

## تأثیر بهبود وضعیت ویتامین D بر اصلاح شاخص‌های التهاب سیستمیک از جمله آدیپوکین‌ها در بیماران دیابتی نوع ۲ دریافت کننده دوز غنی شده با ویتامین D و کلسیم یا ویتامین D بدون کلسیم

نسترن شریعت زاده<sup>۱</sup>، ملیحه زاهدی راد<sup>۱</sup>، تیرنگ رضا نیستانی<sup>۲</sup>، بهاره نیکویه<sup>۱</sup>، حمید علوی مجد<sup>۳</sup>، علی کلایی<sup>۱</sup>، نیما طیبی نژاد<sup>۱</sup>، سودابه هروی فرد<sup>۱</sup>، شبنم سالک زمانی<sup>۴</sup>، مریم سلیمانی<sup>۵</sup>

- ۱- گروه تحقیقات تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تحقیقات تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی. پست الکترونیکی: neytr@yahoo.com
- ۳- دانشیار گروه آمار زیستی دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
- ۴- دانشجوی PhD علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
- ۵- کمیته تحقیقات دانشجویان، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

**سابقه و هدف:** از آنجایی که التهاب سیستمیک در ایجاد عوارض دراز مدت دیابت نقش مهمی دارد، این مطالعه برای تحقیق اثر ویتامین D دریافتی همراه با کلسیم یا بدون کلسیم بر روی شاخص‌های التهابی خاص بیماران دیابتی نوع ۲ انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور بر روی ۹۰ مرد و زن ۶۰-۳۰ ساله دیابتی نوع ۲ انجام شد. بیماران شرکت کننده به صورت تصادفی به ۳ گروه دریافت کننده دوز (دو بطری ۲۵۰ ml در روز) تقسیم شدند. ۱. گروه دریافت کننده دوز ساده (PD): هر بطری حاوی: ۱۵۰ mg کلسیم، بدون ویتامین D قابل اندازه گیری. ۲. گروه دریافت کننده دوز غنی شده با ویتامین D (DD): هر بطری حاوی ۵۰۰ ویتامین D و ۱۵۰ mg کلسیم. ۳. گروه دریافت کننده دوز غنی شده با ویتامین D و کلسیم (CDD): هر بطری حاوی ۵۰۰ ویتامین D و ۲۵۰ mg کلسیم. تغییرات شاخص‌های التهابی ارزیابی شد.

**یافته‌ها:** در دو گروه DD و CDD غلظت شاخص‌های پروتئین واکنشگر c، IL-1 $\beta$ ، IL-6، فیبرینوژن و پروتئین ۴ پیوندی با رتینول در مقایسه با ابتدای مطالعه کاهش معنی‌دار داشت. در گروه CDD کاهش پروتئین واکنشگر C و فیبرینوژن در مقایسه با گروه DD بیشتر ولی معنی‌دار نبود. در دو گروه DD و CDD افزایش معنی‌دار در غلظت آدیپونکتین سرم دیده شد ( $P < 0.05$ ). در گروه CDD متوسط تغییرات آدیپونکتین بالاتر از گروه PD بود ( $P = 0.021$ ).

**نتیجه گیری:** دریافت روزانه دوز غنی شده با ویتامین D در دیابتی‌های نوع ۲ باعث بهبود شاخص‌های التهابی می‌شود. کلسیم اضافی فقط بر شاخص ضد التهابی آدیپوکین مانند آدیپونکتین تأثیر مفید دارد.

**کلید واژه‌ها:** ویتامین D، التهاب، آدیپوکین‌ها، دیابت نوع ۲

### مقدمه

جمله موارد جدید مورد توجه هستند. نتایج نشان داده که تعدادی از آدیپوکین‌ها شامل آدیپونکتین، پروتئین پیوندی با رتینول ۴- (RBP) و لیپوکالین ۲- (LCN) بر روی فعالیت انسولین و واکنش‌های التهابی تأثیر دارند (۲). استئوپونکتین (OPN) که یک سیتوکین پیش التهابی ماتریکس خارج سلولی است و باعث القای کموتاکسیس می‌شود، به عنوان رابطی بین استخوان و سیستم ایمنی؛ میانجیگری در نفوذ ماکروفاژها به بافت چربی؛ و به دنبال آن مقاومت به انسولین

در دهه اخیر نقش احتمالی درجات خفیف التهاب سیستمیک و فعال شدن سیستم ایمنی بدن در پاتوژنز بیماری دیابت نوع ۲ مورد توجه متخصصان تغذیه بالینی قرار گرفته است. مطالعات نشان داده‌اند که شاخص‌های التهابی از جمله سیتوکین‌ها و واکنشگرهای فاز حاد، شاخص‌های مهمی برای پیش‌بینی پیشرفت بیماری دیابت نوع ۲ هستند (۱). آدیپوکین‌ها و ارتباطشان با چاقی و بیماری‌های همراه از قبیل التهاب سیستمیک، مقاومت به انسولین و دیابت از

