocotrienol) و مابقی ترکیبات توکوماس شامل ۲۳/۵٪ مونوگلیسرید (Monoglyceride)، ۸/۸٪ دی گلیسرید (Diglyceride)، ۰/۷٪ تری گلیسرید (Triglyceride)، ۴/۷٪ اسکوالن (Squalene)، ۹/۴٪ فیتواسترول (Phytosterols)، کو - کیوتن (CoQ10) و ۱/۰٪ اسیدهای چرب بود. در آزمایشگاه ۲۹۴۰۰ میلی گرم توکوماس به ۸۱۰ گرم روغن کانولا افزوده شد. بنابراین یک قاشق غذا خوری روغن کانولا حاوی حدود ۵۲۵ میلی گرم توکوماس (۲۰۰ میلی گرم مجموع T3) بود. اضافه کردن توکوترینول به روغن کانولا در ظاهر آن تغییری ایجاد نکرد.

شرکت کنندگان به صورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه روزانه ۱۵ میلی گرم روغن کانولای غنی شده با ۲۰۰ میلی گرم T3 و گروه دیگر به همان مقدار روغن کانولا مشابه بدون T3 را به مدت ۸ هفته دریافت نمودند. شرکت کنندگان ۱۵ میلی گرم در روز از روغن را همراه با یکی از وعده های غذایی مصرف کردند. برای این منظور دو بطری روغن برای هر یک از شرکت کنندگان تهیه شد به طوری که هر بطری جهت مصرف ۴ هفته بود که بعد از هر ۴ هفته برگردانده می شد. بطری روغن‌های خالص و غنی از توکوترینول توسط فردی به غیر از همکاران تحقیق با استفاده از جدول شماره های تصادفی کد گذاری شد و به این ترتیب افراد شرکت کننده و هم چنین پژوهشگران این مطالعه از محتویات درون بطری آگاه نبودند. برای نظارت بر مصرف روغن‌ها، تمامی شرکت کنندگان از طریق تماس تلفنی در هفته پیگیری شدند. میزان پذیرش روغن‌ها با اندازه گیری مقدار باقیمانده روغن در بطری های بازگردانده شده، اندازه گیری شد که بالای ۹۵٪ بود. از آنجایی که ایزومر های ویتامین E به حرارت و اکسیداسیون حساس هستند، از بیماران خواسته

نوع مصرف دارو و فعالیت بدنی مشاهده نشد. به همین ترتیب هیچ تغییر قابل توجهی در وزن، شاخص توده بدنی و سطح فعالیت بدنی در طول مطالعه مشاهده نشد. از ابتدای مطالعه دارو هایی که به عنوان کاهنده قند خون استفاده می شد، متفورمین (N=10Metformin) یا گلیبنکلامید (N=16) یا در ترکیب Glibenclamide به تنهایی (N=19) بود، که این روند در طول مطالعه بدون تغییر باقی ماند. در مواد مغذی مصرفی در رژیم غذایی، کربوهیدرات، پروتئین، چربی، ویتامین A، C، E، سلنیوم و روی که برای ۳ روز مشخص شده بود، هیچ تفاوت معنی داری بین دو گروه قبل و بعد از مداخله مشاهده نشد.

در جدول ۲، اثرات T3 بر روی کنترل قند خون ناشتا و استرس اکسیداتیو ارائه شده است. FBS، انسولینو HOMA-IR در آغاز مطالعه بین دو گروه متفاوت نبود، در حالیکه در گروه T3 میزان TAC پایین تر و MDA به طور قابل توجهی بالاتر بود. مصرف T3 میزان FBS را به طرز چشمگیری در مقایسه با شروع مطالعه ۲۰٪ کاهش داد (p=۰/۰۰۳) ولی بر غلظت انسولین و HOMA-IR تاثیری نداشت. هم چنین FBS در گروه T3 به طور معنی داری در مقایسه با گروه کنترل پایین تر بود (p=۰/۰۲۳). در مقایسه با ابتدای تحقیق در گروه T3 میزان TAC حدود ۲۵٪ افزایش و

