

## بررسی وضعیت هوموسیستئین در بیماران همودیالیزی دریافت کننده اسید فولیک در

## بیمارستان امام حسین (ع) تهران

نسیم آزادی بخش<sup>۱</sup>، دکتر راهبه شاکر حسینی<sup>۲</sup>، دکتر شهناز اتابک<sup>۳</sup>، دکتر بنفشه گلستان<sup>۴</sup>، آناهیتا هوشیار راد<sup>۵</sup>

۱- نویسنده مسئول: کارشناس ارشد علوم تغذیه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

پست الکترونیکی: [nassim\\_ab59@yahoo.com](mailto:nassim_ab59@yahoo.com)

۲- استادیار گروه تغذیه انسانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- دانشیار گروه نفرولوژی، بیمارستان امام حسین (ع)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴- استادیار گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۵- پژوهشیار گروه تحقیقات تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

تاریخ دریافت مقاله: ۸۴/۴/۲۲

تاریخ پذیرش مقاله: ۸۴/۱۰/۲۵

## چکیده

**سابقه و هدف:** هیپرهوموسیستئینمی یکی از عوامل خطر مستقل بیماریهای قلبی عروقی و بویژه آترواسکلروز است. میزان شیوع هیپرهوموسیستئینمی در بیماران همودیالیزی، بیشتر از کل جمعیت است و به همین جهت، این بیماران در حدود ۵۰ درصد از علل مرگ و میر این بیماران را به خود اختصاص می دهند. هدف از این مطالعه، بررسی وضعیت هوموسیستئین در بیماران همودیالیزی دریافت کننده دوز ۵ mg/d اسید فولیک خوراکی، در بیمارستان امام حسین (ع) تهران بود.

**مواد و روشها:** در این مطالعه که به صورت مقطعی طراحی شد، سطح هوموسیستئین تام (tHcy) پلاسما و اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> سرم، در ۴۰ بیمار همودیالیزی که حداقل از ۳ ماه قبل دریافت کننده ۵ mg/d اسید فولیک بوده اند، اندازه گیری شد. همبستگی میان این سه شاخص و همچنین همبستگی آنها با سایر عوامل مداخله گر با استفاده از آزمونهای ناپارامتری بررسی شد. میزان دریافت غذایی ویتامین های گروه B مرتبط با متابولیسم هوموسیستئین، با استفاده از روش یادآمد ۲۴ ساعت خوراک برای ۳ روز متوالی، ارزیابی شد.

**یافته ها:** در بیماران همودیالیزی مورد مطالعه که تحت مکمل یاری مداوم با اسید فولیک بوده اند، میان سطح tHcy پلاسما و میان سطح اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> سرم به ترتیب  $113/92 \pm 11/55$  ng/ml و  $20/95 \pm 12/17$   $\mu\text{mol/L}$  (median  $\pm$  IQR) و میان سطح اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> سرم به ترتیب  $101/55 \pm 11/55$  ng/ml و  $20/95 \pm 12/17$   $\mu\text{mol/L}$  بود. از بین این بیماران ۷۵ درصد در محدوده بالاتر از طبیعی، ۱۵ درصد در محدوده مرزی و ۱۰ درصد در محدوده طبیعی tHcy پلاسما قرار داشتند. همچنین ۱۲/۵ درصد از بیماران، دارای سطح طبیعی اسید فولیک سرم و ۸۷/۵ درصد دارای سطح افزایش یافته آن بودند. در مورد ویتامین B<sub>12</sub> سرم ۳۷/۵ درصد در محدوده طبیعی و ۶۲/۵ درصد در محدوده بالاتر از طبیعی قرار داشتند. هیچ ارتباط معنی داری بین tHcy پلاسما با سن، سابقه دیالیز، مصرف سیگار، قهوه و چای، وضعیت یائسگی، سابقه شناخته شده دیابت ملیتوس، هیپرتانسیون و هیپرلیپیدمی، آلبومین، کراتینین، اوره، سطح ویتامین B<sub>12</sub> سرم و مقدار دریافت غذایی اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> مشاهده نشد. نوعی همبستگی معنی دار و معکوس بین tHcy پلاسما با قد، سطح اسیدفولیک سرم و مقدار دریافت غذایی ویتامین های B<sub>6</sub> و B<sub>12</sub> وجود داشت. به علاوه، متوسط سطح tHcy پلاسما در زنان به طور معنی داری، بالاتر از مردان بود.

**نتیجه گیری و پیشنهادات:** با وجود مکمل یاری با اسید فولیک، فقط درصد کمی از بیماران، وارد محدوده طبیعی tHcy شده اند که این مسئله، لزوم مکمل یاری با دوزهای بالاتر اسید فولیک را به صورت توأم با ویتامین های B<sub>6</sub> و B<sub>12</sub> و عوامل دیگر مشخص می کند. سطح افزایش یافته اسید فولیک سرم، احتمالاً در نتیجه اثر محیط اورمیک بر دسترسی درون سلولی این ویتامین، بروز کرده است. سطح افزایش یافته ویتامین B<sub>12</sub> سرم نیز ممکن است در اثر عدم تبدیل آن به فرم فعال، در محل اصلی تبدیل، یعنی کلیه ها، ایجاد شده است.