### مواد و روش‌ها

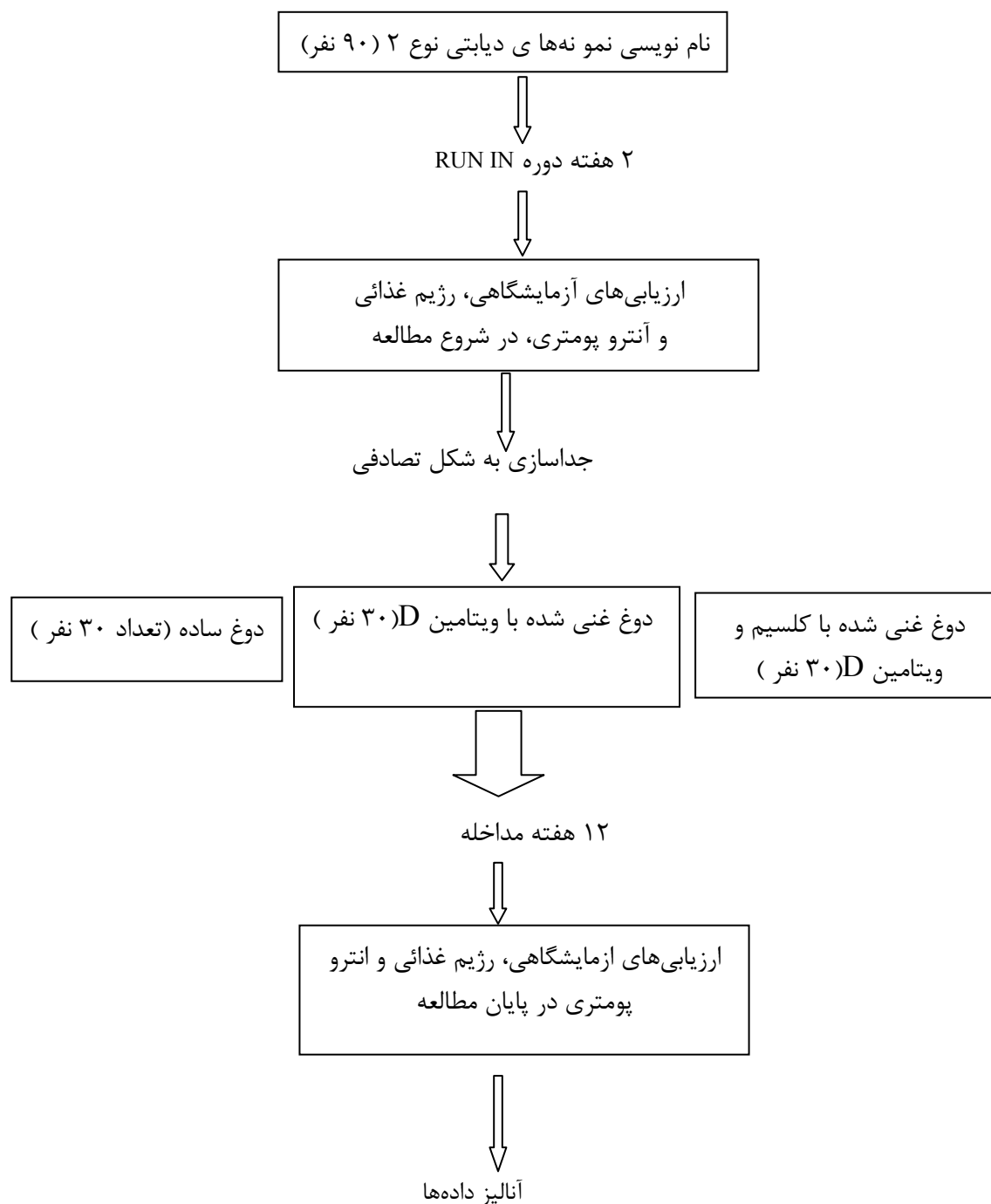
طراحی مطالعه و معیارهای ورود به مطالعه در جای دیگری شرح داده شده است (۱۱). ۹۰ بیمار دیابتی نوع ۲ با محدوده سنی ۶۰-۳۰ سال به شرط داشتن معیارهای ورود وارد مطالعه شدند. معیارهای ورود عبارت بودند از: قند خون ناشتای بالاتر از ۱۲۶mg/dl در اولین جلسه ملاقات، عدم مصرف داروهائی نظیر ضد التهاب‌های استروئیدی یا ضد انعقاد، عدم مصرف مکمل هائی نظیر کلسیم، ویتامین D، امگا ۳ در طول ۳ ماه قبل از شروع مداخله، عدم مصرف دارویی که بالقوه بتواند بر روی متابولیسم ویتامین D یا انسولین اثر بگذارند، عدم ابتلا به بیماری بالینی که بر روی متابولیسم ویتامین D اثر گذار است (به عنوان مثال، بیماریهای کبدی، سایر اختلالات مربوط به غدد داخلی و بیماریهای بد خیم). سپس پروتکل مطالعه و اهداف آن برای شرکت کنندگان شرح داده شد و از آنها رضایت نامه کتبی گرفته شد. بعد از گذراندن یک دوره ۲ هفته‌ای run\_in (که شرکت کننده طی آن ملزم به رعایت نکاتی در ارتباط با دریافت غذائی و فعالیت بدنی و غیره بود) تمام نمونه‌ها به شکل تصادفی و دو سو کور وارد یکی از ۳ گروه مطالعه شدند: گروه ۱: دریافت کننده ۲ بطری ۲۵۰ میلی لیتری دوغ ساده (PD)؛ گروه ۲: دریافت کننده ۲ بطری ۲۵۰ میلی لیتری دوغ، هر بطری حاوی ۱۵۰ میلی گرم کلسیم و بدون ویتامین D3 قابل اندازه‌گیری (DD). گروه ۳: دریافت کننده ۲ بطری ۲۵۰ میلی لیتری دوغ غنی شده با ۵۰۰ واحد بین المللی ویتامین D3 و ۲۵۰ میلی گرم کلسیم در هر بطری (CDD). مداخله به مدت ۱۲ هفته به طول انجامید. میزان پذیرش و دریافت رژیمی نمونه‌ها به شکلی که شرح داده شده است، ارزیابی شد (۱۱). خلاصه‌ای از پروتکل مطالعه در شکل ۱ نشان داده شده است. این مطالعه بخشی از پروژه تحقیقاتی دیابت و دوغ غنی شده با ویتامین D، Ca مصوب در کمیته اخلاق انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور بوده است (NNFTRI).

در مدل آزمایشگاهی مطرح شده است (۳). این سیتوکین‌های التهابی می‌توانند باعث واکنش‌های ایمنی آتروژنیک با سلول‌های T خود فعال و آنتی بادی‌ها بخصوص ایزوتایپ IgG شوند (۴).

ویتامین D نقش مهمی در هموستاز کلسیم دارد و برای رشد استخوان و حفظ آن ضروری است. اخیراً نقش‌های غیر کلسیمی ویتامین D بویژه نقش ضد التهابی و تعدیل کننده ایمنی آن توجه زیادی را به خود جلب کرده است. در مطالعات حیوانی تأثیر مفید ویتامین D و ترکیبات آن در انواع اختلالات خود ایمنی نشان داده شده است (۵). ما اخیراً اثرات مفید دریافت ویتامین D را بر روی شاخص‌های اندوتلیال التهابی خون در یک جمعیت مجزائی از افراد دیابتی گزارش کردیم (۶).

با این وجود شواهد مربوط به اثر ضد التهابی ویتامین D در مطالعات بالینی انسانی نادر است. مهمتر اینکه هیچ مدرک قانع کننده‌ای در مورد تأثیر احتمالی ویتامین D بر بهبود اختلالات ایمنی در انسان دیده نشده است. تأثیر دریافت کلسیم بر روی وضعیت گلیسمیک و ارتباط آن با التهاب سیستمیک هنوز مورد بحث و بررسی است. بعلاوه تعدادی از مطالعات پیشنهاد کرده‌اند که کلسیم دریافتی بر روی مقاومت انسولین و به دنبال آن بروز دیابت نقش محافظتی دارد (۷). برخی از مطالعات از این مورد حمایت نمی‌کنند (۸). اگرچه مکمل کلسیم بر التهاب سیستمیک سنجیده شده بر اساس پروتئین واکنشگر C (CRP) اثری ندارد (۹)، شاید کلسیم و ویتامین D با همدیگر بر دیابت (۱۰) و احتمالاً التهاب سیستمیک مربوط به آن، تأثیر داشته باشند.

اخیراً ما تأثیر مطلوب دریافت ویتامین D و کلسیم و ویتامین D از طریق دوغ غنی شده را بر بیماران دیابتی نوع ۲ نشان داده‌ایم (۱۱). در اینجا اثرات دریافت روزانه ویتامین D با یا بدون کلسیم روی پروتئین‌های شاخص‌های خاص التهاب سیستمیک و ایمنی از جمله آدیپوکین‌ها با همان جمعیت و اساس کار بررسی شده است.