( Paired t-test ) یا ویلکاکسون (Wilcoxon) انجام گردید. به منظور ارزیابی ارتباط بین متغیر های کیفی از آزمون کای ۲ (کای اسکوئر) استفاده شد. تمام مقادیر بر اساس (انحراف معیار  $\pm$  میانگین) جهت پارامترهای با توزیع نرمال و یا میانه (صدک ۲۵، صدک ۷۵) جهت پارامترهای با توزیع غیر نرمال گزارش شده است. سطح ۰/۰۵ به عنوان سطح مبنای معنی دار آماری در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

در نهایت مطالعه حاضر با ۴۵ بیمار به پایان رسید. از بین شرکت کنندگان در کارآزمایی از گروه دریافت کننده ی T3 دو نفر (یک نفر به علت مهاجرت و یک نفر به علت تغییر برنامه درمان (شروع تزریق انسولین))، سه نفر از گروه مکمل یاری کنترل (یک نفر به علت عدم توانایی در راه رفتن به دلیل شکستگی پا و یک نفر به علت ناکافی بودن نمونه خونی در مرحله پایانی مطالعه، یک نفر به علت عدم تمایل به همکاری) و در مجموع ۵ نفر از مطالعه خارج شدند. ویژگی‌های عمومی افراد شرکت کننده در مطالعه در جدول ۱ ارائه شده است. هیچ تفاوت معنی داری بین دو گروه مداخله و کنترل از نظر سن، جنس، وزن، قد، شاخص توده بدنی، طول مدت بیماری،

جدول ۱- مشخصات عمومی افراد در گروه های مورد مطالعه در ابتدای مطالعه

گروه متغیر	گروه مداخله (n = ۲۳)	گروه کنترل (n = ۲۲)	p Value
جنس			
مرد، تعداد(%)	۵(۲۱/۷٪)	۷ (۳۱/۸٪)	۰/۴۴۵
زن، تعداد(%)	۱۸(۷۸/۳٪)	۱۵(۶۸/۲٪)	
سن(سال)	۵۵/۹ $\pm$ ۵/۹۶	۵۵/۲۰ $\pm$ ۵/۵۵	۰/۷۰۹
طول مدت ابتلا به دیابت (سال)	۴/۸۷ $\pm$ ۴/۱	۴/۷ $\pm$ ۲/۹	۰/۹۲۳
وزن (kg)	۶۴/۵ $\pm$ ۱۷/۱۲	۶۸/۵ $\pm$ ۱۲/۰	۰/۳۷۴
نمایه توده بدن (kg/m <sup>2</sup> )	۲۵/۱ $\pm$ ۶/۹۰	۲۶/۱ $\pm$ ۳/۳	۰/۵۳۳
داروهای هیپوگلیسمیک، تعداد (%)			
متفورمین	۷ (۳۰/۴٪)	۳ (۱۳/۶٪)	۳۰۳/۰
گلیبن گلآمید	۶ (۱/۲۶٪)	۱۰ (۴۵/۵٪)	
متفورمین + گلیبن گلآمید	۱۰ (۴۳/۵٪)	۹ (۴۰/۹٪)	

داده ها در جدول فوق به صورت ( میانگین  $\pm$  انحراف معیار) یا تعداد (%) می باشد.

