

## مطالعه اثرات دراز مدت کمبود حاشیه‌ای ویتامین A بر شاخص‌های رشد و متابولیک موش صحرایی

دکتر محمدرضا وفا<sup>۱</sup>، دکتر فروغ اعظم طالبان<sup>۲</sup>، دکتر فریدون سیاسی<sup>۳</sup>، دکتر سید مسعود کیمیاگر<sup>۴</sup>، دکتر یدالله محرابی<sup>۴</sup>، دکتر محمد ارجمند<sup>۵</sup>، آزاده امین‌پور<sup>۶</sup>، دکتر محمدحسن انتظاری<sup>۷</sup>

**Title:** Study of long-term effects of marginal vitamin A deficiency during gestation and two generations on growth and metabolic indices in rat.

**Authors:** Vafa MR, (PhD); Taleban FA, (PhD); Siasi F, (PhD); Kimiagar M, (PhD); Mehrabi Y, (PhD); Arjomand M, (PhD); Aminpoor A, (MSc); Entezari MH, (PhD).

**Introduction:** Although long-term effects of malnutrition on growth and metabolic indices have been investigated in several case-control studies but the effects of long-term marginal vitamin A deficiency have not been studied yet. In this regard a dietary study on growth and metabolic indices was conducted in a rat model during gestation and for two generations.

**Methods:** First, seventeen pregnant rats were fed randomly a vitamin A sufficient (VAS) or vitamin A marginal (VAM) diet, from the first day of gestation until last day of lactating their pups. In the next stage from female offspring in VAM group, 14 pups were fed randomly VAS (Recovery group) or VAM diet. Seven female pups in VAS group (Control) were fed with the same diet. After mating and confirmation of pregnancy, feeding adult animals with the same diet continued in each group till termination of lactation. This procedure continued until the puberty of second-generation pups. Weight and height of all animals were recorded at puberty. Furthermore, hematological parameters were studied in all animals after termination of lactating period. Obtained data were analyzed using SPSS (version 10) software.

**Results:** This study showed that marginal vitamin A deficiency can affect height of rats in the second generation significantly. Meanwhile, this vitamin A deficiency was accompanied with significant reduction in serum retinal and increased levels of serum TG, cholesterol, glucose and insulin.

**Conclusion:** These data suggest that chronic marginal vitamin A deficiency during gestation and two generations compromises growth and metabolic indices in rat and these detrimental effects can be transferred to the next generations.

**Keywords:** Vitamin A deficiency, gestation, growth index, metabolic indices.

۱- گروه تحقیقات تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی ایران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۲- گروه تغذیه انسانی، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۳- گروه تغذیه و بیوشیمی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۴- گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۵- گروه بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران

۶- گروه تغذیه جامعه، دانشکده تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۷- گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

**چکیده:**

**مقدمه:** اگرچه مطالعات گذشته‌نگر متعددی، اثرات دراز مدت سوء تغذیه بر روی شاخص‌های رشد و متابولیک، را مورد بررسی قرار داده‌اند. اما اثرات دراز مدت کمبود حاشیه‌ای ویتامین A تاکنون مورد مطالعه قرار نگرفته است. این پژوهش با هدف مطالعه اثرات دراز مدت کمبود حاشیه‌ای ویتامین A به هنگام بارداری و در طی دو نسل بر شاخص‌های رشد و متابولیک موش صحرایی انجام شد.

**روش کار:** در ابتدا ۱۷ سر موش صحرایی باردار در اولین روز بارداری، بصورت تصادفی به دو گروه گواه و تجربی تقسیم شدند (حیوانات نسل صفر) و تغذیه آنها تا پایان بارداری و دوران شیردهی به همین شکل ادامه یافت. سپس از بین نوزادان ماده گروه تجربی، ۱۴ سر حیوان بصورت تصادفی به دو گروه تجربی و گروه بهبود تقسیم شدند (حیوانات نسل اول). از بین نوزادان ماده گروه گواه نیز ۷ سر حیوان، تغذیه قبلی خود را ادامه دادند. سپس حیوانات بالغ هر گروه پس از جفت‌گیری و تأیید بارداری، تغذیه قبلی خود را تا پایان بارداری و شیردهی نوزادان نسل دوم ادامه دادند. این روند تا بلوغ نوزادان نسل دوم در سه گروه ادامه یافت. در هر مرحله به هنگام بلوغ، وزن و قد حیوانات ثبت شد و پس از پایان دوره شیردهی نمونه‌های خون حیوانات هر گروه جمع‌آوری شد. داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. **نتایج:** کمبود حاشیه‌ای ویتامین A اثر قابل توجهی بر رشد وزنی و رشد طولی حیوانات در طی دو نسل نشان داد. همچنین این کمبود با کاهش قابل توجه سطح رتینول سرم در گروه تجربی همراه بود. از طرفی کاهش رتینول سرم با افزایش قابل توجه سطح تری‌گلیسرید، کلسترول و گلوکز سرم همراه بود و همبستگی مثبت و معنی‌دار بین رتینول سرم با شاخص‌های رشد و همبستگی منفی و معنی‌داری بین رتینول سرم و شاخص‌های متابولیک مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کمبود حاشیه‌ای و دراز مدت ویتامین A با بروز اختلالات قابل توجه در رشد، متابولیسم لیپیدها و گلوکز سرم همراه است و این اختلالات همزمان با انتقال به نسل‌های بعد شدیدتر می‌شوند.

