

## Investigating of dietary nitrate and nitrite interaction and vitamin C and urinary and serum nitrate and nitrite levels: Tehran Lipid and Glucose Study

Zahra Bahadoran<sup>1</sup>, Zahra Saeedirad<sup>2</sup>, Maryam Mousavi<sup>3</sup>, Parvin Mirmiran<sup>4</sup>, fereidoun Azizi<sup>5</sup>

1. PhD of Nutrition .Nutrition and Endocrine Research Center, Obesity Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID CD 0000-0003-4636-3977

2. MS.C student, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID CD 0000-0002-0526-7375

3. MS.C student, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID CD 0000-0002-0534-5281

4. Department of Clinical Nutrition and Dietetics, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran, ORCID CD 0000-0003-2391-49245. E-mail: mirmiran@endocrine.ac.ir,

5. Endocrine Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran., ORCID CD 0000-0002-6470-2517

### ABSTRACT

**Background and Aim:** studies show that antioxidants prevent conversion of NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub> to nitrosamines compounds. the aim of this study was to determine the potential effect of interaction between dietary intakes of vitamin C and NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub> on urinary and serum levels of NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub>.

**Materials and Methods:** This cross-sectional study included 251 adults aged >19 years was performed in the phase 6 of the Tehran Lipid and Glucose Study in 2015. Food intake was assessed using a semi-quantitative food frequency questionnaire. The average daily intake of nitrate and nitrite and vitamin C was estimated. Serum and urine levels of nitrate and nitrite were measured using the Grease method. In order to determine the effect of vitamin C on the interaction of nitrate and nitrite in urine and serum, linear regression test was used to modify the effects of confounders.

**Results:** There was a significant correlation between intake of nitrate and its urine level, above the median level of vitamin C intake (B = 0/004, P-value = 0/004). Also, this correlation remained significant after adjusting for age, sex, body mass index, calorie intake (B = 0.03, P-value = 0/001). The effect of vitamin C interactions on nitrate intake and urine level in the adjusted model for nitrate and nitrite was also found to be significant (B = 0/003 P-value = 0/001).

**Conclusion:** Increased intake of vitamin C significantly increases urinary excretion of nitrate and it is effective in the interaction between dietary intakes and urinary excretion of nitrate.

**Keyword:** nitrate, nitrite, vitamin C

**Received:** Dec 4, 2018

**Accepted:** Dec 20, 2020

**How to cite the article:** Zahra Bahadoran , Zahra Saeedirad , Maryam Mousavi , Parvin Mirmiran , fereidoun Azizi. Investigating of dietary nitrate and nitrite interaction and vitamin C and urinary and serum nitrate and nitrite levels: Tehran Lipid and Glucose Study. *SJKU* 2021;26(6):57-68.

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

## بررسی اثر برهمکنش نیترات و نیتريت از رژیم غذایی و ویتامین C و سطوح ادراری و سرمی نیترات و نیتريت: مطالعه قند و لیپید تهران

زهرا بهادران<sup>۱</sup>، زهرا سعیدی راد<sup>۲</sup>، مریم موسوی<sup>۳</sup>، پروین میرمیران<sup>۴</sup>، فریدون عزیزی<sup>۵</sup>

۱. دکتری تخصصی تغذیه، عضو هیات علمی مرکز تحقیقات تغذیه و غدد درون ریز، مرکز تحقیقات پیشگیری و درمان چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴. دکتری تخصصی تغذیه، عضو هیئت علمی گروه تغذیه بالینی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران،

e-mail: mirmiran@endocrine.ac.ir،

۵. فوق تخصص غدد مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعات نشان داده آنتی اکسیدان ها از تبدیل نیترات و نیتريت به ترکیبات نیتروزه پیشگیری می کنند. همین دلیل مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر میان کنش نیترات و نیتريت از رژیم غذایی و ویتامین C و سطوح ادراری و سرمی نیترات و نیتريت انجام شد.