P-value مقایسه بین گروه ها (آزمون T مستقل یا کای اسکوئر)

جدول ۲- میانه و صدک های ۲۵ و ۷۵ یا میانگین و انحراف معیار متغیرها در گروه های مورد مطالعه در شروع و پایان مطالعه

متغیرها	T3 گروه روغن کانولای غنی شده با (n=۲۳)	p <sub>1</sub> <sup>1</sup>	گروه روغن کانولا (n=۲۲)	p <sub>1</sub> <sup>1</sup>	p <sub>2</sub> <sup>2</sup>
قند خون ناشتا (mg/dL)					
ابتدای مطالعه	۱۳۶(۱۲۱، ۱۷۳)		۱۵۲ (۱۱۵، ۱۷۹/۲)		۰/۷۳۳
انتهای مطالعه	۱۲۱ (۹۸، ۱۴۰)	۰/۰۰۳	۱۴۱(۱۱۴/۵، ۲۱۰)	۰/۷۵۴	۰/۰۲۳
تغییرات	-۲۶ (-۴۱، -۱۰)		۲۵/(-۲۴/۵، ۱۸/۲)		۰/۰۱۰
انسولین (μIU/ml)					
ابتدای مطالعه	۱۰/۶(۵، ۱۶/۴)		۱۰/۵(۷، ۱۳/۷)		۰/۹۸۲
انتهای مطالعه	۱۰/۵ (۷/۳، ۱۴/۲)	۰/۵۸۸	۱۰/۴(۷/۹، ۱۳/۳)	۰/۵۰۱	۰/۹۱۰
تغییرات	-۰/۱ (-۲، ۳/۳)		-۰/۲۵(-۱/۵، ۱/۶)		۰/۳۸۲
HOMA_IR					
ابتدای مطالعه	۴/۳(۱/۲، ۵/۱)		۳/۷(۲/۲، ۵/۳)		۰/۷۳۳
انتهای مطالعه	۳/۵ (۱/۸۱، ۴/۵)	۰/۳۵۵	۳/۷(۲/۵، ۶)	۰/۵۹۲	۰/۴۱۴
تغییرات	-۰/۶(-۱/۹، ۰/۷)		-۰/۱(-۱/۴، ۰/۷)		۰/۶۹۹
TAC (gr/dL)					
ابتدای مطالعه	۳/۳۷±۰/۸۳	<۰/۰۰۱	۴/۲۶±۰/۵۴	<۰/۰۰۱	<۰/۰۰۱
انتهای مطالعه	۴/۲۲±۰/۴۸		۴/۴۴±۰/۴۳		۰/۱۳۲
تغییرات	۰/۸۵±۰/۷۱		۰/۱۸±۰/۶۷		۰/۰۰۳
MDA(nmol/mL)					
ابتدای مطالعه	۳/۲۲ ± ۱/۴۱	<۰/۰۰۱	۲/۳۱±۱/۱۹	<۰/۰۰۱	۰/۰۲۷
انتهای مطالعه	۲/۰۹±۱/۰۶		۲/۸۱±۱/۲۱		۰/۰۴۴
تغییرات	-۱/۱۳±۱/۱۷		۰/۰۵±۱/۵۴		<۰/۰۰۱

داده ها در جدول فوق به صورت ( میانگین ± انحراف معیار) یا میانه ( صدک ۲۵، ۷۵) می باشد.  
<sup>1</sup> p-values تفاوت در مقایسه با شروع مطالعه در داخل هر گروه (آزمون T زوج یا ویلکاکسون)  
<sup>2</sup> p-values تفاوت بین گروه های مورد مطالعه (آزمون T مستقل یا من ویتنی)

می دهد که کنترل و حفظ FBS نزدیک به سطوح نرمال در دیابت ضروری است. در این مطالعه ۲۰۰ میلی گرم T3 برای ۸ هفته FBS را تا ۲۰ درصد در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ کاهش داد و سطح FBS به طور قابل توجهی در گروه T3 در مقایسه با گروه کنترل در پایان مطالعه پایین تر بود. در حالیکه هیچ تغییر قابل توجهی در سطح انسولین ناشتا مشاهده نشد و HOMA-IR در گروه T3 تمایل به کاهش داشت. این یافته ها همراه با مطالعات تجربی قبلی نشان داد که T3 بر قند خون بالا اثر می گذارد.