**واژگان کلیدی:** همودیالیز، هوموسیستئین، اسید فولیک، بیماریهای قلبی عروقی

## • مقدمه

فعال کلیه که باعث کاهش تصفیه گلوبرولی می شود، سطح tHcy افزایش می یابد. البته با شروع همودیالیز، سطح آن

افزایش هوموسیستئین تام (tHcy) پلاسما یکی از مهمترین عوارض همودیالیز است. همزمان با کاهش توده

مکمل یاری با اسید فولیک استفاده می‌شود، هدف از این مطالعه، بررسی وضعیت هوموسیستئین در بیماران همودیالیزی دریافت کننده دوز ۵ میلی گرم در روز اسید فولیک خوراکی، در بیمارستان امام حسین (ع) تهران بود.

### • مواد و روشها

در این مطالعه مقطعی ۴۰ بیمار همودیالیزی تحت پوشش بیمارستان امام حسین (ع) و داوطلب همکاری با طرح انتخاب شدند که در سنین بالای ۱۸ سال بودند و شرایط زیر را نداشتند: سابقه دیالیز کمتر از ۳ ماه، دیالیز کمتر از ۳ بار در هفته، دریافت مکمل فولات با دوز بالاتر از ۵ میلی گرم در روز و هرگونه مکمل ویتامین‌های گروه B غیر از فولات در ۳ ماه گذشته، مصرف داروهای مداخله کننده با tHcy، سوء تغذیه ( $2 \text{ mg/dl} < \text{آلبومین}$ )، رد پیوند در ۶ ماه گذشته و اختلالات کبدی.

این بیماران برای جمع آوری اطلاعات مربوط به سن، کشیدن سیگار، مصرف چای و قهوه و وضعیت یائسگی، مورد مصاحبه چهره به چهره قرار گرفتند. اطلاعات مربوط به سابقه دیالیز و سابقه شناخته شده دیابت ملیتوس، فشار خون و هیپرکلسترولمی با مراجعه به پرونده بیماران به دست آمد. اندازه گیری قد، بدون کفش و با استفاده از متر پارچه‌ای و طبق دستورالعمل‌های استاندارد انجام گرفت (۱۲). به منظور حذف خطاهای فردی، تمام اندازه‌گیریها توسط یک نفر انجام شد.

به منظور بررسی میزان دریافت غذایی ویتامین‌های گروه B مرتبط با متابولیسم tHcy (اسید فولیک و ویتامین‌های  $B_2$  و  $B_6$  و  $B_{12}$ ) (۱۳، ۱۴)، پرسشنامه‌های یاد آمد ۲۴ ساعته خوراک برای ۳ روز متوالی، برای بیماران تکمیل شد. این پرسشنامه‌ها با استفاده از نرم‌افزار تغذیه‌ای Food Processor مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. به منظور تعیین وضعیت شاخصهای بیوشیمیایی، از هر بیمار ۱۰ cc خون در حالت ناشتا گرفته می‌شد. نمونه‌ها پس از جمع‌آوری، روی یخ نگهداری شده و ۳ cc از خون گرفته شده حداکثر ظرف مدت یک ساعت در سانتریفوژ یخچال دار سانتریفوژ شده و پلاسمای آن برای ارزیابی سطح tHcy به روش rapid, isocratic, high performance liquid chromatography توسط دستگاه HPLC (۱۵) جداسازی می‌شد. محدوده طبیعی برای tHcy،  $5-16 \mu\text{mol/L}$  است و مقادیر بالاتر از  $16 \mu\text{mol/L}$  به عنوان هیپرهوموسیستئینمی شناخته می‌شد (۱۶). ۴ cc از خون نگهداری شده بر روی یخ، سانتریفوژ و

دوباره کاهش می‌یابد، ولی در محدوده طبیعی قرار نمی‌گیرد (۱، ۲). از این رو، هیپرهوموسیستئینمی حداقل در ۸۵ تا ۱۰۰ درصد از بیماران تحت همودیالیز دیده می‌شود (۳).

هیپرهوموسیستئینمی یک عامل خطر مستقل برای بیماریهای قلبی عروقی و بویژه آترواسکلروز و آتروترمبوز است (۴). هر  $1 \mu\text{mol/L}$  افزایش در سطح tHcy خطر بیماریهای قلبی عروقی را به میزان ۱ درصد افزایش می‌دهد (۵). به همین جهت، میزان مرگ و میر ناشی از بیماریهای قلبی عروقی در بیماران همودیالیز  $3/5$  برابر سایر جمعیتها در همان گروه سنی است و این بیماریها مسئول بیش از ۵۰ درصد مرگ و میر در بیماران دچار اورمی هستند (۶).

متابولیسم هوموسیستئین در دو مسیر، یکی ریمتیلایسون و دیگری ترانس سولفوراسیون انجام می‌گیرد. برای ریمتیلایسون، فرم فعال اسید فولیک یعنی تتراهیدروفولات، همچنین ویتامین  $B_{12}$ ، به عنوان کوفاکتور ضروری برای آنزیم متیونین سنتاز که ۵-متیل تترا هیدرو فولات را به تترا هیدرو فولات متابولیزه می‌کند و ویتامین  $B_2$  به عنوان پیش ساز فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD) که تبدیل ۵-۱۰ متیلن تتراهیدروفولات به ۵-متیل تتراهیدروفولات را تسهیل می‌کند، مورد نیاز هستند. ویتامین  $B_6$  در مسیر ترانس سولفوراسیون به عنوان کوفاکتور آنزیم سیستاتین  $\beta$  سنتاز نقش دارد. این آنزیم، متابولیسم هوموسیستئین و سرین را به سیستاتین، کاتالیز می‌کند (۷).