**کل واژگان:** کمبود ویتامین A، بارداری، شاخص رشد، شاخص متابولیک.**مقدمه:**

دژنراتیو لوله‌های اسپرم ساز شده است و در موش صحرایی ماده موجب سقط جنین، جذب و ناهنجاری جنین شده است (۵).

به هنگام بارداری ویتامین A نقش مهمی در افتراق سلولی دارد. این ویتامین در بلوغ و تکامل اندام‌هایی مثل قلب، کبد، پانکراس، کلیه، ریه و دستگاه گوارش نقش دارد (۴ و ۱۲-۶). ویتامین A در دوران بارداری از مادر به جنین انتقال می‌یابد و این انتقال به تنظیم دقیق نیاز دارد، زیرا جنین پستانداران قادر به ذخیره کردن این ویتامین نمی‌باشد و کمبود یا ازدیاد این ویتامین می‌تواند موجب بروز نقایصی در جنین شود و مشکلات تولید مثلی ایجاد کند (۱۳).

تاکنون اثرات دراز مدت کمبود ویتامین‌ها و املاح در ارتباط با ابتلا به بیماری‌های مزمن بررسی نشده است. از طرفی با توجه به نقش و اثرات متعدد ویتامین A در رشد و تکامل اندام‌ها در دوران‌های رشد سریع که منجر به تغییرات دائمی، شامل

مطالعات تجربی انجام شده بر روی حیوانات نشان داده‌اند که سوء تغذیه پیش از تولد باعث ایجاد دگرگونی‌های همیشگی متابولیک، فیزیولوژیک و ساختمانی می‌شوند. همچنین این پژوهش‌ها نشان می‌دهند که این تغییرات زمینه ساز ابتلا به بیماری‌های بعدی هستند (۱). اگر فراهمی مواد مغذی به هنگام رشد سریع جنین تحت تأثیر قرار بگیرد، پاسخ‌های تطابق‌گونه بدن موجب کندی میزان و روند تقسیم سلولی می‌شود که ممکن است بطور غالب بر هر اندامی اثر بگذارد (۲). از طرفی کمبود ویتامین A یکی از مهمترین مشکلات کشورهای در حال توسعه محسوب می‌شود و مهمترین گروه در معرض خطر این کمبود، نوزادان، کودکان پیش دبستانی و مادران باردار هستند (۳ و ۴). کودکان مبتلا به کمبود ویتامین A نسبت به عفونت‌ها بسیار حساس و آسیب‌پذیر هستند. همچنین، کمبود این ویتامین در موش صحرایی نر موجب نقص در اسپرماتوژنز و تغییرات

(رتینول پالمیتات IU/gr ۵۰۰۰۰۰ ساخت شرکت سیگما آمریکا) به مخلوط رژیم غذایی اضافه شد و برای تهیه رژیم غذایی با کمبود حاشیه‌ای<sup>۳</sup> ۰/۰۰۲۷ گرم از ویتال ویتامین A به مخلوط رژیم غذایی اضافه شد و به این ترتیب مقدار ویتامین A در یک کیلو گرم از رژیم غذایی برابر با ۱۳۵۰ IU/Kg یا ۴۰۹ RE/Kg بود.

۳- نحوه اجرای طرح:

در ابتدا ۳۰ سر موش صحرایی<sup>۴</sup> ماده از نژاد Wistar و در سن ۱۰ هفتگی از انستیتو پاستور ایران تحویل گرفته شد و در محل آزمایشگاه حیوانات انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای کشور بصورت انفرادی و در قفس‌های به ابعاد ۳۰×۲۰×۲۰ سانتیمتر نگهداری شدند. از بین این حیوانات ۷ سر حیوان بصورت تصادفی برای خون‌گیری انتخاب شدند و وزن و قد آنها به عنوان (گروه پایه) ثبت شد. یافته‌های حاصل از اندازه‌گیری به عنوان اندازه‌های پایه در نظر گرفته شد. سایر حیوانات (۲۳ سر حیوان) ابتدا به مدت یک هفته به قفس‌ها، محیط آزمایشگاه و رژیم غذایی تخلیص شده عادت و خو گرفتند و سپس هر حیوان ماده با یک حیوان نر (حیوانات نر بصورت جداگانه و در اطاق جداگانه دوره تطابق پذیری با محیط جدید را گذرانیدند) و در طول شب هم قفس شدند. صبح روز بعد دکتر دامپزشک این تحقیق، با بررسی ناحیه واژینال<sup>۵</sup> حیوانات ماده، وجود بارداری را تأیید می‌نمود. به این ترتیب در شروع طرح، بارداری ۱۷ سر حیوان تأیید شد که بصورت تصادفی به دو گروه ۹ و ۸ عددی تقسیم شدند و به ترتیب زیر وارد مطالعه شدند.

۱- گروه گواه نسل صفر: شامل ۹ سر حیوان، که از شروع بارداری غذای تخلیص شده استاندارد را دریافت می‌کردند.

۲- گروه تجربی نسل صفر: شامل ۸ سر حیوان که از شروع بارداری رژیم غذایی تخلیص شده با کمبود ویتامین A را دریافت می‌کردند.

تغذیه هر دو گروه تا زمان تولد نوزادان و تا پایان دوران شیر خواری نوزادان ادامه داشت. پس از آن نوزادان گروه تجربی (۱۴ سر حیوان) بصورت تصادفی به دو گروه تقسیم شدند:

الف: گروهی که همان رژیم تخلیص شده با کمبود حاشیه‌ای ویتامین A را دریافت می‌کردند (گروه تجربی نسل اول) و شامل ۷ سر حیوان بودند.