در مطالعه ای نشان داده شد، ۴ هفته مکمل یاری با مخلوط غنی از توکوترینول (TRF) به میزان ۱ gr/kg رژیم غذایی سبب کاهش محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون سرم (AGE= advanced glycation end products) در موش های نرمال و سالم شد که این نشان دهنده

MDA حدود ۳۵٪ کاهش یافت ( $p < 0/001$ ). هم چنین در پایان مطالعه سطح MDA و TAC در مقایسه با گروه کنترل تفاوت آماری معنی داری داشتند به ترتیب ( $p = 0/003$ ) و ( $p < 0/001$ ).

### بحث و نتیجه گیری

رادیکال های آزاد عامل آسیب زایی در دیابت و عوارض آن شناخته شده اند. هیپرگلیسمی منجر به افزایش رادیکال های آزاد می شود و از آن جا که سیستم آنتی اکسیدانی افراد مبتلا به دیابت نیز کفایت کافی را ندارند، بنابراین استرس اکسیداتیو ایجاد می شود. توکوترینول ها قبل از اینکه رادیکال های لیپید پروکسیل به لیپید های غشاء حمله کنند، خیلی سریع و موثر این رادیکال ها را می گیرند و در نتیجه از آسیب های اکسیداتیو جلوگیری می کند (۲ - ۴). این یافته ها نشان

۹/۲ درصدی در TAC پلاسما ایجاد شد و در مقایسه با گروه درمان نشده، تفاوت چشمگیری نداشت (۲۴). یکی از عواملی که منجر به عدم مشاهده اثر توکوترینول بر TAC شد، عدم کنترل دریافت آنتی اکسیدان ها نظیر سبزی ها، میوه ها، شکلات ها و آب میوه ها در مدت ۲ ماه مداخله بود، در حالیکه در مطالعه حاضر دریافت آنتی اکسیدان ها از طریق گرفتن یادآمد خوراک ۲۴ ساعته در ابتدا و انتهای پژوهش کنترل شد. همچنین به نظر می رسد چون گروه هدف این مطالعه افراد سالم بودند، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنها در وضعیت مناسب بوده است، در حالیکه توکوترینول در افرادی که سیستم دفاع آنتی اکسیدانی شان آسیب دیده است نظیر افراد مکمل یاری TRF در بزرگسالان مسن در دوز ۱۶۰ mg/day به مدت ۶ ماه محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون پیشرفته (AGE) و کربونیل پروتئین (protein carbonyl)، شاخص آسیب اکسیداتیو پروتئین، فقط در افراد ۵۰ سال به بالا بهبود داد. سطوح MDA بعد از ۳ ماه در افراد ۵۰ سال به بالا کاهش پیدا کرد و بعد از آن در سطح کم باقی ماند، اما این کاهش چشمگیر نبود (۱۷). این پاسخ وابسته به سن مکمل یاری TRF نیز نشان دهنده این است که مکمل یاری با TRF در افراد سالم با دفاع آنتی اکسیدانی مناسب نمی تواند در MDA و (SOD(Dismutase Oxide-Super) بهبود ایجاد کند و اغلب در افرادی که در سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنها آسیب دیده است، نظیر افراد مسن، مبتلایان به دیابت، بیماری های قلبی و عروقی و غیره موثر می باشد. در مطالعه حاضر نیز میانگین سنی شرکت کنندگان  $55/65 \pm 5/72$  سال می باشد که از ۵۰ بیشتر است و همچنین به علت قند خون بالای کنترل نشده، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی افراد تخریب شده است. بر طبق جستجوی ما تا کنون مکمل T3 در ارتباط با استرس اکسیداتیو در افراد مبتلا به دیابت مورد بررسی قرار نگرفته است و یافته های ما نشان داد که ۵۲۵ میلی گرم TRF یا ۲۰۰ میلی گرم T3 به مدت ۸ هفته، می تواند استرس اکسیداتیو را در