شکل ۱. طراحی مطالعه در یک نگاه

**بررسی‌های آزمایشگاهی:** روش خونگیری و جداسازی سرم در جای دیگری توضیح داده شده است (۱۱). مقاومت به انسولین با استفاده از مدل هموستازی ارزیابی مقاومت به انسولین (۱۲) ارزیابی شده است که در جای دیگر شرح داده شده است (۱۱). غلظت ۲۵ هیدروکسی ویتامین D سرم با

استفاده از روش HPLC فاز معکوس اندازه‌گیری شد (۱۳). پروتئین واکنشگر C با حساسیت بالا (hsCRP)، IgM و IgG سرم با استفاده از روش کدورت سنجی ایمنی (پارس آزمون، تهران، ایران) و اتوانالایزر (Selecta E, Vitalab, Holliston, The Netherlands)

با استفاده از نرم افزار آماری Social Science (ورژن ۱۶، ۲۰۰۷، SPSS Inc، شیکاگو، IL) انجام شد.

#### یافته‌ها

مشخصات اولیه شرکت‌کنندگان بطور کامل در جای دیگری شرح داده شده است (۱۱). اما برخی از مقادیر شاخص‌های بیوشیمیایی و انتروپومتری در شروع مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است. اطلاعات پایه در میان سه گروه تفاوت معنی‌داری نداشت جز در مورد IL-1 $\beta$  که بطور معنی‌داری در گروه PD در مقایسه با گروه DD پائین تر بود ( $P = ۰/۰۰۶$ )، اما تفاوتی بین گروه‌های PD و CDD ( $P = ۰/۰۹۰$ ) یا بین گروه‌های DD و CDD ( $P = ۰/۵۳۸$ ) وجود نداشت. برای حذف اثرات احتمالی مقادیر اولیه هر یک از شاخص‌ها بر روی مقادیر پایان مطالعه، تغییرات متغیرها در میان گروه‌ها نیز با هم مقایسه شد.

بعد از ۱۲ هفته مداخله، وضعیت ویتامین D در هر دو گروه DD و CDD بهبود یافت که این امر تأیید قابلیت بالای زیست‌فراهمی ویتامین D در دوغ است (۱۱). در دو گروه DD و CDD غلظت‌های فیبرینوژن، RBP\_4، IL\_6، IL\_1 $\beta$ ، hsCRP در مقایسه با مقادیر پایه بطور معنی‌داری کاهش یافت. تفاوت بین گروهی برای شاخص‌های فیبرینوژن و IL-1 $\beta$  حتی بعد از تعدیل تغییرات ارزیابی مقاومت انسولین با مدل هموستازی معنی‌دار باقی ماند. با این که کاهش hsCRP در گروه CDD در مقایسه با گروه DD بیشتر بود، اما تفاوت بین دو گروه معنی‌دار نبود ( $P = ۰/۱۴۷$ ). بعلاوه افزایش معنی‌داری در IgM و ادیو نکتین سرمی دو گروه مورد بحث دیده شد. هر چند، تفاوت معنی‌دار موجود در تغییرات IgM سرم در بین گروه‌ها، بعد از تعدیل نمایه توده بدن ( $P = ۰/۱۰۴$ ) یا تغییرات نمایه توده چربی (FM) ( $P = ۰/۰۹۱$ ) از بین رفت اما بطور معنی‌داری بعد از تعدیل برای سن باقی ماند ( $P = ۰/۰۳۲$ ). متوسط تغییرات ادیو نکتین در گروه CDD بطور معنی‌داری بالاتر از گروه PD بود ( $P = ۰/۰۲۱$ )، و به طور جالبی این تفاوت بعد از تعدیل دو فاکتور سن و تغییرات نمایه چربی بدن معنی‌دار باقی ماند ( $P = ۰/۰۱۵$ ). غلظت‌های TNF- $\alpha$ ، IFN- $\gamma$ ، LCN-2، IgG و OPN پلاسما در مقایسه با مقادیر اولیه در دو گروه DD و CDD بعد از ۱۲ هفته تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۲). تغییرات فیبرینوژن پلاسما با hsCRP ارتباط داشت ( $r = ۰/۲۵۲$ ،  $P = ۰/۰۱۷$ ).

اندازه‌گیری شد. فیبرینوژن با استفاده از کوآگولومتر اندازه‌گیری شد (Start; Diagnostica Stago, Paris, France). اندازه‌گیری ادیو نکتین سرم (LCN-2, Mercodia, Uppsala, Sweden) و (Cusabio, Wuhan, RBP\_4, Munich, Germany) و (China) و OPN پلاسما (IBL, Tokyo, Japon) با روش الایزا انجام شد.

**کشت و جدا سازی سلولهای منونوکلئار خون محیطی (PBMC) و سنجش سیتوکین:** PBMC جدا شد و در محیط کشت RPMI 1640 (Sigma-Aldrich, Inc., St. Louis, MO) کامل شده با ۱۰۰ U/ml پنی سیلین G، ۱۰ ng/ml استرپتو مایسین (both, Sigma-Aldrich, Inc)، ۱۰ ng/ml فیتوهموگلوتینین و ۱۰۰ ng/ml لیپولیزاکاریس (both, FLUKA, Tokyo, Japan) چنانچه قبلاً شرح داده شد (۱۴) با تغییرات جزئی کشت داده شد. PBMC انسانی در پلیت‌های ۱۲ چاهکی با دانسیته  $1 \times 10^6$  cell/well قرار گرفت و سلول‌ها به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه سانتی‌گراد در رطوبت ۵٪ در انکوباتور CO2 قرار گرفت. سپس در مایع فوقانی کشت سلول سیتو کین‌ها شامل (اینترفرون و IFN- $\gamma$ ، TNF- $\alpha$ ، IL-6، IL-1 $\beta$ ) با استفاده از کیت‌های الایزا تجاری و در دسترس (all from Bender-Medsystem, Vienna, Austria) و با یک میکرو پلیت ریدر (Statfax 3200; Awareness Technology, Palm City, FL) اندازه‌گیری شدند.

**آزمون‌های آماری:** توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگوروف اسمیرنوف انجام شد. متغیرهای متوالی به شکل  $\text{mean} \pm \text{SD}$  گزارش شدند. آنالیز تداخلات گروه و زمان با repeated measures ANOVA انجام شد (زمان و روش درمان به عنوان فاکتور بودند). سپس برای مقایسه تغییرات مقادیر بین گروهی از آزمون ANOVA استفاده شد. برای کنترل اثرات احتمالی مخدوش‌کننده‌های بالقوه از آنالیز کوواریانس استفاده شد. بعلاوه ما اثرات زمان را در داخل هر گروه مورد مطالعه با استفاده از آزمون t مزدوج بررسی کردیم. ارتباط بین دو سری داده‌ها با استفاده از معادله پیرسون ارزیابی شد. تفاوت (آزمون two-tailed) در  $P < ۰/۰۵$  معنی‌دار در نظر گرفته شد. همه آنالیزهای آماری