کاهش تعداد سلول‌ها، تغییر در ساختمان اندام‌ها و کاهش سطح و عملکرد هورمون‌ها می‌شود (۱ و ۲) و با توجه به تنظیم بیان شدن ژن‌ها<sup>۱</sup> از یک طرف و بروز بالایی بیماری‌های قلبی - عروقی و دیابت از طرف دیگر، این مطالعه با هدف ارزیابی اثرات کمبود دراز مدت و حاشیه‌ای ویتامین A در دوران بارداری و در طی دو نسل بر شاخص‌های رشد و متابولیک موش صحرایی انجام شده است.

## روش کار:

این پژوهش یک مطالعه تجربی است که بر روی حیوان آزمایشگاهی انجام شده است.

۱- حیوانات مورد مطالعه:

حیوانات مورد مطالعه از نوع Wistar بودند که وزن تقریبی نوع بالغ آنها بین ۲۰۰-۱۸۰ گرم می‌باشد. سایر مشخصات پرورشی موش صحرایی به قرار زیر است (۱۴):

وزن زمان تولد: ۶-۵ گرم، وزن نوزادان زائیده شده در هر بار: ۴۰-۴۸ گرم برای ۸ نوزاد، سن بلوغ: ۷۲-۶۰ روز، سیکل استروس: ۵ روز، دوران بارداری: ۲۲-۲۰ روز، دوران شیرخواری: ۲۱ روز، جفت گیری: ۱ نر و ۳-۴ ماده، طول عمر متوسط: ۳-۲ سال، درجه حرارت پیشنهادی: ۲۷-۲۱ درجه سانتیگراد، میزان رطوبت: ۴۵-۵۵ درصد، نیاز به روشنایی: ۱۲ ساعت.

۲- رژیم غذایی (۱۵ و ۱۶):

هر یک کیلوگرم از رژیم غذایی مورد استفاده شامل مواد زیر بود: ۱۰۰ گرم کازئین (شرکت مرک آلمان)، ۳۵ گرم از ترکیب املاح (AIN-93G)<sup>۲</sup> شرکت Dyets آمریکا، ۱۰ گرم از ترکیب ویتامین‌ها (AIN-93G) که شامل تمامی ویتامین‌های مورد نیاز به جز ویتامین A بود، ۲ گرم DL متیونین (شرکت مرک آلمان)، ۱/۵ گرم کولین کلرید (شرکت مرک آلمان)، ۱ گرم وانیل، ۴۰۰ میلی‌گرم اینوزیتول (شرکت مرک آلمان)، ۱۰۰ میلی‌گرم ویتامین E (شرکت داروپخش)، ۵۲۷ گرم نشاسته ذرت (شرکت BDH انگلستان)، ۵۰ گرم گلوکز (شرکت مرک آلمان)، ۱۵۳ گرم شکر معمولی، ۵۰ گرم سلولز (شرکت مرک آلمان) و ۷۰ گرم روغن سویا که کاروتنوئیدهای آن در فرایند حذف شده بودند (شرکت نازگل کرمانشاه). برای تهیه رژیم غذایی استاندارد (IU/Kg) ۴۰۰۰ یا ۱۲۱۲ RE/Kg (۰/۰۰۸ گرم از ویتال ویتامین A

<sup>3</sup> - Marginal deficient diet

<sup>4</sup> - Ratus norvegicus

<sup>5</sup> - Vaginal plaque

<sup>1</sup> - Gene expression

<sup>2</sup> - American Institute of Nutrition

**یافته‌ها:**

با توجه به جدول شماره ۱ ملاحظه می‌شود که میانگین وزن هنگام بلوغ حیوانات نسل دوم که در معرض رژیم غذایی با کمبود حاشیه‌ای ویتامین A قرار داشتند بین ۱۰-۶ گرم کمتر از میانگین وزن حیوانات بالغ در آغاز مطالعه بوده است، اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در حالی که میانگین وزن حیوانات بالغ گروه گواه و بهبود در نسل دوم نیز برابر با میانگین وزن حیوانات در آغاز مطالعه بوده است. از طرفی کمبود حاشیه‌ای ویتامین A اثر قابل توجهی بر قد حیوانات مورد مطالعه داشته است، به گونه‌ای که تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین قد حیوانات بالغ در گروه تجربی نسل دوم (۱۵/۱) با میانگین قد حیوانات گروه تجربی نسل‌های اول (۱۶/۳) و صفر (۱۷/۱) مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). همچنین تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین قد حیوانات گروه پایه (۱۷/۱) و میانگین قد حیوانات گروه بهبود در نسل‌های اول (۱۶) و دوم (۱۵/۵) مشاهده شد ( $P < 0.001$ ).