آن است که TRF از افزایش AGE مرتبط با سن جلوگیری می کند (۲۱). هم چنین در تحقیق دیگری ۲۰۰ mg/kg TRF در مدت ۸ هفته، قند خون و هموگلوبین گلیکوزیله موش های دیابتی را کاهش داد (۲۲). با اینکه در مطالعه حاضر و مطالعات مذکور اثر آنتی دیابتیک توکوترینول روی کاهش قند خون تا حدودی مشاهده می شود، مطالعه بیلیراسینگنتایج متناقضی را گزارش کرد و هیچ اثر کاهندگی قند خون را در توکوترینول مشاهده نکرد. در این بررسی انسانی با مصرف ۶ mg/kg توکوترینول در دوز های مجزا، به مدت ۶۰ روز تاثیری بر قند خون ناشتا پلاسما و HbA1c در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ مشاهده نشد (۱۹). در این پژوهش بیماران به علت استفاده از داروهای ضد دیابت سطح قند خون و HbA1c نزدیک به نرمال داشتند، در حالیکه در مطالعه حاضر معیار ورود به مطالعه قند خون بالای mg/dl ۱۲۶ است و اکثراً قند خون شان کنترل نشده بود. بنابراین، به نظر می رسد مکمل یاری با توکوترینول در افرادی که سطوح قند خون بالا دارند یا کنترل گلیسمی آنها ضعیف است، اثرات قابل توجه تری در کنترل قند خون دارد.

در تحقیق حاضر افزایش چشمگیر TAC در گروه T3 در طول مطالعه و هم چنین میزان بالاتر آن در مقایسه با گروه کنترل در پایان مطالعه نشان دهنده فعالیت آنتی اکسیدانی قوی T3 می باشد. همگام با افزایش در TAC، غلظت MDA در گروه T3 در مقایسه با ابتدای مطالعه ۳۵ درصد کاهش یافت و هم چنین در پایان مطالعه در مقایسه با گروه کنترل به طرز چشمگیری پایین تر بود.

در یک مطالعه حیوانی گاما-توکوترینول به مدت ۳ ماه پراکسیداسیون لیپید و وضعیت آنتی اکسیدانی کل (Total Antioxidant Status=TAS) را در موش های مبتلا به فشار خون بهبود بخشید (۲۳). در تحقیق دیگری، اثرات تجویز توکوترینول در دوز های مختلف ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ mg/day به مدت دو ماه بر وضعیت آنتی اکسیدانی کل پلاسمایی در ۳۶ مرد سالم مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه، فقط در گروه ۳۲۰ mg توکوترینول، در مقایسه با ابتدای مطالعه افزایش

### تقدیر و تشکر

این مقاله حاصل بخشی از پایاننامه خانم ندا حقیقت در رشته تغذیه در مقطع کارشناسی ارشد به راهنمایی آقایان دکتر محمدرضا وفا و دکتر شهریار اقتصادی و مشاوره آقای دکتر ایرج حیدری و خانم فاطمه آغا حسینی در سال ۱۳۹۰-۱۳۸۹ و کد م/۹۴۴ می باشد که با حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران و همکاری انستیتو غدد درون ریز و متابولیسم (پردیس همت) - مرکز تحقیقات غدد (فیروزگر) اجرا شده است. بدینوسیله از همکاری انجمن دیابت گابریک کمال تشکر را داریم.

### منابع

1. Almdal T, Scharling H, Jensen JS, Vestergaard H. The independent effect of type 2 diabetes mellitus on ischemic heart disease, stroke, and death: a population-based study of 13,000 men and women with 20 years of follow-up. *Arch Intern Med.* 2004;164(13):1422-6.
2. Seshasai SR, Kaptoge S, Thompson A, Di Angelantonio E, Gao P, Sarwar N, et al. Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med.* 2011;364(9):829-41.
3. Maritim AC, Sanders RA, Watkins JB. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. *J Biochem Mol Toxicol.* 2003; 17(1):24-38.
4. Evans JL, Goldfine ID, Maddux BA, Grodsky GM. Are oxidative stress-activated signaling pathways mediators of insulin resistance and beta-cell dysfunction? *Diabetes.* 2003;52(1):1-8.
5. Ceriello A, Motz E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(5):816-23.
6. Jay D, Hitomi H, Griendling KK. Oxidative stress and diabetic cardiovascular complications. *Free Radic Biol Med.* 2006;40(2):183-92.