## جدول ۱. مقایسه مقادیر اولیه شاخص‌های خاص در سه گروه شرکت کننده در مطالعه

| P value | گروه دوغ غنی شده با<br>Ca,D | گروه دوغ غنی شده با<br>ویتامین D | گروه دوغ ساده |                                       |
|---------|-----------------------------|----------------------------------|---------------|---------------------------------------|
| ۰/۶۱۳   | ۴۹/۹±۶/۲                    | ۵۱/۵±۵/۴                         | ۵۰/۸±۶/۷      | سن (سال)                              |
| ۰/۸۴۴   | ۵۷/۷±۱۱/۹                   | ۷۵±۱۴/۱                          | ۷۷/۴±۱۶/۷     | وزن (کیلو گرم)                        |
| ۰/۷۷۹   | ۲۹/۱ ±۵/۵                   | ۲۹/۲±۴/۴                         | ۲۹/۹±۴/۷      | شاخص توده بدن (kg/m <sup>2</sup> )    |
| ۰/۶۲۱   | ۹۸±۱۰/۷                     | ۹۵/۶±۱۱/۴                        | ۷۹/۹±۱۱       | دور کمر (cm)                          |
| ۰/۸۴۳   | ۰/۹۵±۰/۰۶                   | ۰/۹۵±۰/۰۷                        | ۰/۹۶±۰/۰۶     | نسبت دور کمر به دور باسن              |
| ۰/۹۷۶   | ۱۸۴±۵۷/۳                    | ۱۸۴/۱±۶۳/۸                       | ۱۸۷±۵۷/۱      | گلوکز ناشتای سرم (mg/dl)              |
| ۰/۷۵۴   | ۷/۸±۱/۹                     | ۷/۴±۱/۸                          | ۷/۵±۱/۵       | هموگلوبین گلیکوزیله (%)               |
| ۰/۵۹۰   | ۱۸۷/۷±۴۶/۶                  | ۱۷۷/۵±۴۱/۹                       | ۱۸۷/۵±۴۳/۳    | کلسترول تام (mg/dl)                   |
| ۰/۲۹۷   | ۱۷۶/۶±۹۱                    | ۱۵۵/۴±۶۵/۹                       | ۱۶۰/۵±۱۰۰/۷   | تری گلیسرید (mg/dl)                   |
| ۰/۹۰۹   | ۹۰/۲±۲۷/۹                   | ۸۷/۲±۲۵/۱                        | ۸۸/۶±۲۵/۹     | لیپو پروتئین با دانسیته پائین (mg/dl) |
| ۰/۱۱۹   | ۴۷/۲±۹/۴                    | ۴۶±۹/۶                           | ۵۰/۸±۸/۲      | لیپو پروتئین با دانسیته بالا (mg/dl)  |

اختصارات:

BMI: شاخص توده بدن، FSG: گلوکز ناشتا سرم، HbA1C: هموگلوبین گلیکوزیله، HDL: لیپوپروتئین با دانسیته بالا، LDL: لیپوپروتئین با دانسیته پائین، TC: کلسترول تام، TG: تری گلیسرید، WC: دور کمر، WHR: نسبت دور کمر به دور باسن.

## بحث

ویتامین D بر روی سیتوکین‌های التهابی، در نمونه‌های مبتلا به بیماری‌های مزمن است (۱۸، ۱۶)، این یافته‌ها با نتایج بدست آمده از مطالعه بر روی نمونه‌های سالم حمایت نمی‌شود (۱۹). شاید به هنگام تحریک سیستم ایمنی اثر تعدیل کننده ایمنی ویتامین D با وضوح بیشتری قابل مشاهده باشد (۱۷).

نتایج حاصل از دو مطالعه مشاهده‌ای اخیر، غلظت بالاتر CRP را در بین نمونه‌های مبتلا به کمبود ویتامین D گزارش کرده است (۲۱، ۲۰). در حالی که دو کارآزمایی بالینی انجام شده با استفاده از مکمل یاری ویتامین D در مقابل دارونما نتایج ضد و نقیضی را نشان می‌دهد؛ بعد از مکمل یاری با ویتامین D غلظت CRP بیماران بستری در بخش مراقبت‌های ویژه (ICU) (۲۲) کاهش پیدا کرد ولی در بیماران سرپایی که دارای نارسایی احتقانی قلبی بودند، تغییری مشاهده نشد (۱۸). از آنجا که مطالعات قبلی شاخص‌های التهابی را با توجه به نقش ویتامین D بررسی نکرده بودند و این مطالعه نقش ویتامین D را بر روی انواع شاخص‌های التهابی مورد بررسی قرار داده است، باعث گسترش دانش ما در مورد نقش ویتامین D می‌شود.

ما در مطالعه بالینی حاضر برای اولین بار نشان دادیم که دریافت روزانه ۱۰۰۰ IU ویتامین D همراه با کلسیم یا بدون کلسیم به مدت ۱۲ هفته منجر به کاهش معنی‌دار غلظت فیبرینوژن پلاسما و hsCRP سرم، بهبود آدیپوکین‌های سرم مانند آدیپونکتین و RBP-4، کاهش ترشح سلولی سیتوکین‌های التهابی مانند IL-6 و IL-1β در بیماران دیابتی نوع ۲ می‌شود. یافته‌های مطالعه ما با نتایج به دست آمده از کارآزمایی‌های آزمایشگاهی که تأثیر سرکوب گر ویتامین D بر روی تولید سیتوکین‌های التهابی از طریق ماکروفاژهای انسانی و فیبروبلاست‌ها را نشان می‌دهند، هم‌خوانی دارد (۱۵).

مطالعات محدودی در مورد ارتباط سطح سرمی 25(OH)D با سیتوکین‌ها در درون بدن وجود دارد، این مطالعات نتایج ضد و نقیضی داشته اند. به عنوان مثال در حالیکه یک مطالعه نمایانگر تأثیر مکمل ویتامین D بر روی کاهش سطح سرمی IL-1 در زنان یائسه می‌باشد (۱۶)، مطالعه دیگر هیچ تأثیری از مکمل یاری با کوله کلسیفرول‌ها را بر روی سطح سرمی سیتوکین‌ها و شاخص‌های التهابی در نمونه‌های چاق و دارای اضافه وزن نشان نمی‌دهد (۱۷). شایان ذکر است که بیشتر مطالعات نمایانگر تأثیرات سودمند