رژیم غذایی با کمبود حاشیه‌ای ویتامین A اثر قابل توجهی بر سطح رتینول سرم حیوانات گروه تجربی داشت به گونه‌ای که تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین رتینول سرم گروه تجربی نسل صفر (۲۵/۸) با گروه گواه همان نسل (۴۳) مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). همچنین تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین رتینول سرم گروه تجربی نسل اول (۲۰/۸) با گروه گواه همان نسل (۳۵/۹) و گروه تجربی نسل دوم (۲۶/۸) با گروه بهبود (۴۹/۲) و گروه گواه همان نسل (۵۹/۲) مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). از طرفی تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین رتینول سرم گروه بهبود نسل اول (۲۸/۳) با نسل دوم همان گروه (۴۹/۲) مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). همانگونه که مشاهده می‌شود میانگین تری‌گلیسرید سرم در گروه تجربی نسل صفر (۲۱۹/۸) نسبت به گروه پایه (۷۶) سرعت بالا رفته است و تفاوت معنی‌دار آماری را نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین تفاوت معنی‌دار آماری بین میانگین تری‌گلیسرید سرم گروه تجربی نسل اول (۱۴۷) با گروه بهبود (۹۶) و گواه (۹۸/۳) همان نسل مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). میانگین تری‌گلیسرید سرم گروه تجربی نسل دوم (۲۰۰/۳) با گروه بهبود (۱۶۵/۵) و گواه (۸۴) همان نسل نیز تفاوت معنی‌دار آماری نشان داد ( $P < 0.05$ ). نکته قابل توجه در این مورد افزایش ناگهانی میانگین تری‌گلیسرید سرم در گروه بهبود نسل دوم (۱۶۵/۵) است به گونه‌ای که تفاوت معنی‌دار آماری را نسبت به نسل اول همان گروه (۹۶) نشان داد ( $P < 0.05$ ). یافته‌های بدست آمده در ارتباط با کلسترول سرم تفاوت معنی‌دار آماری را

ب: ۷ سر حیوان دیگر از این پس رژیم غذایی تخلیص شده استاندارد را دریافت می‌کردند (گروه بهبود نسل اول).

نوزادان از شیر گرفته شده در گروه گواه (۷ سر حیوان) نیز همان رژیم غذایی تخلیص شده اولیه را دریافت کردند (گروه گواه نسل اول).

پس از بلوغ نوزادان نسل اول (سن ده هفتگی) جفت‌گیری<sup>۱</sup> انجام شد و حیوانات باردار هر گروه رژیم غذایی ویژه خود را تا هنگام تولد نوزادان نسل دوم و پایان دوران شیر خواری و بلوغ نوزادان نسل دوم ادامه دادند.

حیوانات نسل صفر و نسل اول پس از پایان دوران شیردهی مورد خون‌گیری قرار گرفتند و حیوانات نسل دوم در پایان ۱۰ هفتگی مورد خون‌گیری قرار گرفتند. وزن و قد حیوانات در هر نسل در سن ۱۰ هفتگی ثبت شد. همچنین، بدن‌بال تولد نوزادان در هر گروه، میانگین وزن هنگام تولد و میانگین نوزادان مرده متولد شده ثبت شد. در تمام مدت مطالعه درجه حرارت آزمایشگاه بین ۲۸-۲۰ درجه سانتیگراد و رطوبت بین ۴۵-۵۵ درصد حفظ شد. همچنین، نور در آزمایشگاه بسیار ملایم و سیکل نور طبیعی بود.

۴- اندازه‌گیری شاخص‌های متابولیک:

تری‌گلیسرید، کلسترول و گلوکز سرم به روش آنزیمی و با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شدند. انسولین سرم به روش ELISA<sup>۲</sup> و با استفاده از کیت‌های شرکت DRG<sup>۳</sup> آلمان اندازه‌گیری شد. رتینول سرم نیز به روش پیشنهادی IVACG<sup>۴</sup> (۱۷) و بوسیله HPLC<sup>۵</sup> اندازه‌گیری شد.

۵- محاسبات آماری:

به منظور مقایسه سطح فراسنج‌های لیپیدی، گلوکز سرم، رتینول سرم، میانگین وزن هنگام تولد و وزن و قد هنگام بلوغ در بین گروه‌ها و در نسل‌های مختلف یک گروه از آزمون‌های t-test, Mann-Whitney و برای انجام مقایسات زوجی از آزمون (one-way ANOVA) و برای انجام مقایسات زوجی از آزمون Tukey استفاده شد. در هر آزمون  $P < 0.05$  به عنوان سطح معنی‌دار آماری در نظر گرفته شد. این محاسبات با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (Ver.10) انجام شد.

<sup>1</sup> - Mating

<sup>2</sup> - Enzyme linked immunosorbent assay

<sup>3</sup> - DRG Instruments GmbH

<sup>4</sup> - International Vitamin A Consultative Group

<sup>5</sup> - High performance liquid chromatography

معنی دار آماری بین میانگین انسولین سرم گروه بهبود نسل اول (۵/۵) با نسل دوم همان گروه (۶/۳) مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

بین میانگین سرمی گروه تجربی نسل صفر (۸۲/۳) و گروه تجربی نسل اول (۷۹/۳) با نسل دوم همان گروه (۱۱۶/۱) نشان

جدول ۱ - میانگین ( $\bar{X}$ ) و انحراف معیار (SD) وزن و قد حیوانات مورد مطالعه در گروه‌ها و نسل‌های مختلف

نمایه رشد	گروهها	گروه پایه			گروه تجربی			گروه بهبود			گروه گواه	
		نسل صفر	نسل ۱	نسل ۲	نسل صفر	نسل ۱	نسل ۲	نسل صفر	نسل ۱	نسل ۲	نسل ۱	نسل ۲
وزن بلوغ (گرم)	n	۷	۸	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷	۷
$\bar{X}$		۱۵۲/۹	۱۵۶/۷	۱۶۲/۶	۱۴۷/۱	۱۵۲/۷	۱۵۳/۳	۱۵۶/۱	۱۵۶/۳	۱۵۶/۳	۱۵۶/۳	۱۵۶/۳
SD		۲۰/۸	۱۹/۷	۳۶/۹	۱۲/۵	۲۶/۴	۱۴/۷	۱۹/۸	۲۷/۴	۱۶/۵	۱۶/۵	۱۶/۵
قد بلوغ (cm)	$\bar{X}$	۱۷/۱	۱۷/۱	۱۶/۳	۱۵/۱	۱۶	۱۵/۵	۱۷/۱	۱۶/۴	۱۶/۴	۱۶/۴	۱۶/۴
SD		۰/۳۴	۰/۴۲	۰/۳۹	۰/۷۵	۰/۶۴	۰/۷۱	۰/۳۹	۰/۶۱	۰/۴۸	۰/۴۸	۰/۴۸