بیماران دیابتی بهبود بخشد. اثر مهاری T3 بر استرس اکسیداتیو می تواند مقاومت انسولینی را کاهش دهد، جذب گلوکز توسط سلول ها را بهبود بخشد و لیپولیز در بافت چربی از طریق کاهش التهاب را کاهش دهد. کاهش لیپولیز منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپید می شود (۲۵). T3 خواص آنتی اکسیدانی قوی تری نسبت به  $\alpha$  - توکوفرول دارد که به علت سه پیوند دوگانه در زنجیره هیدروکربنی، ساختار منحصر به فردی دارد که منجر به توزیع بهتر آن در لایه های چربی غشاء سلولی می شود (۲۶ و ۲۷).  $\alpha$  - توکوفرول فقط در دوز های فارماکولوژیک سبب بهبود عمل انسولین و شاخص های التهابی می شود (۲۵، ۲۸ و ۲۹). در مطالعه حاضر ترکیب ویتامین E حاوی دوز پایینی از  $\alpha$ -توکوفرول است، در نتیجه احتمالاً اثرات مفید مشاهده شده مربوط به  $\alpha$  - توکوفرول نیست و T3 ترکیب فعال بوده است، اگرچه تحقیقی نشان داد که T3 همراه با ۲۰٪ توکوفرول یا بیشتر، اثرات کاهندگی کلسترول T3- $\gamma$  را افزایش می دهد (۳۰). در این مطالعه جهت بهبود پذیرش و جذب T3، این مکمل به روغن کانولا افزوده شد. به علت میزان کم T3 در منابع طبیعی، مواد غذایی به تنهایی نمی توانند میزان کافی T3 تامین کنند (۳۱)، بنابراین جهت بهبود دریافت، مکمل یاری یا غنی سازی روغن با این ویتامین به خصوص در بیماران دیابتی مفید خواهد بود.

در نتیجه، تجویز ۵۲۵ میلی گرم TRF یا ۲۰۰ میلی گرم T3 افزوده شده به روغن کانولا به مدت ۸ هفته می تواند قند خون ناشتا (FBS)، ظرفیت تام آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو را در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ با کنترل ضعیف گلیسمی بهبود بخشد. بررسی اثرات T3 بر عملکرد سلول های کبدی، سطوح آنزیم کبدی و شاخص های التهابی جهت جستجوی مکانیسم عمل T3 ضروری است. اثرات ایزومرهای مختلف توکوترینول در تقویت یا مهار کنترل قند خون و خواص آنتی اکسیدانی نیاز به مطالعات آینده دارد.