**روش بررسی:** این مطالعه مقطعی در قالب فاز ۶ مطالعه قند و لیپید تهران در سال ۱۳۹۴ بر روی ۲۵۱ فرد بزرگسال انجام شد. دریافت های غذایی با استفاده از یک پرسشنامه نیمه کمی بسامد خوراک ارزیابی شد. میانگین دریافت روزانه نیترات و نیتريت و ویتامین C برآورد گردید. سطح سرمی و ادراری نیترات و نیتريت با استفاده از روش گریس اندازه گیری شد. به منظور تعیین اثر ویتامین C بر میان کنش نیترات و نیتريت رژیم غذایی و سطح ادراری و سرمی آنها از آزمون رگرسیون خطی با تعدیل اثر مخدوشگرها، استفاده شد.

**یافته ها:** ارتباط معنی دار بین نیترات دریافتی و سطح ادراری آن در بالای میانه دریافت ویتامین C مشاهده شد ( $P=0.004$ ,  $B=0.004$ ) (value= 0.004). همچنین این رابطه بعد از تعدیل سن، جنس، نمایه توده بدنی، کالری دریافتی به صورت معنی دار باقی ماند ( $P=0.001$ ,  $B=0.003$ ). اثر برهمکنش ویتامین C در رابطه نیترات دریافتی و ادراری در مدل تعدیل شده برای نیترات و نیتريت دریافتی همچنان معنی دار یافت شد ( $P=0.001$ ,  $B=0.003$ ).

**نتیجه گیری:** افزایش دریافت ویتامین C دریافتی به طور معنی داری منجر به افزایش دفع ادراری نیترات می شود. به نظر می رسد ویتامین C در برهمکنش نیترات دریافتی و دفع ادراری آن موثر است.

**واژگان کلیدی:** نیترات، نیتريت، ویتامین C

وصول مقاله: ۹۷/۹/۱۳ اصلاحیه نهایی: ۹۹/۹/۶ پذیرش: ۹۹/۹/۳۰

به کاهش دفع ادراری نیترات و نیتريت می شود (۱۱،۲۱). در مطالعه ای دیگر نشان داده شد که با دریافت طولانی مدت ویتامین C، دفع ادراری ترکیبات N نیتروز افزایش یافت (۱۳). استرس اکسیداتیو ناشی از ترکیبات نیتروزآمین که با بیماری های مختلفی از جمله دیابت، بیماری عروق قلبی، فشارخون، هیپرکلسترولمی و سرطان در ارتباط است و مصرف ویتامین C می تواند این استرس اکسیداتیو را تا حدی اصلاح کند (۹،۱۴،۲۲).

بنابراین مطالعه حاضر با هدف بررسی اثر برهمکنش نیترات و نیتريت از رژیم غذایی و ویتامین C و سطح ادراری و سرمی نیترات و نیتريت انجام شد.

### مواد و روش ها

افراد مورد مطالعه

مطالعه مقطعی حاضر در قالب مطالعه قند و لیپید تهران انجام شد. مطالعه قند و لیپید تهران، یک مطالعه آینده نگر مبتنی بر جامعه است که به منظور بررسی و پیشگیری از بیماری های غیرواگیر در منطقه ۱۳ تهران بر روی افراد سه سال به بالا به فاصله تقریبی هر سه سال در حال اجرا است (۲۳).

در مطالعه حاضر افراد شرکت کننده طی فاز ششم مطالعه قند و لیپید تهران در سال ۱۳۹۴ با داده های کامل تغذیه، تن سنجی، فعالیت بدنی، ارزیابی بیوشیمیایی مورد ارزیابی قرار گرفتند. افرادی که در شروع مطالعه سیگاری بوده و مبتلا به دیابت نوع ۲، فشارخون، بیماری قلبی عروقی، نارسایی کلیه بودند، از مطالعه کنار گذاشته شدند. چنانچه افراد شرکت کننده کم یا بیش گزارش دهی رژیم غذایی (انرژی دریافتی گزارش شده کمتر از ۸۰۰ و یا بیشتر از ۴۲۰۰ کیلوکالری در روز) و یا رژیم غذایی خاص (توصیه های رژیم برای فشارخون بالا، چربی خون بالا و دیابت) داشتند از مطالعه خارج شدند و آنالیز نهایی بر روی ۲۵۱ زن و مرد صورت گرفت.