### بحث و نتیجه گیری:

در مطالعه حاضر کمبود حاشیه ای ویتامین A اثر قابل توجهی بر روند وزن گیری حیوانات مورد مطالعه نشان نداد. اما حیواناتی که در معرض رژیم با کمبود حاشیه ای قرار داشتند در مقایسه با گروه گواه غذای بیشتری مصرف کرده بودند و شاید این موضوع یکی از دلایل ثابت ماندن وزن در گروه تجربی و در طی دو نسل بوده است. اما مطالعات گذشته نشان داده اند که کمبود پروتئین رژیم غذایی بشدت بر روند وزن گیری حیوان در حال رشد اثر می گذارد و حیواناتی که مجدداً بر روی رژیم غذایی طبیعی قرار گرفتند تفاوت قابل توجهی در وزن گیری نسبت به گروه گواه نداشتند (۱۸). همچنین مطالعات قبلی نشان داده اند، رژیم غذایی عاری از ویتامین A می تواند بشدت بر روی روند وزن گیری حیوانات در حال رشد (سن ۳۳ روزگی)، در مقایسه با رژیم کمبود حاشیه ای این ویتامین اثر بگذارد (۱۹).

با توجه به اینکه یکی از عملکردهای اصلی ویتامین A، نقش آن در رشد و نمو و فرایندهای وابسته به آن است (۲۰) و این موضوع تا کنون بخوبی در مطالعات انسانی به اثبات رسیده است و محققین مختلف نشان داده اند کمبود حاد و تحت بالینی ویتامین A می تواند منجر به کاهش رشد قدی بخصوص در پسران شود (۲۰)، در مطالعه حاضر نیز با توجه به کاهش تدریجی قد حیوانات در طی دو نسل، در گروه تجربی و ثابت بودن سایر شرایط برای تمام گروه‌ها، می توان این موضوع را به کمبود ویتامین A رژیم غذایی نسبت داد. این یافته می تواند نشان دهنده اثر طولانی مدت کمبود حاشیه ای ویتامین A در

دادند ( $P < 0.001$ ). همچنین تفاوت معنی دار آماری بین میانگین کلسترول سرم گروه بهبود نسل اول (۷۴/۹) با نسل دوم همان گروه (۹۶/۳) مشاهده شد ( $P < 0.01$ ).

رژیم غذایی با کمبود حاشیه ای ویتامین A اثر قابل توجهی بر گلوکز سرم نشان داد، به گونه ای که تفاوت معنی دار آماری بین میانگین گلوکز سرم حیوانات گروه تجربی نسل صفر (۱۲۷/۷) با نسل اول (۱۴۷/۹) و دوم (۲۱۴/۷) همان گروه مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). همچنین تفاوت معنی دار آماری بین میانگین گلوکز سرم گروه تجربی نسل اول (۱۴۷/۹) و گروه بهبود نسل اول (۱۴۳/۳) با گروه گواه همان نسل (۱۲۷/۳) مشاهده شد ( $P < 0.005$ ). میانگین گلوکز سرم گروه تجربی نسل دوم (۲۱۴/۷) نیز با میانگین گلوکز سرم گروه بهبود (۱۷۶/۲) و گواه (۱۳۲/۵) همان نسل تفاوت معنی دار آماری نشان داد ( $P < 0.05$ ). از طرفی تفاوت معنی دار آماری بین میانگین گلوکز سرم گروه بهبود نسل اول (۱۴۳/۳) با نسل دوم همان گروه (۱۷۶/۲) مشاهده شد ( $P < 0.01$ ) که از جالب توجه ترین یافته های مطالعه حاضر است. یافته های بدست آمده در مورد انسولین سرم نیز تفاوت معنی دار آماری را بین میانگین انسولین سرم حیوانات گروه تجربی نسل صفر (۶) و نسل اول (۶/۳) با نسل دوم همان گروه (۷/۲) نشان داد ( $P < 0.05$ ). همچنین تفاوت معنی دار آماری بین میانگین انسولین سرم حیوانات گروه تجربی نسل اول (۶/۳) با گروه های بهبود (۵/۵) و گواه (۵/۲) همان نسل مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). میانگین انسولین سرم گروه تجربی نسل دوم (۷/۲) نیز نسبت به میانگین انسولین سرم گروه گواه همان نسل (۵/۷) تفاوت معنی دار آماری نشان داد ( $P < 0.01$ ). از طرفی تفاوت

مشاهده شده در مطالعه حاضر است (۱۹ و ۲۲-۲۱). شواهد بدست آمده از مطالعات بالینی و تجربی مختلف نشان داده‌اند که

کاهش سرعت فیزیکی باشد، به صورتی که در مقایسه با گروه تجربی سرعت رشد قدی در گروه بهبود بیشتر و در مقایسه گروه

جدول ۲- میانگین ( $\bar{X}$ ) و انحراف معیار (SD) رتینول، تری گلیسرید، کلسترول، گلوکز و انسولین سرم حیوانات مورد مطالعه در گروه‌ها و نسل‌های مختلف