## جدول ۲. مقایسه تغییرات متغیرها در داخل و بین گروهها بعد از مداخله

| p <sup>c</sup> | p <sup>d</sup> | p <sup>e</sup> | p <sup>b</sup> | CDD            |               | DD             |          | PD              |                | متغیر   |               |               |                       |
|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|----------|-----------------|----------------|---------|---------------|---------------|-----------------------|
|                |                |                |                | p <sup>a</sup> | بعد           | p <sup>a</sup> | بعد      | p <sup>a</sup>  | بعد            |         |               |               |                       |
| < /۰.۰۰۱       | ۰/۵۷۸          | < /۰.۰۰۱       | < /۰.۰۰۱       | < /۰.۰۰۱       | ۷۴/۶ ± ۳۹/۵   | ۴۴/۵ ± ۴۳/۷    | < /۰.۰۰۱ | ۷۷/۷ ± ۲۸/۶     | ۴۴/۴ ± ۲۸/۷    | ۰/۱۳۶   | ۳۷/۲ ± ۴۴     | ۴۱/۶ ± ۴۴/۵   | (nmol/L) 25(OH)D3     |
| ۰/۰.۰۰۱        | ۰/۴۱۰          | ۰/۰.۳۳         | < /۰.۰۰۱       | ۰/۰.۰۶         | ۳۴/۱ ± ۹/۸    | ۳۵/۱ ± ۹/۸     | ۰/۰.۰۱   | ۳۰/۹ ± ۹        | ۳۳/۰.۱ ± ۹/۵   | ۰/۰.۰۷  | ۳۶/۹ ± ۷/۲    | ۳۵/۷ ± ۷/۸    | (%) FM                |
| < /۰.۰۰۱       | ۰/۹۹۶          | < /۰.۰۰۱       | ۰/۰.۰۰۱        | ۰/۲۸۲          | ۳ ± ۱/۵       | ۳/۷ ± ۳/۳      | ۰/۰.۳۲   | ۲/۷ ± ۱/۵       | ۳/۳ ± ۱/۸      | ۰/۰.۰۰۱ | ۵/۵ ± ۳/۷     | ۳/۴ ± ۱/۵     | HOMA                  |
| ۰/۰.۵۷         | ۰/۱۴۷          | ۰/۰.۶۵         | ۰/۰.۹۳۴        | ۰/۰.۱۵         | ۱/۶ ± ۱/۵     | ۵/۷ ± ۹/۴      | ۰/۰.۱۳   | ۱/۹ ± ۱/۲       | ۳/۳ ± ۴/۵      | ۰/۱۶۶   | ۲/۹ ± ۴/۴     | ۳/۷ ± ۵/۷     | (mg/L) CRP            |
| ۰/۰.۲۱         | ۰/۹۱۷          | ۰/۰.۳۶         | ۰/۰.۸۸         | < /۰.۰۰۱       | ۱۵۰ ± ۵۹/۵    | ۹۲/۸ ± ۴۱/۲    | < /۰.۰۰۱ | ۱۵۶/۹ ± ۸۹/۶    | ۱۰۵/۵ ± ۶۸/۷   | ۰/۰.۰۶  | ۱۲۵/۶ ± ۵۶/۳  | ۱۰۵/۳ ± ۸۳/۱  | آدیپونکتین (μg/L) LCN |
| ۰/۱۴۵          | ۰/۱۴۷          | ۰/۵۲۶          | ۰/۷۰.۳         | ۰/۰.۴۹         | ۲/۲۷ ± ۰/۹۸   | ۲/۹۹ ± ۱/۶۵    | ۰/۵۱۲    | ۲/۷ ± ۰/۹       | ۲/۵۳ ± ۱       | ۰/۵۴۶   | ۲/۶ ± ۱/۰.۶   | ۲/۸۱ ± ۱/۵۲   | (μg/L) RBP-4          |
| ۰/۰.۲۹         | ۰/۶۵۵          | ۰/۳۳۱          | ۰/۰.۳۳         | ۰/۰.۰۳         | ۴۲/۱ ± ۱۸     | ۵۵/۷ ± ۲۷/۶    | < /۰.۰۰۱ | ۴۳/۲ ± ۱۳/۲     | ۶۱/۳ ± ۱۸/۷    | ۰/۱۰.۲  | ۴۵/۲ ± ۲۱     | ۵۰.۳ ± ۱۹/۳   | (μg/L) OPN            |
| ۰/۵۹۸          | ۰/۸۳۳          | ۰/۵۷۰          | ۰/۹            | ۰/۴۲۱          | ۵۸/۶ ± ۲۱/۸   | ۶۶/۴ ± ۵۵/۳    | ۰/۴۹۱    | ۵۳ ± ۱۶/۱       | ۵۵/۷ ± ۱۹/۸    | ۰/۷۳۹   | ۶۲/۶ ± ۲۱/۵   | ۶۱/۴ ± ۱۸/۵   | (mg/L) IL-1           |
| ۰/۰.۰۴         | ۰/۵۰.۳         | ۰/۱۹۳          | ۰/۰.۱۵         | ۰/۰.۰۳         | ۱۵۵/۹ ± ۵۴/۲  | ۴۸۹ ± ۴۲۷/۵    | < /۰.۰۰۱ | ۱۴۴/۲ ± ۶۰/۴    | ۶۰.۱/۱ ± ۳۰/۶۸ | ۰/۲۷۵   | ۱۹۲/۳ ± ۱۷۱/۷ | ۲۶۴/۳ ± ۲۳۱   | (ng/L) IL-6           |
| ۰/۱۵۸          | ۰/۶۶           | ۰/۵۳۲          | ۰/۱۳۴          | ۰/۰.۰۸         | ۱۱۶ ± ۲۵/۵    | ۱۵۵/۵ ± ۶۱/۲   | ۰/۰.۰۳   | ۱۱۵/۸ ± ۹/۷     | ۱۷۴/۸ ± ۷۶/۴   | ۰/۳۴۷   | ۱۳۸/۱ ± ۴۹/۷  | ۱۵۳/۶ ± ۶۹/۵  | (ng/L) TNF-α          |
| ۰/۱۳۰          | ۰/۴۶           | ۰/۶۷۵          | ۰/۱۱۱          | ۰/۸۰۸          | ۷۵۵/۶ ± ۴۰۶/۵ | ۷۹۴/۴ ± ۶۹۸/۸  | ۰/۲۴۲    | ۷۰.۷/۴ ± ۳۵/۱/۶ | ۸۲۰/۴ ± ۴۸۵/۴  | ۰/۰.۴۹  | ۳۲۹/۸ ± ۷۹۷/۳ | ۶۱۶/۶ ± ۲۳۴/۱ | (ng/L) IFN-γ          |
| ۰/۲۷۷          | ۰/۹۴۷          | ۰/۴۸۳          | ۰/۴۶۷          | ۰/۴۶۸          | ۲۶۰/۹ ± ۱۱۸/۸ | ۲۸۲/۸ ± ۱۴۳/۲  | ۰/۷۵۸    | ۲۶۲/۳ ± ۱۱۹/۳   | ۲۷۱/۸ ± ۶۹/۲   | ۰/۱۱۳   | ۹۹/۲ ± ۲۸۳/۹  | ۲۵۴/۴ ± ۶۹    | فیبرینوژن (g/L) IgM   |
| ۰/۰.۴۰         | ۰/۵۲۵          | ۰/۰.۴          | ۰/۳۵۷          | ۰/۰.۰۶         | ۲/۷۱ ± ۰/۷    | ۳/۱۱ ± ۰/۶۵    | ۰/۰.۴۲   | ۲/۵۹ ± ۰/۵۹     | ۲/۷۹ ± ۰/۶۳    | ۰/۷۰.۸  | ۰/۶۹ ± ۳      | ۲/۹۵ ± ۰/۶۸   | (g/L) IgG             |
| ۰/۰.۳۱         | ۰/۹۸۱          | ۰/۰.۳۷         | ۰/۰.۴۲         | ۰/۰.۱۵         | ۱/۱ ± ۰/۸۱    | ۰/۹۵ ± ۰/۷۶    | ۰/۰.۱۶   | ۰/۸۹ ± ۰/۴۶     | ۰/۷۲ ± ۰/۴۳    | ۰/۵۱۵   | ۰/۶۶ ± ۰/۹۹   | ۱ ± ۰/۶۹      |                       |
| ۰/۹۴۹          | ۰/۹۴۵          | ۰/۹۷۸          | ۰/۹۹۲          | ۰/۱۵۰          | ۱۱ ± ۲/۵۹     | ۱۱/۴۳ ± ۲/۸۳   | ۰/۳۳۸    | ۱۱ ± ۲/۳۷       | ۱۱/۴۴ ± ۲/۴۹   | ۰/۶۱۸   | ۳/۱۲ ± ۱۱/۳۲  | ۱۱/۵۳ ± ۳/۱۵  |                       |