با توجه به مسیرهای متابولیکی هوموسیستئین، تا به حال مداخلات مختلفی برای طبیعی کردن سطح هوموسیستئین در بیماران همودیالیزی صورت گرفته است. این مداخلات عمدتاً مشتمل بر دوزهای مختلف اسید فولیک بوده‌اند که البته بندرت توانسته‌اند، سطح هوموسیستئین را در بیماران به محدوده طبیعی برسانند (۸-۱۰). در برخی مداخلات نیز از دوزهای مختلف ویتامین‌های  $B_6$  و  $B_{12}$ ، فولیک اسید، بتائین، سرین و تورین استفاده شده و نتایج متناقضی به دست آمده است (۱، ۵، ۸، ۹، ۱۱). بنا به تایید مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران، تا به حال در کشور، هیچ مطالعه‌ای بر روی وضعیت هوموسیستئین در بیماران همودیالیزی صورت نگرفته است.

با توجه به اینکه در کشور ما، برای کنترل هیپرهوموسیستئینمی در بیماران همودیالیزی، صرفاً از

(۷۵٪) در محدوده هیپرهوموسیستئینی قرار داشت. میانه سطح اسیدفولیک سرم در این جمعیت،  $113/92$  ng/ml (IQR =  $101/55$ ) بود که این شاخص در ۵ نفر (۱۲/۵٪) طبیعی و در ۳۵ نفر (۸۷/۵٪) بالاتر از حد طبیعی بود. میانه سطح ویتامین  $B_{12}$  سرم نیز  $526/5$  pg/ml (IQR =  $945$ ) گزارش شد که در ۱۵ نفر (۳۷/۵٪) در محدوده طبیعی و در ۲۵ نفر (۶۲/۵٪) بالاتر از حد طبیعی بود.

میانه آلبومین در بیماران  $4/6$  gr/dl (IQR =  $0/925$ ) و ۳۸ نفر (۹۵٪) از آنها دارای سطح طبیعی آلبومین بودند. میانگین سطح کراتینین  $7/2$  mg/dl (SD =  $1/564$ ) تعیین شد و ۲ نفر (۵٪) از جمعیت مورد مطالعه از نظر این شاخص، در محدوده طبیعی قرار داشتند. میانگین اوره نیز  $22$  mg/dl (SD =  $20/67$ ) بود و ۳۳/۱۰۳ نفر (۵۵٪) از بیماران، طبیعی بودند.

میانگین دریافت غذایی اسیدفولیک و ویتامین های  $B_{12}$ ،  $B_6$  و  $B_2$  به ترتیب  $137/83$  (SD =  $105/91$ )  $\mu$ g/d ،  $2/46$  (SD =  $2/1$ ) mg/d و  $0/9483$  (SD =  $0/43$ ) mg/d و  $0/95$  (SD =  $0/48$ ) بود.

از ۴۰ بیمار مورد مطالعه، ۵ نفر (۱۲/۵٪) سیگاری (بیش از ۳ نخ سیگار در روز)، ۸ نفر (۲۰٪) دارای سابقه شناخته شده دیابت ملیتوس، ۲۶ نفر (۶۵٪) دارای سابقه شناخته شده فشارخون و ۳ نفر (۷/۵٪) دارای سابقه شناخته شده هیپرلیپیدمی بودند. از ۱۴ زنی که در مطالعه شرکت داشتند، ۶ نفر (۴۲٪) یائسه بودند.

همبستگی شاخص tHcy پلاسما با شاخصهای کمی و مقایسه متوسط این شاخص بر حسب شاخصهای کیفی به ترتیب در جدولهای ۳ و ۴ آمده است.

نوعی ارتباط معنی دار و معکوس بین سطح tHcy پلاسما با اسید فولیک سرم ( $P = 0/014$  و  $P = -0/384$ )، قد ( $P = 0/048$  و  $P = -0/314$ ) و دریافت های غذایی ویتامین  $B_6$  ( $P = 0/029$  و  $P = -0/354$ ) و ویتامین  $B_2$  ( $P = 0/02$ ) و  $P = -0/376$ ) مشاهده شد. از بین شاخصهای کیفی، تنها تفاوت معنی دار، در متوسط سطح tHcy پلاسما بر حسب شاخص جنسیت مشاهده شد ( $P = 0/03$ ) به طوری که متوسط این شاخص در زنان، بیش از مردان بود. هیچ ارتباط معنی داری بین سطح tHcy پلاسما با سایر شاخصها نظیر ویتامین  $B_{12}$  سرم، سن، سابقه دیالیز، کشیدن سیگار، مصرف

سرم آن جداسازی می شد و برای ارزیابی سطح اسید فولیک و ویتامین  $B_{12}$  سرم به روش competitive immunoassay و توسط دستگاه automated chemiluminescence system آنالیز می شد (۱۷). محدوده طبیعی برای اسید فولیک سرم  $3-16$  ng/ml و برای ویتامین  $B_{12}$   $800-1100$  pg/ml است (۱۸). ۳cc از خون بیمار برای ارزیابی سطح آلبومین، کراتینین و اوره، به ترتیب به روش شیمیایی برم کروزل گرین، روش شیمیایی واکنش با پیکرات قلبایی و روش آنزیمی اوره آز آنالیز می شد (۱۷). محدوده طبیعی برای بیماران دیالیزی به ترتیب  $3/5-5$  gr/dl ،  $10-15$  mg/dl و  $100$  mg/dl است (۱۹).

خون گیری از بیماران در روز دیالیز و قبل از اتصال به دستگاه همودیالیز انجام می شد. به علاوه تمام بیماران، آخرین دوز اسیدفولیک ۵ میلی گرمی را در فاصله ۲۳ تا ۲۴ ساعت قبل از زمان خون گیری دریافت می کردند.