متغیر مورد بررسی	گروهها	گروه پایه	گروه تجربی		گروه بهبود		گروه گواه		n
			نسل ۱	نسل ۲	نسل ۱	نسل ۲	نسل ۱	نسل ۲	
رتینول سرم (µg/dl)	$\bar{X}$	۳۲/۵	۲۰/۸	۲۶/۸	۲۸/۳	۴۹/۲	۳۵/۹	۵۹/۲	۷
	SD	۷/۱	۹/۵	۷/۸	۱۰/۱	۷/۶	۱۰/۴	۱۵/۲	۶
تری گلیسرید سرم (mg/dl)	$\bar{X}$	۲۱۹/۸	۱۴۷	۲۰۰/۳	۹۶	۱۶۵/۵	۹۸/۳	۸۴	۷۶
	SD	۱۳۲/۶	۲۹/۳	۵۴/۶	۲۸/۳	۳۵/۸	۴۹/۴	۱۸/۸	۲۱/۷
کلسترول سرم (mg/dl)	$\bar{X}$	۸۲/۴	۷۹/۳	۱۱۶/۱	۷۴/۹	۹۶/۳	۷۹/۲	۱۰۸/۸	۸۲/۴
	SD	۱۱/۲	۸/۲	۱۷/۶	۱۰/۵	۱۰/۳	۱۰/۷	۲۶	۱۱/۲
گلوکز سرم (mg/dl)	$\bar{X}$	۱۰۴	۱۴۷/۹	۲۱۴/۷	۱۴۳/۳	۱۷۶/۲	۱۱۴/۲	۱۳۲/۵	۱۰۴
	SD	۳۲/۵	۴/۷	۳۴/۷	۲/۶	۲۰	۱۱/۱	۲۳	۳۲/۵
انسولین سرم (µu/ml)	$\bar{X}$	۵/۳	۶/۳	۷/۲	۵/۵	۶/۳	۵/۳	۵/۷	۵/۳
	SD	۰/۳	۰/۷	۰/۵	۰/۴	۰/۶	۰/۴	۰/۹	۰/۳

یک ارتباط علیتی قوی بین رشد در دوران جنینی و نوزادی و بروز بیماری دیابت یا عدم تحمل گلوکز، بیماری‌های قلبی - عروقی و احتمالاً چاقی در سالیان بعدی زندگی وجود دارد (۲۳). همچنین در مطالعات پیشین نشان داده شده است که کمبود حاشیه‌ای ویتامین A بر روی شکل، ساختمان و وزن اندام‌های در حال رشد موش صحرایی مثل قلب، کلیه، ریه، کبد و مغز اثر قابل توجهی دارد (۲۲).

هر چند که هنوز مکانیسم دقیق اختلالات ناشی از سوء تغذیه در دوران جنینی و بارداری شناخته نشده‌اند، اما مطالعات انجام شده بر روی موش صحرایی نشان داده‌اند، اگر بدنبال سوء تغذیه دوران بارداری و کاهش سرعت رشد جنین، تغذیه مناسب بعد از تولد منجر به رشد شتاب یافته گردد، این موضوع می‌تواند باعث کاهش عمر حیوان گردد. هنوز مشخص نیست که چرا اینگونه جبران رشد می‌تواند زیانبار باشد (۲۴). اما یک فرضیه مطرح این است که کاهش سرعت رشد جنینی منجر به کاهش تعداد سلول‌ها می‌شود و رشد شتاب یافته بعدی، در نتیجه افزایش رشد غیر طبیعی در توده سلولی محدود بوجود می‌آید. فرضیه دیگری بیان می‌کند، که این موضوع باعث تغییر در سطح ترشح هورمون‌هایی مثل انسولین، فاکتور رشد شبیه به

بهبود با گروه گواه سرعت رشد قدی در گروه بهبود کمتر بود. رژیم غذایی با کمبود حاشیه‌ای ویتامین A، حتی در حیوانات نسل صفر، بسرعت اثر قابل توجهی بر سطح رتینول سرم داشت. بگونه ای که سطح رتینول سرم حیوانات تجربی نسبت به گروه گواه تفاوت قابل توجهی را نشان داد و رتینول سرم گروه گواه حتی از سطح آن در گروه پایه نیز بیشتر بود. این موضوع می‌تواند بیانگر این باشد که رژیم غذایی معمولی (Stock)، حیوانات گروه پایه نیز احتمالاً حاوی مقادیر کافی و مورد نیاز این حیوانات نبوده است. اما بهرحال مشاهده تفاوت نسبی و قابل توجه از لحاظ آماری بین گروه تجربی و گواه در نسل‌های صفر، اول و دوم نشان دهنده اثر رژیم غذایی اعمال شده بر سطح سرمی این ویتامین بوده است. مهمترین نکته در این ارتباط وجود تفاوت قابل توجه، بین میانگین رتینول سرم گروه بهبود نسل اول با گروه بهبود نسل دوم است که با یافته‌های بدست آمده در مورد قد حیوانات در گروه بهبود نسل دوم همخوانی دارد و نشان دهنده جبران کمی سطح رتینول سرم در حیوانات گروه بهبود نسل دوم است. لازم به ذکر است که اثر رژیم با کمبود حاشیه‌ای ویتامین A بر روی سطح رتینول سرم حیوانات آزمایشگاهی در مطالعات انجام شده پیشین مؤید وضعیت

قرار گرفته باشد، بگونه‌ای که این اختلالات در گروه بهبود نسل دوم بصورت افزایش سطح گلوکز و پاسخ تطابق گونه انسولین سرم نمایانگر شده است، در حالی که با وجود افزایش سطح انسولین، سطح گلوکز سرم افزایش یافته است. همانگونه که اشاره شد مشابه چنین حالتی، بدنبال کاهش سطح پروتئین رژیم غذایی در موش صحرایی مشاهده شده است (۲۳ و ۳۰-۲۸).