داده‌ها براساس میانگین ± انحراف معیار بیان شده است. 25 (OH) D3: ارزیابی مدل هموستازی

<sup>a</sup> تغییرات معنی دار درون گروهی (paired-samples t test)؛ <sup>b</sup> تفاوت معنی دار بین PD و DD (ANOVA تک عامله)؛ <sup>c</sup> تفاوت معنی دار بین CDD و PD (ANOVA تک عامله)؛ <sup>d</sup> تفاوت معنی دار بین CDD و DD (ANOVA تک عامله)؛ <sup>e</sup> تناخل زمان- گروه (ANOVA دو عامله)

(۲۹). بعلاوه کلسیم باعث بهبود در تشکیل و فعالیت بیولوژیکی آدیپونکتین با وزن مولکولی بالا می‌شود (۳۰). در مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری در آدیپونکتین سرم همراه با کاهش RBP-4 سرم در گروه DD و CDD نشان می‌دهد که آدیپوکین‌ها بعنوان یک میانجی برای اثر ویتامین D بر روی مقاومت به انسولین عمل می‌کنند. بعلاوه کلسیم بیشتر در دز مصرفی بر روی غلظت RBP-4 سرم تأثیر بیشتری ندارد. اخیراً RBP-4 بعنوان یک آدیپوکین شناسایی شده است که در افراد دیابتی نوع ۲ افزایش می‌یابد (۳۱).

در مطالعه اخیر دریافت روزانه ۱۰۰۰ IU ویتامین D با کلسیم یا بدون آن به مدت ۱۲ هفته بر روی غلظت OPN پلاسما تأثیر معنی‌داری نداشته است. OPN یک پروتئین چند فاکتوری است که به مقدار زیاد در شرایط التهابی مزمن بیان می‌شود (۳۲). همچنین نشان داده شده است که بیان OPN در شریان‌های افراد دیابتی به علت بالا بودن سطح گلوکز خون افزایش پیدا می‌کند (۳۳). با در نظر گرفتن اثر اصلاحی دریافت ویتامین D بر روی چند شاخص التهابی (که در این مطالعه مشاهده شده است) گفته می‌شود که دریافت بالاتر ویتامین D برای کاهش OPN پلاسما لازم است.

افزایش IgM سرم در دو گروه DD و CDD در مقایسه با گروه PD و از بین رفتن این تفاوت بعد از تعدیل تغییرات توده چربی نمایانگر نقش احتمالی بافت چربی در ناخوشی سیستم ایمنی است. اخیراً ارتباط معکوس IgM سرم با توده چربی در بیماران دیابتی نوع ۲ گزارش شده است (۳۴). آنتی‌بادی‌های طبیعی ایزوتایپ IgM در مقابل تصلب شرائین نقش محافظتی دارد (۳۵). اهمیت این یافته‌ها هنوز نیاز به بررسی بیشتری دارد.

یافته‌های ما در مورد کاهش معنی‌دار فیبرینوژن پلاسما در دو گروه CDD و DD بعد از یک دوره مداخله ۱۲ هفته‌ای قابل توجه است. در واقع فیبرینوژن یک شاخص التهابی است که با بیماری قلبی عروقی و سکتة ارتباط مستقلى دارد (۳۶) و دارای نقش اساسی در تشکیل ترومبوز و تجمع پلاکت‌ها است. فیبرینوژن یک عامل اصلی در ایجاد ویسکوزیته پلاسما است. بعلاوه همانطور که نتایج این مطالعه نشان داده است، این ماده یک واکنش دهنده فاز حاد است که در شرایط التهابی بیشتر بیان می‌شود و ارتباط نزدیکی با CRP دارد (۳۷).

کاهش فیبرینوژن پلاسما در بیماران دیابتی بدون توجه به مکانسیم آن می‌تواند باعث پیشگیری از عوارض طولانی

مکانیسمی که ویتامین D بوسیله آن بر شاخص‌های زیستی التهابی تأثیر می‌گذارد، هنوز مشخص نیست. به هر حال شواهد آزمایشگاهی نشان می‌دهند که اثر ضد التهابی متابولیت‌های فعال ویتامین D، ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D3 و ترکیبات مشابه آن می‌تواند بوسیله جفت شدن با رسپتورهای ویتامین D میانجیگری شود و باعث تنظیم کاهشی یا ترجمه تولید سیتوکین‌های مختلف مانند IL-2، IL-12، TNF- $\alpha$  و IFN- $\gamma$  و عامل تحریک کننده ماکروفاژهای گرانولوسیتی کولونی دهنده (۲۳) و همچنین IL-1 $\beta$  و IL-6 شود (۲۴).

ما بهبود مقاومت به انسولین بعد از دریافت روزانه ویتامین D را در بیماران دیابتی گزارش کرده بودیم (۱۱). مکانیسم این اثر کاملاً درک نشده است. فرضیه احتمالی برای این اتفاق تغییر پروفایل آدیپوکین‌ها است. آدیپونکتین باعث بهبود برداشت گلوکز و اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد در سلول‌های عضلانی می‌شود و از گلوکونئوز در کبد جلوگیری می‌کند، در نتیجه حساسیت به انسولین را بهبود می‌بخشد (۲۵). شایان ذکر است که در بیماران مبتلا به اختلال تحمل گلوکز، بین وضعیت ویتامین D و آدیپونکتین خون ارتباطی مشاهده شده است. احتمالاً اختلال تحمل گلوکز یک وضعیت پیش التهابی است که باعث کاهش سطح آدیپونکتین از طریق فعالیت سیتوکین‌های پیش التهابی نظیر TNF- $\alpha$  و IL-1 می‌شود (۲۶). فعالیت ضد التهابی ویتامین D باعث تعدیل اثر سیتوکین‌های پیش التهابی بر روی آدیپونکتین خون می‌شود. بعلاوه از آنجا که رسپتورهای ویتامین D در پره آدیپوسیت‌ها شناسایی شده‌اند (۲۷)، احتمال دارد که ۱ و ۲۵ دی هیدروکسی ویتامین D تنظیم‌کننده بیان ژن آدیپونکتین باشد. یک مطالعه آزمایشگاهی دیگر نتایج این مطالعه را تأیید کرده است (۲۸).

آدیپونکتین سرم در گروه CDD در مقایسه با PD بعد از تعدیل تغییرات توده چربی تفاوت معنی‌دار نشان می‌دهد. این تأثیر افزایش دهنده آدیپونکتین می‌تواند به دریافت کلسیم بیشتر در گروه CDD مربوط باشد که با ویتامین D اثر هم افزاینده دارد. در تعدادی از مطالعات ایزوفرم‌های آدیپونکتین دارای وزن مولکولی بالا در سرم نمونه‌های مورد بررسی، غالب بوده است و به خوبی با محافظت از انواع سندروم متابولیک و بهبود حساسیت به انسولین ارتباط دارد

وابسته به ویتامین D خیلی کم بود. پیشنهاد می‌شود که غلظت D (OH) 25  $\Delta$ nmol/l ۸۰-۲۲۵ به عنوان غلظت کافی در نظر گرفته شود (۳۹). اثرات طولانی مدت این مداخله باید در بررسی‌های بعدی توصیف گردد.