اطلاعات به دست آمده از بیماران توسط نرم افزار آماری SPSS<sub>12</sub> مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. شاخصهای مرکزیت و پراکندگی، در مورد متغیرهای مورد مطالعه، به صورت میانگین به همراه انحراف معیار (SD) و یا میانه به همراه IQR (در مواقع چولگی توزیع) گزارش شده اند. فراوانی نسبی افراد، در هر سطح از شاخصهای مختلف، به صورت درصد به همراه حدود اطمینان ۹۵ درصد اعلام شده است. همبستگی شاخص tHcy پلاسما با سایر شاخصهای کمی، با استفاده از آزمون دو دامنه همبستگی اسپیرمن، ارزیابی شده است. مقایسه متوسط این شاخص بر حسب شاخصهای کیفی به وسیله آزمون ناپارامتری U - من ویتنی انجام شده است.

### • یافته ها

توصیف صفات مورد بررسی در بیماران مورد مطالعه و فراوانی نسبی افراد در هر سطح از شاخصهای مورد مطالعه در جدولهای ۱ و ۲ آمده است.

از ۴۰ بیمار مورد مطالعه ۱۴ نفر زن (۳۵٪) و ۲۶ نفر مرد (۶۵٪) بودند. میانگین سنی در آنها  $48/4$  (SD =  $17/04$ ) سال، میانه سابقه دیالیز  $62/5$  (IQR =  $39/5$ ) ماه و میانگین قد  $160/88$  (SD =  $9/77$ ) سانتی متر گزارش شد. میانه مصرف چای در جمعیت،  $360$  (IQR =  $375$ ) میلی لیتر در روز بود قهوه مصرف نمی شد.

میانه سطح tHcy پلاسما  $12/17$   $\mu$ mol/l (IQR =  $20/95$ ) بود. سطح این شاخص در ۴ نفر (۱۰٪) در محدوده طبیعی، در ۶ نفر (۱۵٪) در محدوده مرزی و در ۳۰ نفر

جدول ۲- فراوانی نسبی افراد در هر سطح از شاخصهای مورد مطالعه

| شاخص                                                                              | فراوانی | فراوانی نسبی | حدود اطمینان ۹۵ درصد |
|-----------------------------------------------------------------------------------|---------|--------------|----------------------|
| • tHcy پلاسما                                                                     |         |              |                      |
| - طبیعی ( $< 12 \mu\text{mol/L}$ )                                                | ۴       | ۰/۱          | (۰/۰۲۷ و ۰/۲۵۶)*     |
| - مرزی ( $12-16 \mu\text{mol/L}$ )                                                | ۶       | ۰/۱۵         | (۰/۰۵۵ و ۰/۳۳)*      |
| - هیپرهومیستئینی ( $> 16 \mu\text{mol/L}$ )                                       | ۳۰      | ۰/۷۵         | (۰/۰۶۱۶ و ۰/۸۸۴)     |
| • اسید فولیک سرم                                                                  |         |              |                      |
| - پایین تر از حد طبیعی ( $< 3 \text{ ng/ml}$ )                                    | ۰       | ۰            | (۰ و ۰/۹۲)*          |
| - طبیعی ( $3-16 \text{ ng/ml}$ )                                                  | ۵       | ۰/۱۲۵        | (۰/۰۰۴ و ۰/۲۹)*      |
| - بالاتر از حد طبیعی ( $> 16 \text{ ng/ml}$ )                                     | ۳۵      | ۰/۸۷۵        | (۰/۰۷۷۵ و ۰/۹۷۵)     |
| • ویتامین B <sub>12</sub>                                                         |         |              |                      |
| - پایین تر از حد طبیعی ( $< 110 \text{ pg/ml}$ )                                  | ۰       | ۰            | (۰ و ۰/۹۲)*          |
| - طبیعی ( $110-800 \text{ pg/ml}$ )                                               | ۱۵      | ۰/۳۷۵        | (۰/۰۲۲۵ و ۰/۵۲۵)     |
| - بالاتر از حد طبیعی ( $> 800 \text{ pg/ml}$ )                                    | ۲۵      | ۰/۶۲۵        | (۰/۰۴۷۵ و ۰/۷۷۵)     |
| • آلبومین                                                                         |         |              |                      |
| - پایین تر از حد طبیعی ( $< 3/5 \text{ gr/dl}$ )                                  | ۲       | ۰/۰۵         | (۰/۰۰۶ و ۰/۱۸)*      |
| - طبیعی ( $3/5-5 \text{ gr/dl}$ )                                                 | ۳۸      | ۰/۹۵         | (۰/۰۸ و ۱)*          |
| • کراتینین                                                                        |         |              |                      |
| - پایین تر از حد طبیعی برای بیماران دیالیزی ( $< 10 \text{ mg/dl}$ ) <sup>†</sup> | ۳۸      | ۰/۹۵         | (۰/۰۸ و ۱)*          |
| - طبیعی ( $10-15 \text{ mg/dl}$ )                                                 | ۲       | ۰/۰۵         | (۰/۰۰۶ و ۰/۱۸)*      |
| • اوره                                                                            |         |              |                      |
| - طبیعی ( $< 100 \text{ mg/dl}$ )                                                 | ۲۲      | ۰/۵۵         | (۰/۰۳۹۶ و ۰/۷۰۴)     |
| - بالاتر از حد طبیعی ( $> 100 \text{ mg/dl}$ )                                    | ۱۸      | ۰/۴۵         | (۰/۰۲۹۶ و ۰/۶۰۴)     |

\* Exact confidence interval

<sup>†</sup> مقدار نرمال کراتینین برای بیماران دیالیزی ۱۰-۱۵ mg/dl و برای افراد سالم ۰/۷-۱/۵ mg/dl است. در همه ۳۸ بیمار، دارای مقادیر کراتینین، کمتر از ۱۰ و بالاتر از ۱/۵ بود.