همچنین در مطالعات انجام شده قبلی نشان داده شد که کمبود ویتامین A می‌تواند باعث کاهش سطح بیان شدن ژن IGF-I و افزایش سطح گیرنده‌های I-IGF و افزایش بیان شدن گیرنده‌های انسولینی شود (۳۱). از طرفی مطالعات انجام شده بر روی انسان نشان داده اند که سوء تغذیه در دوران بارداری، جنینی و سالیان آغازین زندگی می‌تواند باعث افزایش خطر ابتلا به دیابت و مقاومت به انسولین در سال‌های بعدی زندگی شود (۲۶ و ۳۰-۲۹).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که کمبود حاشیه‌ای ویتامین A بر روند رشد طولی حیوانات مورد مطالعه در طی دو نسل اثر قابل توجهی دارد اما بر روی افزایش وزن حیوانات در طی دو نسل اثر قابل توجهی نداشت. همچنین کمبود حاشیه‌ای ویتامین A باعث افزایش سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، گلوکز و انسولین سرم در طی دو نسل شد که می‌تواند بیانگر نقش ویژه این ویتامین در فرایند رشد و نمو و تنظیم بیان شدن ژن‌ها و عملکرد هورمون‌های بدن باشد. از طرف دیگر بروز اختلالات متابولیک مشاهده شده در نسل دوم حیوانات گروه بهبود، در راستای فرضیه Programming و نشان دهنده اهمیت تغذیه صحیح در دوره‌های بحرانی رشد است. بطور کلی این مطالعه نشان دهنده اثرات مخرب و زیانبار سوء تغذیه در دوره‌های بحرانی رشد و پتانسیل انتقال این اثرات به نسل‌های بعدی است.

### تشکر و قدردانی:

برای اجرای این مطالعه از امکانات و اعتبارات انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور و معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی استفاده شده است. مجریان، بدینوسیله از مسئولین محترم این مراکز که بدون همکاری و حمایت آنان، اجرای این پژوهش امکان پذیر نبود کمال تشکر و قدردانی خود را اعلام می‌دارند.

انسولین<sup>۱</sup> و هورمون رشد می‌شود. این تغییرات در جنین و در پاسخ به سوء تغذیه بوجود می‌آیند و منجر به اثر سوء بر روی رشد دوران کودکی و افزایش خطر بروز بیماری‌های قلبی - عروقی و دیابت می‌شوند (۲۴).

در مطالعه حاضر نیز به نظر می‌رسد که افزایش سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، گلوکز و انسولین سرم در گروه تجربی در ارتباط با کاهش سطح رتینول سرم در این گروه بوده است. نکته قابل توجه در این مورد افزایش ناگهانی تری‌گلیسرید سرم در گروه بهبود نسل دوم است، به صورتی که نسبت به گروه بهبود نسل اول تفاوت قابل توجهی را نشان داد.

از طرف دیگر بر طبق فرضیه Programming که توسط Barker ارائه شده است، تغییرات دائمی در فیزیولوژی و متابولیسم بدن در اوایل دوره زندگی و در دوره‌های بحرانی رشد و تکامل می‌تواند بدنبال اثر یک محرک اولیه مثل سوء تغذیه ایجاد شود. برای مثال کلیه‌ها در آخرین هفته‌های زندگی داخل رحمی کامل می‌شوند و بعد از تولد، توانایی کمی برای تولید نفرون‌ها را دارند. چنین موضوعی برای سایر ارگان‌ها نیز وجود دارد (۲۷-۲۵). بنابراین می‌توان اینگونه تصور کرد که افزایش سطح تری‌گلیسرید در گروه بهبود، نتیجه کمبود مزمن و قدیمی ویتامین A در نسل پیشین و اختلال در عملکرد ارگان‌های مختلف بدن بوده است. این مطلب را می‌توان در مورد وضعیت کلسترول، گلوکز و انسولین سرم نیز در جدول ۲ مشاهده کرد.

مطالعات انجام شده قبلی بر روی موش صحرایی نشان داده‌اند که کمبود پروتئین در دوران بارداری و رشد سریع می‌تواند اثرات دراز مدتی را بر متابولیسم بدن حیوان داشته باشد. رژیم غذایی کم پروتئین در دوران بارداری باعث کاهش رشد جنین و نوزاد و تغییر در ساختمان و عمل پانکراس و قدرت تحمل گلوکز شده است و حیوانات تحت تأثیر قرار گرفته، این اثرات را به نسل‌های بعدی خود منتقل کرده‌اند (۲۳ و ۳۰-۲۸). در مطالعه حاضر نیز یک ارتباط مشخص بین کاهش سطح رتینول سرم و بروز اختلالات متابولیک در نسل‌های مختلف مشاهده می‌شود. تفاوت قابل توجه بین سطح انسولین سرم در گروه تجربی نسل صفر با نسل‌های اول و دوم همان گروه و همچنین تفاوت قابل توجه بین سطح انسولین سرم گروه بهبود نسل اول با نسل دوم همان گروه، می‌تواند نشان دهنده حالت مقاومت در برابر انسولین در حیوانات گروه تجربی نسبت به گروه گواه و بروز اختلالات عملکردی در پانکراس حیوانات تحت تأثیر