به عنوان نتیجه‌گیری می‌توان گفت که ۱۲ هفته دریافت روزانه دوز غنی شده باعث بهبود شاخص‌های التهابی در بیماران دیابتی نوع ۲ شده است و کلسیم بیشتر باعث بهتر شدن افزایش آدیپوکین ضد التهابی مانند آدیپونکتین می‌شود. نتایج این مطالعه ممکن است روش‌های درمانی جالبی را برای بیماری‌های همراه با ترشح بیش از حد سیتوکین پیش التهابی ارائه دهد.

### سپاسگزاری

این مقاله از پایان‌نامه‌ی دانشجویی استخراج شده‌است. در اینجا از انجمن دیابت ایران بخصوص ریاست محترم انجمن جناب آقای دکتر اسدالله رجب سپاسگزاری می‌کنیم. قدردانی خود را به بیماران شرکت کننده در این مطالعه تقدیم می‌نمائیم.

مدت دیابت، و به طور قابل توجه بیماری‌های قلبی عروقی و سکتة قلبی شود. نشان داده شده است در محیطی که قند خون بالا باشد، فیبرینوژن می‌تواند بیشتر از حد گلیکوزیله شود (۳۸). وقتی این فیبرینوژن‌های غیر طبیعی لخته می‌شوند، ساختار فیبرین حاصله متشکل از فیبرهای با قطر کم خواهد بود که اساساً در مقابل تخریب بوسیله پلاسمین مقاوم هستند (۳۸).

در نهایت برای ارزیابی اثر کلی مداخله بر روی التهاب سیستمیک، آزمون ANOVA چند عاملی بکار برده شد که در آن غلظت hsCRP، فیبرینوژن، آدیپونکتین، IL-1 و IL-6 و  $TNF-\alpha$  به عنوان متغیر وابسته و درمان (گروه کنترل یا مداخله) بعنوان متغیر مستقل بودند. نتایج نشان دهنده بهبود قابل توجهی در این سری از شاخص‌های التهابی است ( $P=0.020$ ).

برخی از محدودیت‌های مطالعه شامل این بود که بیشتر نمونه‌های مطالعه ( $73/3\%$ ) کمبود یا عدم کفایت ویتامین D داشتند و افزایش  $30/8$  nmol/l غلظت D (OH) 25 خون در گروه دریافت کننده مکمل برای مطلوب سازی عملکردهای

## References

1. Spranger J, Kroke A, Mohlig M, Hoffmann K, Bergmann MM, Ristow M, Boeing H, Pfeiffer AF. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes: results of the prospective population based European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) Potsdam study. *Diabetes* 2003; 52:812-17
2. Kobayashi K, Inoguchi T. Adipokines: therapeutic targets for metabolic syndrome. *Current Drug Targets* 2005; 6:525-29
3. Nomiyama T, Perez-Tilve D, Ogawa D, Gizard F, Zhao Y, Heywood EB, Jones KL, Kawamori R, Cassis LA, Tschoep MH, Bruemmer D. Osteopontin mediates obesity-induced adipose tissue macrophage infiltration and insulin resistance in mice 2007; *J Clin Invest* 117:2877-88
4. Hansson GK, Hermansson A 2011 The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol* 12:204-212
5. Mathieu C, Adorini L. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med* 2002 ; 8:174-79
6. Shab-Bidar S, Neyestani TR, Djazayeri A, Eshraghian MR, Houshiarrad A, Gharavi A, et al. Regular consumption of vitamin D-fortified yogurt drink (Doogh) improved endothelial biomarkers in subjects with type 2 diabetes: a randomized double-blind clinical trial. *BMC Med* 2011; 9:125
7. Cho GJ, Park HT, Shin JH, Hur JY, Kim YT, Kim SH, et al. Calcium intake is inversely associated with metabolic syndrome in postmenopausal women. *Korea National Health and Nutrition Survey, 2001 and 2005. Menopause* 2009; 16:992-97
8. Gagnon C, Lu ZX, Magliano DJ, Dunstan DW, Shaw JE, Zimmet PZ, et al. Serum 25-hydroxyvitamin D, calcium intake, and risk of type 2 diabetes after 5 yr: results from a national, population-based prospective study (the Australian Diabetes, Obesity and Lifestyle study). *Diabetes Care* 2011; 34:1133-1138
9. Grey A, Gamble G, Ames R, Horne A, Mason B, Reid IR. Calcium supplementation does not affect CRP levels in postmenopausal women—a randomized controlled trial. *Osteoporos Int* 2006; 17:1141-1145
10. Pittas AG, Dawson-Hughes B, Li T, Van Dam RM, Willett WC, Manson JE, et al. Vitamin D and calcium intake in relation to type 2 diabetes in women. *Diabetes Care* 2006; 29:650-656