جدول ۳- همبستگی شاخص tHcy پلاسما با سایر شاخصهای کمی مورد مطالعه

| شاخص آزمون شده با tHcy پلاسما        | ضریب همبستگی اسپیرمن ( $\rho$ ) | سطح معنی داری (P-value) |
|--------------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
| اسید فولیک سرم                       | - ۰/۳۸۴                         | ۰/۰۱۴ *                 |
| ویتامین B <sub>12</sub> سرم          | - ۰/۰۵۰                         | ۰/۷۶۱                   |
| سن                                   | - ۰/۰۷۸                         | ۰/۶۳۴                   |
| سابقه دیالیز                         | - ۰/۱۳۲                         | ۰/۴۱۶                   |
| قد                                   | - ۰/۳۱۴                         | ۰/۰۴۸ *                 |
| مصرف چای                             | - ۰/۰۷۷                         | ۰/۶۴۵                   |
| آلبومین                              | - ۰/۱۷۴                         | ۰/۲۸۳                   |
| کراتینین                             | - ۰/۲۵۴                         | ۰/۱۱۴                   |
| اوره                                 | - ۰/۱۰۷                         | ۰/۵۱۳                   |
| دریافت غذایی اسیدفولیک               | - ۰/۲۵۶                         | ۰/۱۲۱                   |
| دریافت غذایی ویتامین B <sub>12</sub> | - ۰/۲۵۷                         | ۰/۱۲                    |
| دریافت غذایی ویتامین B <sub>6</sub>  | - ۰/۳۵۴                         | ۰/۰۲۹ *                 |
| دریافت غذایی ویتامین B <sub>2</sub>  | - ۰/۳۷۶                         | ۰/۰۲ *                  |

\* مقادیر  $P < 0/05$  معنی دار در نظر گرفته شده اند.

چای و قهوه، وضعیت یائسگی، سابقه شناخته شده دیابت ملیتوس، فشارخون و هیپرلیپیدمی، سطح آلبومین، کراتینین اوره و مقدار دریافت های غذایی اسیدفولیک و ویتامین B<sub>12</sub> وجود نداشت.

جدول ۱- میانگین یا میانه صفات مورد بررسی در بیماران مورد مطالعه

| شاخص                                        | میانگین یا میانه                               |
|---------------------------------------------|------------------------------------------------|
| tHcy پلاسما ( $\mu\text{mol/L}$ )           | $20/95$ (IQR = $12/17$ ) *                     |
| اسید فولیک سرم (ng/ml)                      | $101/55$ (IQR = $113/92$ )                     |
| ویتامین B <sub>12</sub> سرم (pg/ml)         | $945$ (IQR = $526/5$ )                         |
| سن (سال)                                    | $48/4$ (SD = $17/04$ ) <sup>†</sup>            |
| جنسیت                                       | زن - $14$ (۳۵) <sup>‡</sup><br>مرد - $26$ (۶۵) |
| سابقه دیالیز (ماه)                          | $39/5$ (IQR = $62/5$ )                         |
| قد (cm)                                     | $160/088$ (SD = $9/77$ )                       |
| کشیدن سیگار                                 | بله - $5$ (۱۲/۵)<br>خیر - $35$ (۸۷/۵)          |
| مصرف چای (cc/d)                             | $375$ (IQR = $360$ )                           |
| وضعیت یائسگی                                | - یائسه $6$ (۴۲/۸)<br>- غیر یائسه $8$ (۵۷/۱)   |
| سابقه شناخته شده دیابت ملیتوس               | بله - $8$ (۲۰)<br>خیر - $32$ (۸۰)              |
| سابقه شناخته شده فشار خون                   | بله - $26$ (۶۵)<br>خیر - $14$ (۳۵)             |
| سابقه شناخته شده هیپرلیپیدمی                | بله - $3$ (۷/۵)<br>خیر - $37$ (۹۲/۵)           |
| آلبومین (g/dl)                              | $4/6$ (IQR = $0/925$ )                         |
| کراتینین (mg/dl)                            | $7/2$ (SD = $1/564$ )                          |
| اوره (mg/dl)                                | $103/33$ (SD = $20/67$ )                       |
| دریافت غذایی اسیدفولیک ( $\mu\text{g/d}$ )  | $137/83$ (SD = $105/91$ )                      |
| دریافت غذایی ویتامین B <sub>12</sub> (mg/d) | $2/46$ (SD = $2/1$ )                           |
| دریافت غذایی ویتامین B <sub>6</sub> (mg/d)  | $0/94$ (SD = $0/43$ )                          |
| دریافت غذایی ویتامین B <sub>2</sub> (mg/d)  | $0/95$ (SD = $0/48$ )                          |

\* در مواردی که توزیع صفت، دارای چولگی بوده است، میانه به عنوان شاخص مرکزیت و (IQR ( Inter Quartile Range به عنوان شاخص پراکندگی اعلام شده است.

<sup>†</sup> در مواردی که میانگین، شاخص مناسبی برای مرکزیت بوده است، SD به عنوان شاخص پراکندگی اعلام شده است.