- young individuals. *Nutrition*. 2008; 24(1):11-5.
17. Chin SF, Ibahim J, Makpol S, Abdul Hamid NA, Abdul Latiff A, Zakaria Z, et al. Tocotrienol rich fraction supplementation improved lipid profile and oxidative status in healthy older adults: A randomized controlled study. *Nutr Metab (Lond)*. 2011; 8(1):42.
18. Qureshi AA, Sami SA, Salser WA, Khan FA. Dose-dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol-rich fraction (TRF25) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis*. 2002; 161(1):199-207.
19. Baliarsingh S, Beg ZH, Ahmad J. The therapeutic impacts of tocotrienols in type-2 diabetic patients with hyperlipidemia. *Atherosclerosis*. 2005; 182(2):367-74.
20. Qureshi AA, Sami SA, Salser WA, Khan FA. Synergistic effect of tocotrienol-rich fraction (TRF(25)) of rice bran and lovastatin on lipid parameters in hypercholesterolemic humans. *J Nutr Biochem*. 2001 Jun; 12(6):318-29.
21. Wan Nazaimoon WM, Khalid BA. Tocotrienols-rich diet decreases advanced glycosylation end-products in non-diabetic rats and improves glycemic control in streptozotocin-induced diabetic rats. *Malays J Pathol*. 2002; 24(2):77-82.
22. 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.
23. Newaz MA, Nawal NN. Effect of gamma-tocotrienol on blood pressure, lipid peroxidation and total antioxidant status in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Clin Exp Hypertens*. 1999; 21(8):1297-313.
24. Rasool AH, Yuen KH, Yusoff K, Wong AR, Rahman AR. Dose dependent elevation of plasma tocotrienol levels and its effect on arterial compliance, plasma
7. Paolisso G, D'Amore A, Giugliano D, Ceriello A, Varricchio M, D'Onofrio F. Pharmacologic doses of vitamin E improve insulin action in healthy subjects and non-insulin-dependent diabetic patients. *Am J Clin Nutr*. 1993;57(5):650-6.
8. Evans M, Anderson RA, Smith JC, Khan N, Graham JM, Thomas AW, et al. Effects of insulin lispro and chronic vitamin C therapy on postprandial lipaemia, oxidative stress and endothelial function in patients with type 2 diabetes mellitus. *Eur J Clin Invest*. 2003; 33(3):231-8.
9. Peerapatdit T, Likidlilid A, Patchanans N, Somkasetrin A. Antioxidant status and lipid peroxidation end products in patients of type 1 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai*. 2006; 89:S141-6.
10. Sen CK, Khanna S, Roy S. Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family. *Mol Aspects Med*. 2007;28(5-6):692-728.
11. Serbinova EA, Packer L. Antioxidant properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol. *Methods Enzymol*. 1994;234: 354-66.
12. Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. The chemistry and antioxidant properties of tocopherols and tocotrienols. *Lipids*. 1996;31(7):671-701.
13. Miyazawa T, Shibata A, Sookwong P, Kawakami Y, Eitsuka T, Asai A, et al. Antiangiogenic and anticancer potential of unsaturated vitamin E (tocotrienol). *J Nutr Biochem*. 2009; 20(2):79-86.
14. Sen CK, Rink C, Khanna S. Palm oil-derived natural vitamin E alpha-tocotrienol in brain health and disease. *J Am Coll Nutr*. 2010; 29:314S-23S.
15. Khanna S, Parinandi NL, Kotha SR, Roy S, Rink C, Bibus D, et al. Nanomolar vitamin E alpha-tocotrienol inhibits glutamate-induced activation of phospholipase-A2 and causes neuroprotection. *J Neurochem*. 2010; 112(5):1249-60.
16. Ladeia AM, Costa-Matos E, Barata-Passos R, Costa Guimaraes A. A palm oil-rich diet may reduce serum lipids in healthy



of Japanese population. *J Agric Food Chem.* 2010 24;58(6):3350-5.

total antioxidant status, and lipid profile in healthy humans supplemented with tocotrienol rich vitamin E. *J Nutr Sci Vitaminol.* 2006; 52(6):473-8.

25. Rizzo MR, Abbatecola AM, Barbieri M, Vietri MT, Cioffi M, Grella R, et al. Evidence for anti-inflammatory effects of combined administration of vitamin E and C in older persons with impaired fasting glucose: impact on insulin action. *J Am Coll Nutr.* 2008; 27(4):505-11.

26. Suzuki YJ, Tsuchiya M, Wassall SR, Choo YM, Govil G, Kagan VE, et al. Structural and dynamic membrane properties of alpha-tocopherol and alpha-tocotrienol: implication to the molecular mechanism of their antioxidant potency. *Biochemistry.* 1993; 32(40):10692-9.