اندازه گیری دموگرافیک و تن سنجی

منبع عمده نیترات و نیتريت در بدن، سنتز اکسید نیتريك توسط اکسیدنیتريك سنتاز در اندوتلیوم است (۱). از جمله منابع دیگر آنها میتوان به سبزیجات، غذاهای فرآیند شده و آب آشامیدنی اشاره کرد (۱،۲). اکسید نیتريك یک رادیکال آزاد بسیار فعال است و یکی از مهمترین مولکول های سیگنال دهنده سلولی است که فرآیند های فیزیولوژیک متعدد شامل تنظیم رگ های خونی، ارتباطات عصبی و پاسخ های ایمنی، آپوپتوز و التهاب را تنظیم می کند (۳-۵). اکسید نیتريك طی اکسیداسیون به نیترات و نیتريت تبدیل می شود و نیترات و نیتريت دریافتی توسط احیا به اکسید نیتريك در بدن تبدیل می شوند (۶). کاهش زیست دسترسی به اکسید نیتريك که از طریق اختلال عملکرد اندوتلیال و کاهش فعالیت آنزیم اکسید نیتريك سنتاز ایجاد می شود و سبب افزایش استرس اکسیداتیو می شود، منجر به اختلالات التهابی مانند آترواسکلروز، نارسایی کلیه، فشار خون بالا و عوارض عروقی می شود (۷-۱۰). آثار مخرب نیترات و نیتريت از طریق تبدیل آن به ترکیبات نیتروزه رخ می دهد (۱۱،۱۲). این ترکیبات سرطان زا منجر به مت هموگلوبینما، اختلالات تیروئید و انواع مختلف سرطان می شوند (۱۱،۱۳).

ترکیباتی مانند ویتامین C، ویتامین E، N استیل سیستین، دی متیل سولفوکسید مانع تبدیل نیترات به نیتريت و ترکیبات نیتروزآمین می شوند (۱۱،۱۴،۱۵). که اثر ویتامین C در این میان کنش مهم تر به نظر می رسد (۱۶-۱۸). ویتامین C با ممانعت از تنظیم کاهش cytochrome P-450 که در تشکیل اکسید نیتريك نقش دارد از تولید ترکیبات نیتروزآمین جلوگیری می کند (۱۹). ویتامین C رژیم غذایی از طریق جایگزینی با پیش ساز آمین، از فرآیند نیتروز جلوگیری کند (۱۸،۲۰).

در مطالعات گذشته مشخص شد که دفع ادراری نیترات و نیتريت با افزایش دریافت آنها زیاد می شود و افزایش مصرف ویتامین C در هر سطحی از دریافت ویتامین C منجر

اطلاعات عمومی و دموگرافیک شامل سن، جنس، تحصیلات و سابقه بیماری توسط مصاحبه گرهای ماهر با استفاده از پرسشنامه عمومی تعیین شد (۲۳). مصرف سیگار افراد با استفاده از مصاحبه به دست آمد، به این صورت که افراد اگر روزانه یا گاهی اوقات استعمال سیگار داشتند، به عنوان سیگاری و اگر نمی کشیدند به عنوان غیرسیگاری در نظر گرفته شدند. وزن با حداقل پوشش و بدون کفش با استفاده از ترازوی دیجیتالی با دقت ۱۰۰ گرم اندازه گیری و ثبت شد. قد افراد با استفاده از متر نواری در وضعیت ایستاده در کنار دیوار و بدون کفش در حالی که کتف‌ها در شرایط عادی قرار دارند با دقت ۱ سانتی‌متر اندازه گیری شده است. دور کمر به موازات دور ناف در حالتی اندازه گیری گردید که فرد در انتهای بازدم طبیعی خود قرار داشت و فرد پوشش نازک و یا لباسی به تن داشت که تغییری در اندازه کمر ایجاد نکند. اندازه‌گیری دور کمر با استفاده از یک متر نواری غیرقابل ارتجاع بدون تحمیل هرگونه فشاری به بدن فرد با دقت ۱ سانتی‌متر صورت می‌گرفت.