<sup>‡</sup> شاخصهای کیفی به صورت (درصد) تعداد بیان شده اند.

جدول ۴- مقایسه متوسط سطح tHcy پلازما بر حسب شاخصهای کیفی مورد مطالعه

| شاخص                            | متوسط سطح tHcy (X) | انحراف معیار (SD) | سطح معنی داری (P-value)* |
|---------------------------------|--------------------|-------------------|--------------------------|
| ● جنسیت                         |                    |                   |                          |
| - زن                            | ۲۶/۸۲              | ۹/۴۴              | ۰/۰۳۰ <sup>†</sup>       |
| - مرد                           | ۲۴/۴۳              | ۲۴/۶۸             |                          |
| ● وضعیت یائسگی                  |                    |                   |                          |
| - یائسه                         | ۲۳/۲۳              | ۵/۹۸              | ۰/۱۸۱ <sup>‡</sup>       |
| - غیر یائسه                     | ۲۹/۵۲              | ۱۰/۹۹             |                          |
| ● کشیدن سیگار                   |                    |                   |                          |
| - بله                           | ۲۲/۲۰              | ۱۲/۲۴             | ۰/۷۲۱ <sup>‡</sup>       |
| - خیر                           | ۲۵/۷۱              | ۲۱/۵۴             |                          |
| ● سابقه شناخته شده دیابت ملیتوس |                    |                   |                          |
| - بله                           | ۳۸/۲۷              | ۴۱/۷              | ۰/۲۷۸ <sup>‡</sup>       |
| - خیر                           | ۲۲/۰۲              | ۹/۱۱              |                          |
| ● سابقه شناخته شده فشار خون     |                    |                   |                          |
| - بله                           | ۲۲/۸۲              | ۹/۰۶              | ۰/۸۸۷                    |
| - خیر                           | ۲۹/۸۲              | ۳۲/۷۴             |                          |
| ● سابقه شناخته شده هیپرلیپیدمی  |                    |                   |                          |
| - بله                           | ۲۷/۲۳              | ۱۴/۶۱             | ۰/۵۵۷ <sup>‡</sup>       |
| - خیر                           | ۲۵/۱۱              | ۲۱/۰۸             |                          |

\* سطح معنی داری با استفاده از آزمون ناپارامتری U - من ویتنی محاسبه شده است.

<sup>†</sup> مقادیر  $P < ۰/۰۵$  معنادار در نظر گرفته شده اند<sup>‡</sup> Exact Pvalue

## • بحث

در مطالعه حاضر، مکمل یاری با دوز ۵ میلی گرم در روز اسید فولیک خوراکی، باعث افزایش سطح اسید فولیک سرم تا حد طبیعی و بالاتر از حد طبیعی شد، اما با وجود این ۷۵ درصد از بیماران، همچنان در محدوده هیپرهوموسیستئینمی باقی ماندند. چنین وضعیتی در برخی مطالعات مشابه نیز گزارش شده است. همه این مطالعات، روی بیماران همودیالیزی انجام شده که پیش از شروع مطالعه، ذخایر اسید فولیک در آنها بازسازی شده است (۲۰)، همچنین در بسیاری از مطالعات که بیماران همودیالیزی فاقد سابقه مکمل یاری، تحت مداخله با دوز های مختلف اسید فولیک قرار گرفته اند، سطح tHcy در اغلب بیماران همچنان در محدوده هیپرهوموسیستئینمی باقی مانده است (۱، ۳، ۸، ۹، ۲۲).

علت عدم ورود بیماران به محدوده طبیعی هموسیستئین، با وجود مکمل یاری با اسید فولیک، هنوز به درستی مشخص نیست. در حالی که مکمل یاری با اسید فولیک باعث افزایش غیر طبیعی سطح اسید فولیک سرم شده است.

یکی از علل مرتبط، احتمالاً اثر ویژه ای است که محیط اورمیک بر متابولیسم هموسیستئین (Hcy) اعمال می کند (۲۳). این اثر از یک سو باعث ایجاد نوعی مقاومت به اسید فولیک می شود که مستقل از نوع اسید فولیک و مسیر تجویز آن به بیمار است (۳، ۵). از سوی دیگر در شرایط اورمیک، پیش ساز Hcy یعنی S-آدنوزیل هموسیستئین که یک مهار کننده رقابتی قوی برای متیل ترانسفرازهای وابسته به S-آدنوزیل متیونین است، افزایش یافته و باعث عدم تعادل در متیلاسیون و در واقع اختلال در چرخه ریمتیلاسیون Met-Hcy می شود (۳، ۲۰).

علت دیگری که می توان برای اثرگذاری ناقص اسید فولیک در کاهش tHcy پلازما در نظر گرفت، عدم دسترسی درون سلولی اسید فولیک در بیماران همودیالیزی است که به دو دلیل عمده بروز می کند. اول اینکه، آنزیم فولات کانژوگاز در بیماران همودیالیزی کاهش می یابد. این در حالی است که فولات غذایی و فولات ذخیره شده در سلول، عمدتاً به شکل پتروئیل گلوتمات ها هستند و برای اینکه بتوانند طول زنجیره فولات درون سلولی را تغییر دهند، به این آنزیم

و گاهی وارد محدوده طبیعی کنند. این مسئله نشان می‌دهد که با اصلاح دوز و ترکیب مکمل های دریافتی می‌توان مکانیسم های مورد بحث را در جهت کاهش سطح Hcy و همچنین جلوگیری از تجمع مواد مورد نیاز برای چرخه سلولی Hcy تغییر داد.