27. Yoshida Y, Niki E, Noguchi N. Comparative study on the action of tocopherols and tocotrienols as antioxidant: chemical and physical effects. *Chem Phys Lipids.* 2003; 123(1):63-75.

28. Manning PJ, Sutherland WH, Walker RJ, Williams SM, De Jong SA, Ryalls AR, et al. Effect of high-dose vitamin E on insulin resistance and associated parameters in overweight subjects. *Diabetes Care.* 2004; 27(9):2166-71.

29. de Oliveira AM, Rondo PH, Luzia LA, D'Abronzio FH, Illison VK. The effects of lipoic acid and alpha-tocopherol supplementation on the lipid profile and insulin sensitivity of patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes Res Clin Pract.* 2011;92(2):253-60.

30. Qureshi AA, Pearce BC, Nor RM, Gapor A, Peterson DM, Elson CE. Dietary alpha-tocopherol attenuates the impact of gamma-tocotrienol on hepatic 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity in chickens. *J Nutr.* 1996; 126(2):389-94.

31. Sookwong P, Nakagawa K, Yamaguchi Y, Miyazawa T, Kato S, Kimura F, et al. Tocotrienol distribution in foods: estimation of daily tocotrienol intake



## The effects of Tocotrienol-enriched canola oil on glycemic control and oxidative stress in patients with type 2 diabetes: a double blind randomized clinical trial

**Neda Haghghat**, MSc, Department of Nutrition, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [neda.hag@gmail.com](mailto:neda.hag@gmail.com)

\***Mohammadreza Vafa**, PhD, Associate Professor of Nutrition, Department of Nutrition, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran (\*Corresponding Author). [mr.vafa@tums.ac.ir](mailto:mr.vafa@tums.ac.ir)

**Shahryar Eghtesadi**, PhD, Professor of Nutrition, Department of Nutrition, School of Public Health, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [eghtesadi@tums.ac.ir](mailto:eghtesadi@tums.ac.ir)

**Iraj Heidari**, MD, Associate Professor of Endocrinology, Endocrine Research Center (Firouzgar), Institute of Endocrinology and Metabolism, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [irajheydari@gmail.com](mailto:irajheydari@gmail.com)

**Agha Fatemeh Hoseini**, MSc, Department of Biostatistics, School of Management and Medical Information Science, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran. [fatemeh\\_h@yahoo.com](mailto:fatemeh_h@yahoo.com)

### Abstract

**Background:** Tocotrienols which were neglected in the past, today get attentions due to their antioxidant and non-antioxidant activity. The purpose of this study was to determine the effects of 8 weeks consumption of 15 ml T3 enriched canola oil (200mg/day T3) on glycemic control and oxidative stress in type 2 diabetic patients.

**Methods:** This clinical trial was conducted on 50 patients with type 2 diabetes mellitus (FBS > 126 mg/dl) who were randomly assigned in two (intervention and control) groups. Intervention group (n=25) received 15 ml T3 enriched canola oil (200mg/day T3) or pure canola oil. Blood samples of patients were collected to measure fasting blood glucose (FBS), fasting insulin, Total Antioxidant Capacity (TAC), Malon Di Aldehyde (MDA) levels and Homeostasis Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR). Physical activity levels and nutrients intake were evaluated before and after intervention and were compared between the groups.

**Results:** FBS, TAC, and MDA were declined significantly by 20, 25 and 35% respectively, in T3 treated group. At the end of the study, intervention group had significantly lower FBS, MDA than control group. A non-significant decrease was also observed in HOMA-IR in intervention group with no changes in insulin levels.

**Conclusions:** These data suggest that tocotrienols may improve glycemic status, oxidative stress indicators, in diabetic patients but the effects on insulin sensitivity need to investigate more in future.

**Keywords:** Tocotrienols, Glycemic status, Oxidative stress, Type 2 diabetes mellitus.