11. Nikooyeh B, Neyestani TR, Farvid M, Alavi-Majd H, Houshiarrad A, Kalayi A, et al. Daily consumption of vitamin D- or vitaminD-calcium-fortified yogurt drink improved glycemic control in patients with type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr* 2011; 93:764–771
12. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and  $\beta$ -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentration in man. *Diabetologia* 1985; 28:412–419
13. Neyestani TR, Gharavi A, Kalayi A. Determination of serum 25-hydroxy cholecalciferol using high-performance liquid chromatography: a reliable tool for assessment of vitamin D status. *Int J Vitam Nutr Res* 2007; 77:341–346
14. Neyestani TR, Gharavi A, Kalayi A. Selective effects of tea extract and its phenolic compounds on human peripheral blood mononuclear cell cytokine secretions. *Int J Food Sci Nutr* 2009 60:79–88
15. Panichi V, De Pietro S, Andreini B, Bianchi AM, Migliori M, Taccola D, et al. Calcitriol modulates in vivo and in vitro cytokine production: a role for intracellular calcium. *Kidney Int* 1998; 54:1463–1469
16. Inanir A, Ozoran K, Tutkak H, Mermerci B. The effects of calcitriol therapy on serum interleukin-1, interleukin-6 and tumour necrosis factor- $\alpha$  concentrations in post-menopausal patients with osteoporosis. *J Int Med Res* 2004; 32:570–582
17. Jorde R, Sneve M, Torjesen PA, Figenschau Y, Gøransson LG, Omdal R. No effect of supplementation with cholecalciferol on cytokines and markers of inflammation in overweight and obese subjects. *Cytokine* 2010; 50:175–180
18. Schleithoff SS, Zittermann A, Tenderich G, Berthold HK, Stehle P, Koerfer R. Vitamin D supplementation improves cytokine profiles in patients with congestive heart failure: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2006 83:754–759.
19. Gannage-Yared MH, Azoury M, Mansour I, Baddoura R, Halaby G, Naaman R. Effects of a short-term calcium and vitamin D treatment on serum cytokines, bone markers, insulin and lipid concentrations in healthy post-menopausal women. *J Endocrinol Invest* 2003; 26:748–753.
20. Cigolini M, Iagulli MP, Miconi V, Galiotto M, Lombardi S, Targher G. Serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and prevalence of cardiovascular disease among type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 2006; 29:722–724.
21. Timms PM, Mannan N, Hitman GA, Noonan K, Mills PG, Syndercombe-Court D, et al. Circulating MMP9, vitamin D and variation in the TIMP-1 response with VDR genotype: mechanisms for inflammatory damage in chronic disorders? *QJM* 2002; 95:787–796.
22. Van den Berghe G, Van Roosbroeck D, Vanhove P, Wouters PJ, De Pourcq L, Bouillon R. Bone turnover in prolonged critical illness: effect of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88:4623–4632.
23. Nagpal S, Na S, Rathnachalam R. Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocr Rev* 2005; 26:662–687
24. Khoo AL, Chai LY, Koenen HJ, Sweep FC, Joosten I, Netea MG, et al. Regulation of cytokine responses by seasonality of vitamin D status in healthy individuals. *Clin Exp Immunol* 2011; 164: 72–79.
25. Ziemke F, Mantzoros CS, Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, et al. Adiponectin in insulin resistance: lessons from translational research. *Am J Clin Nutr* 2010; 91:258S–261S
26. Kadowaki T, Yamauchi T, Kubota N, Hara K, Ueki K, Tobe K. Adiponectin and adiponectin receptors in insulin resistance, diabetes, and the metabolic syndrome. *J Clin Invest* 2006; 116:1784–1792.
27. Lee S, Lee DK, Choi E, Lee JW. Identification of a functional vitamin D response element in the murine Insig-2 promoter and its potential role in the differentiation of 3T3-L1 preadipocytes. *Mol Endocrinol* 2005; 19:399–408
28. Sun X, Zemel MB. Calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulation of adipokine expression. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15:340–348.
29. Lara-Castro C, Luo N, Wallace P, Klein RL, Garvey WT. Adiponectin multimeric complexes and the metabolic syndrome trait cluster. *Diabetes* 2006. 55:249–259
30. Banga A, Bodles AM, Rasouli N, Ranganathan G, Kern PA, Owens RJ. Calcium is involved in formation of high molecular weight adiponectin. *Metab Syndr Relat Disord* 2008; 6:103–111.
31. Muoio DM, Newgard CB. Metabolism: A is for adipokine. *Nature* 2005; 436:337–338
32. Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:2302–2309
33. Takemoto M, Yokote K, Nishimura M, Shigematsu T, Hasegawa T, Kon S, Uede T, et al. Enhanced expression of osteopontin in human diabetic artery and analysis of its functional role in accelerated atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:624–628

34. Neyestani TR, Shariat-Zadeh N, Gharavi A, Kalayi A, Khalaji N. The opposite associations of lycopene and body fat mass with humoral immunity in type 2 diabetes mellitus: a possible role in atherogenesis. *Iran J Allergy Asthma Immunol* 2007; 6:79–87
35. Lewis MJ, Malik TH, Ehrenstein MR, Boyle JJ, Botto M, Haskard DO. Immunoglobulin M required for protection against atherosclerosis in low-density lipoprotein receptor-deficient mice. *Circulation* 2009; 120:417–426
36. Danesh J, Lewington S, Thompson SG, Lowe GD, Collins R, Kostis JB, et al. Plasma fibrinogen level and the risk of major cardiovascular diseases and nonvascular mortality: an individual participant meta-analysis. *JAMA* 2005; 294:1799–1809
37. Maple-Brown LJ, Cunningham J, Nandi N, Hodge A, O'Dea K. Fibrinogen and associated risk factors in a high-risk population: urban Indigenous Australians, the DRUID Study. *Cardiovasc Diabetol* 2010; 9:69
38. Carr ME. Diabetes mellitus: a hypercoagulable state. *J Diabetes Complications* 2001; 15:44–54
39. Zittermann A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *Br J Nutr* 2003; 89:552–572

## Improvement of Vitamin D Status via Daily Intake of Fortified Yougurt Drink Either with or without Extra Calcium Ameliorates Systematic Inflammatory Biomarkers , Including Adipokines, In the Subjects with Type 2 Diabetes

Shariatzadeh N<sup>1</sup>, Zahedi-Rad M<sup>1</sup>, Neyestani TR<sup>2\*</sup>, Nikooyeh B<sup>1</sup>, Alavi-Majd H<sup>3</sup>, Kalayi A<sup>1</sup>, Tayebinejad N<sup>1</sup>, Heravifard S<sup>1</sup>, Salek-zamani Sh<sup>4</sup>, Soleimani M<sup>5</sup>

1. Dept. of Nutrition Research , National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology , Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. \*Corresponding author: Associate Prof. (in Research), Dept. of Nutrition Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran. E-mail: neytr@yahoo.com
3. Associate Prof, Dept. of Biostatistics, Faculty of Biomedical Sciences, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences. Tehran, Iran.
4. PhD Student in Nutrition Sciences, Faculty of Health and Nutrition, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
5. Students` Research Committee, Dept. of Food Technology Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

### Abstract

**Background and Objective:** Systemic inflammation is thought to have a central role in diabetic long-term complications. The aim of this study was to investigate the effects of vitamin D either with or without extra calcium on certain inflammatory biomarkers in the subjects with type 2 diabetes (T2D).

**Materials and Methods:** This was a double-blind, randomized, controlled trial conducted over 12 wk in 90 T2D subjects aged 30–60 yr from both sexes. Subjects were randomly allocated to one of three groups to receive two 250-ml bottles a day of plain Persian yogurt drink or doogh (PD, containing 150 mg calcium and no detectable vitamin D<sub>3</sub>/250 ml), vitamin D-fortified doogh (DD, containing 500 IU vitamin D<sub>3</sub> and 150 mg calcium/250 ml), or calcium + vitamin D<sub>3</sub>-fortified doogh (CDD, containing 500 IU vitamin D<sub>3</sub> and 250 mg calcium/250 ml). The changes in inflammatory markers were evaluated.

**Results:** Compared to the baseline values, highly sensitive C-reactive protein, IL-1 $\beta$ , IL-6, fibrinogen, and retinol binding protein-4 concentrations significantly decreased in both the DD and CDD groups. Although the decrement in highly sensitive C-reactive protein and fibrinogen was more in CDD compared to DD ( $-4.0 \pm 8.5$  vs.  $-1.3 \pm 2.8$  mg/liter, and  $-0.40 \pm 0.74$  and  $-0.20 \pm 0.52$  mg/liter, respectively), the differences were not significant. There was a significant increase in serum adiponectin in both the DD and CDD groups ( $51.3 \pm 65.3$  vs.  $57.1 \pm 33.8$   $\mu$ g/liter;  $P < 0.05$ ). Mean adiponectin changes in CDD were significantly higher than in PD ( $P = 0.021$ ).

**Conclusion:** Daily intake of vitamin D-fortified doogh improved inflammatory markers in T2D subjects, and extra calcium conferred additional benefit only for the antiinflammatory adipokine, i.e. adiponectin.

**Keywords:** Vitamine D, Inflammation, Adipokines, Type2diabetes