بهترین راهبرد درمانی در بیماران همودیالیزی مبتلا به هیپرهوموسیستئینمی، هنوز در هاله ابهام است. اما به دلایل زیر، اسید فولیک و ویتامین B<sub>12</sub> باید در ترکیب مکمل های این بیماران گنجانده شوند. این بیماران به دلیل محدودیت دریافت رژیمی اسید فولیک، از دست رفتن آن در مایع دیالیز و درمان با اریتروپویتین که باعث افزایش نیاز به اسید فولیک می‌شود، باید تحت مکمل یاری با اسید فولیک قرار گیرند (۳). در کنار اسید فولیک، مکمل یاری با شکل فعال ویتامین B<sub>12</sub> نیز ضرورت دارد. زیرا اولاً برای جلوگیری از مخفی شدن علائم نورولوژیک کم خونی مگالوبلاستیک، مکمل یاری با اسید فولیک باید توأم با ویتامین B<sub>12</sub> باشد. ثانیاً با وجود طبیعی بودن سطح ویتامین B<sub>12</sub> سرم، غلظت های بالای متیل مالونیک اسید که حاکی از کمبود شکل فعال این ویتامین است، در اغلب بیماران دیده می‌شود. ثالثاً درمان با اریتروپویتین، بیماران دیالیزی را در معرض خطر کمبود شکل فعال ویتامین B<sub>12</sub> قرار می‌دهد (۳).

در پایان باید گفت که افزایش سطح tHcy در بیماران همودیالیزی، معلول عوامل مختلفی مانند اثر ویتامین ها، وضعیت تغذیه ای، ژنتیک، درجه نارسایی کلیه، وضعیت متابولیسم سلولی و بسیاری عوامل دیگر است (۲۶). در طراحی مطالعات آینده باید مجموع این عوامل را مد نظر قرار داد تا برای کاهش موثر سطح tHcy پلاسما و متعاقب آن، کاهش احتمال خطر بیماریهای قلبی عروقی، بتوان به روشهای درمانی کارآمدی دست یافت.

#### • منابع

1. Righetti M, Ferrerio GM, Milani S, et al. Effects of folic acid treatment on homocysteine levels and vascular disease in hemodialysis patients. *Med Sci Monit* 2003; 9(4): 137-42
2. Wang HT, Peng YM, Liu H. Alteration of homocysteine before and after hemodialysis in chronic hemodialysis patients. *Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao* 2003; 28(3): 266-8
3. Billion S, Tribout B, Cadet E, et al. Hyperhomocysteinemia, folate and vitamin B12 in supplemented haemodialysis patients: effects of oral

نیاز دارند. افزایش طول زنجیره فولات درون سلولی برای ایجاد توانایی در دادن گروه های متیل مورد نیاز برای متیلاسیون Hcy، ضروری است. دوم اینکه، تجمع آنیون ها در اورمی، باعث مهار انتقال فولات از طریق غشای سلول می‌شود (۵).

برخی مطالعات حیوانی هم نشان داده اند که نارسایی مزمن کلیه باعث اختلال در جذب روده‌ای اسید فولیک می‌شود (۲۴). البته این مسئله چندان محتمل به نظر نمی‌رسد. زیرا در مطالعه حاضر، در تعداد قابل توجهی از بیماران، سطح اسید فولیک سرمی، بالاتر از حد طبیعی بود. مجموع این عوامل باعث کاهش مصرف سلولی اسید فولیک در بیماران همودیالیزی می‌شود که از یک سو منجر به افزایش غیر طبیعی سطح این ویتامین در سرم و از سوی دیگر، عدم مصرف آن در چرخه متابولیسم Hcy می‌شود و در نتیجه، بیماران را وارد محدوده هیپرهوموسیستئینمی می‌کند. به عبارت دیگر، بیماران همودیالیزی با کمبود فیزیولوژیک اسید فولیک مواجه هستند.

یافته دیگر، سطح افزایش یافته ویتامین B<sub>12</sub> سرم، در تعداد قابل توجهی از بیماران بود که بدون هیچ گونه مداخله‌ای ایجاد شد. این یافته در بسیاری از مطالعات مشابه دیگر نیز که روی بیماران همودیالیزی مبتلا به هیپرهوموسیستئینمی و فاقد سابقه مکمل یاری با ویتامین B<sub>12</sub> انجام شده‌اند، به دست آمده است. در این بررسیها تمام بیماران، در محدوده طبیعی و بالاتر از حد طبیعی ویتامین B<sub>12</sub> قرار داشتند (۹، ۲۵، ۲۶).

از آنجا که ویتامین B<sub>12</sub> به شدت متصل به پروتئین است، در جریان عمل دیالیز از دست نمی‌رود و کمبود آن بندرت مشاهده می‌شود (۳). اما در نارسایی کلیه، تبدیل ویتامین B<sub>12</sub> به شکل فعال آن، در محل اصلی تبدیل یعنی کلیه ها دچار اختلال می‌شود (۹، ۲۶). این دو عامل، موجب می‌شوند که بیماران همودیالیزی با کمبود فیزیولوژیک ویتامین B<sub>12</sub> مواجه شوند و در نتیجه، این ویتامین در سرم بیماران تجمع یابد.