<sup>۱</sup> - Insulin-like growth factor

## References:

- 1- Dennison E. Prenatal factors influencing long-term outcome. *Hormone Res* 1997; 48 (suppl): 25-9.
- 2- Barker DJP. The fetal origins of disease of old age. *Eur J Clin Nutr* 1992, 48 (suppl): s5-s9.
- 3- Goldberg GR, Prentice AM. Maternal and fetal determinants of adult diseases. *Nutr Reviews* 1994; 52:191-200.
- 4- Reifen R, Zaiger G, Zehava U. Effects of Vitamin A on small intestinal brush border enzymes in Rat. *Internat J Vit Nutr Res* 1998; 68: 281-6.
- 5- Mc Laren DS, Frigg M. Sight and life manual on Vitamin A deficiency disorders. *Task Force Sight Life*; 2000: 2-25.
- 6- Twining SS, Schulte DP, Wilson PM, et al. Vitamin A deficiency alters rat neutrophil function. *J Nutr* 1997; 127: 558-65.
- 7- Bernadette CH, Cheny N, Lelievre M. Mild Vitamin A deficiency delays fetal lung maturation in the rat. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1999; 21: 89-96.
- 8- Warden RA, Strazzari MJ, Dunkley PR, et al. Vitamin A deficient rats have only mild changes in jejunal structure and function. *J Nutr* 1996; 126: 1817-26.
- 9- Antipatis C, Ashworth CJ, Grant G, et al. Effects of maternal Vitamin A status on fetal heart and lung: changes in expression of key developmental genes. *Am J Physiol* 1998; 275:L1184-L1191.
- 10- Zachman RD, Grummer AM. Effects of maternal /fetal Vitamin A deficiency on fetal rat lung surfactant protein expression and the response to prenatal dexametason. *Pediat Res* 1998; 43: 178-83.
- 11- Baybutt RC, Hu L, Molteni A. Vitamin A deficiency injures lung and liver parenchyma and impairs function of rat type II pneumocytes. *J Nutr* 2000; 130: 1159-65.
- 12- Dawson HD, Li NQ, Decicco KL, et al. Chronic marginal vitamin A status reduces natural killer cell number and function in aging Lewis rats. *J Nutr* 1999; 129: 1510-7.
- 13- Antipatis C. Effects of maternal vitamin A status on prenatal development in rats. *J Reprod Fertil Abst Ser* 1996; 18: 82-9.
- ۱۴- کریمی‌ان، سیدمرتضی. دانستنی‌های ضروری در مورد کار با حیوانات آزمایشگاهی. انتشارات یاد. ۱۳۷۷، ص ۲۸-۲۹.
- 15- Reeves PG. Components of AIN-93 Diets as improvements in the AIN-76A Diet. *J Nutr* 1997; 127: 838s-841s.
- 16- Watson RR. *Nutrient Requirements of Laboratory Animals*. 4th ed. Washington D.C: National Academy Press; 1995: 11-80.
- 17- IVACG. Biochemical methodology for assessment of vitamin A status. A report of the International Vitamin A Consultative Group; 1982: 1-19.
- 18- Bennis-Taleb N, Remacle C, Hoet JJ, et al. A low protein isocaloric diet during gestation affects brain development and alters permanently cerebral cortex blood vessels in rat offspring. *J Nutr* 1999; 129: 1613-9.
- 19- Gardner EM, Ross C. Dietary vitamin A restriction produces marginal vitamin A status in young rats. *J Nutr* 1993; 123: 1435-43.
- 20- Sommer A. Impact of vitamin A supplementation on childhood mortality. A randomized controlled community trial. *Lancet* 1986; 1: 1169-73.
- 21- Dawson HD, Ross C. Chronic marginal vitamin A status affects the distribution and function of T cells and natural T cells in aging Lewis rats. *J Nutr* 1999; 129: 1782-90.
- 22- Antipatis C, Grant G, Ashworth CJ. Moderate maternal vitamin A deficiency affects prenatal organ growth and development in rats. *Br J Nutr* 2000; 84: 125-32.
- 23- Hoet JJ. The role of fetal and infant growth and nutrition in the causality of diabetes and cardiovascular disease in later life. *SCN News* 1997; (14): 10-2.
- 24- Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J, et al. Catch-up growth in childhood and death from coronary heart disease: longitudinal study. *BMJ* 1999; 318: 427-31.
- 25- Barker DJP. *Fetal and Infant Origins of Adult Disease*. British Medical Journal: Plymouth; 1992: 1-103.
- 26- Eriksson JG, Forsen T, Tuomilehto J, et al. Effects of size at birth and childhood growth on the insulin resistance syndrome in elderly individuals. *Diabetologia* 2002; 45: 342-8.
- 27- Barker DJP. Fetal nutrition and cardiovascular disease in later life. *Br Med Bull* 1997; 53: 96-108.
- 28- Holness MJ, Fryer LGD, Sugden MC. Protein restriction during early development enhances insulin responsiveness but selectively impairs sensitivity to insulin at low concentrations in white adipose tissue during a later pregnancy. *Br J Nutr* 1999; 81: 481-6.
- 29- Fall CHD, Stein CE, Kumaran K, et al. Size at birth, maternal weight and type 2 diabetes in south India. *Diabet Med* 1998; 15: 220-7.
- 30- Watson-Brown BF, Osmand C, Hoels N, et al. Shortness at birth is associated with insulin resistance in pre-pubertal Jamaican children. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56: 506-11.
- 31- Fu Z, Noguchi T, Kato H. Vitamin A deficiency reduces insulin-like growth factor (IGF)-I gene expression and increases IGF-I receptor and insulin receptor gene expression in tissues of Japanese Quail. *J Nutr* 2001; 131: 1189-94.