نکته قابل تأمل اینکه در بسیاری از مطالعات، با استفاده از دوز های بالاتر اسید فولیک یا مکمل یاری در دوره‌های طولانی مدت (۱، ۲۶، ۲۷) و همچنین مکمل یاری توأم با سایر ویتامین‌های گروه B و برخی دیگر از عوامل مؤثر در چرخه متابولیسم Hcy (۱۱-۸، ۳۰-۲۸)، توانسته‌اند سطح Hcy را در بیماران همودیالیزی به طرز مؤثری کاهش دهند

- therapy with folic acid and vitamin B12. *Nephron Dial Transplant* 2002; 17: 455-61
4. Friedman AN. Pharmacologic B-vitamin therapy for hyperhomocysteinemia in dialysis patients: has the time come? *Nutr Clin Care* 2002; 5(1): 20-4
  5. Gonin JM, Nguyen H, Gonin R, et al. Controlled trials of very high dose folic acid, vitamins B12 and B6, intravenous folinic acid and serine for treatment of hyperhomocysteinemia in ESRD. *J Nephrol* 2003; 16: 522-534
  - lkooff-Rubin N, Goes N. Cecil textbook of medicine. W.B. Saunders company 2004. p.719
  7. Finkelsteine JD. The metabolism of homocysteine: pathways and regulation. *Eur J Pediatr* 1998; 157: s40-4
  8. Koyama K, Usami T, Takeuchi O, et al. Efficacy of methylcobalamin on lowering total homocysteine plasma concentrations in haemodialysis patients receiving high-dose folic acid supplementation. *Nephron Dial Transplant* 2002; 17: 916-22
  9. Manns B, Hyndman E, Burgess E, et al. Oral vitamin B12 and high-dose folic acid in hemodialysis patients with hyperhomocysteinemia. *Kidney Int* 2001; 59: 1103-9
  10. Bostom AG, Shemin D, Lapane KL, et al. High dose B-vitamin treatment of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Kidney Int* 1996; 49: 147-52
  11. Elian KM, Hoffer J. Hydroxocobalamin reduces hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease. *Metabolism* 2002; 51: 881-6
  12. Jelliffe DB, Jelliffe EEP. Community nutrition assessment. Oxford University Press 1989. p.56-110
  13. Toborek M, Hennig B. Dietary methionine imbalance, endothelial cell dysfunction and atherosclerosis. *Nut Res* 1996; 16: 1251-66
  14. Verhoef P, Stampfer MJ, Buring JE, et al. Homocysteine metabolism and risk of myocardial infarction : relation with Vitamin B<sub>6</sub> , B<sub>12</sub> and folate. *Am J Epidemiol* 1996; 143: 845-59
  15. Pfeiffer CM, Twite D, Shih J, et al. Method comparison for total plasma homocysteine between the Abbott IMx analyzer and an HPLC assay with internal standardization. *Clin Chem* 1999; 45: 152-3
  16. Kopple JD, Massry SG. Nutritional management of renal disease. Lippincot Williams & Wilkins 2004. p. 118
  17. Burtis CA, Ashwood ER. Tietz textbook of clinical Chemistry. W.B. Saunders company 1999. p. 529-30, 1240-4, 1696-7
  18. Miller SM, Mears E. Clinical chemistry, concepts and applications. Mc Graw-Hill companies 2003. p. 593,596
  19. Wilkens KG. Krause's food, nutrition and diet therapy. Saunders company 2000. p. 851-3
  20. Karpati I, Balla J, Szoke, et al. Frequency of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients with folic acid supplementation. *Orv Hetil* 2002; 43(27): 1635-40
  21. Arnadottir M, Hultberg B. The effect of vitamin B12 on total plasma homocysteine in folate-replete hemo dialysis patients. *Clin Nephrol* 2003;59(3): 186-9
  22. Spence JD, Cordy P, Kortas C, Freeman D. Effect of usual doses of folate supplementation on elevated plasma homocysteine in hemodialysis patients: No difference between 1 and 5 mg daily. *Am J of Nephrology* 1999; 19: 405-10
  23. Arnadottir M, Gudnason V, Hultberg B. Treatment with different doses of folic acid in hemodialysis patients: effects on folate distribution and aminothiol concentrations. *Nephron Dial Transplant* 2000; 15: 524-8
  24. Said HM, Vasiri ND, Kariger RK, Hollander D. Intestinal absorption of 5-methyltetrahydrofolate in experimental uremia. *Acta Vitaminol Enzymol* 1984; 6: 339-46
  25. Chaung FR, Fang JT, Chen JB, et al. Hyperhomocysteinemia and the prevalence of symptomatic atherosclerotic vascular disease in Taiwanese chronic hemodialysis patients: A retrospective study. *Ren Fail* 2003; 25(5): 765-74
  26. Trimarchi H, Schiel A, Freixas E, Diaz M. Randomized trial of methylcobalamin and folate effects on homocysteine in hemodialysis patients. *Nephron* 2002; 91: 58-63
  27. Saunder-Plassmann G, Fodinger M, Buchmayer H, et al. Effect of high dose folic acid therapy on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients: Results of the Vienna multicenter study. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1106-16
  28. Sombolos K, Fragia T, Natse T, et al. The effect of long-term intravenous high dose B-vitamins with or without folic acid on serum homocysteine in hemodialysis patients. *J Nephrol* 2002; 15: 671-5
  29. Dierkes J, Domrose U, Ambrosch A, et al. Supplementation with vitamin B12 decreases homocysteine and methylmalonic acid but also serum folate in patients with end-stage renal disease. *Metabolism* 1999; 48(5): 631-5
  30. Tremblay R, Bonnardeaux A, Geadah D, et al. Hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients: Effect of 12-month supplementation with hydrosoluble vitamins. *Kidney Int* 2000; 58: 851-8