برای اندازه گیری فشار سیستولیک و دیاستولیک فرد به مدت ۱۵ دقیقه می نشست و سپس پزشک واجد شرایط او را دو بار اندازه گیری می کرد. میانگین دو اندازه گیری به عنوان فشارخون فرد در نظر گرفته شد.

#### ارزیابی آزمایشگاهی

غلظت نیترات و نیتريت ادرار و پلازما با استفاده از روش گریس برای تمام شرکت کننده ها اندازه گیری شد (۲۴). سطح تری گلیسیرید سرم با استفاده از رنگ سنجی آنزیمی با گلیسرول فسفات اکسیداز و سطح HDL-C سرم بعد از رسوب محلول آپولیپوپروتئین ها با اسید فسفوتنگستیک اندازه گیری شد. این اندازه گیری ها با استفاده از کیت های شرکت پارس آزمون انجام شد.

#### ارزیابی دریافت غذایی

دریافت های غذایی معمول افراد شرکت کننده طی سال گذشته با استفاده از یک پرسشنامه بسامد خوراک نیمه کمی اعتبارسنجی شده ۱۴۷ موردی، ارزیابی شد.

کارشناسان تغذیه با حداقل ۵ سال سابقه کار در مطالعه قند و لیپید تهران تعداد دفعات مصرف هر آیتم غذایی مصرف شده را به صورت روزانه، هفتگی، ماهانه بررسی کردند. اندازه سروینگ مصرف شده به صورت پیمانه های خانگی گزارش و سپس به گرم تبدیل شد (۲۵). اعتبار پرسشنامه بسامد خوراک از طریق مقایسه گروه های غذایی و ریزمغذی ها پرسشنامه با یادآمد ۲۴ ساعته و پایایی آن با مقایسه انرژی و ریزمغذی ها از دو پرسشنامه بسامد خوراک به دست آمد. ضریب همبستگی پیرسون و ضریب همبستگی درون رده ای برای ریزمغذی ها و انرژی نشان دهنده مقدار قابل قبول بین پرسشنامه بسامد خوراک و دوازده یادآمد ۲۴ ساعته، همچنین بین پرسشنامه بسامد خوراک اولیه و ثانویه می باشد (۲۶).

با توجه به کامل نبودن جدول ترکیبات ایرانی از نظر تعداد اقلام غذایی و ریزمغذی ها برای اکثر اقلام غذایی، محتوای انرژی و مواد مغذی دریافتی با استفاده از جدول ترکیب غذایی (USDA (United States Department of Agriculture Food Composition Table محاسبه شد (۲۷).

محتوای نیترات و نیتريت رژیم غذایی با تعیین محتوای آنها در ۸۷ آیتم غذایی شامل غلات، حبوبات، میوه ها و سبزی ها، لبنیات، گوشت و گوشت فرآیند شده تعیین شد (۲۸). غلظت بالای نیترات در نان مشاهده شد (۵۰~ میلیگرم در ۱۰۰ گرم). میانگین نیترات و نیتريت در میوه ها ۴۶/۸-۷/۵۰ و ۰/۷۱-۰/۱۵ میلیگرم در ۱۰۰ گرم است. سبزی ها با بیشترین غلظت نیترات در تربچه ۶۲۶ میلیگرم در ۱۰۰ گرم، چغندر ۴۹۵ میلیگرم در ۱۰۰ گرم، ترخون ۴۲۴ میلیگرم در ۱۰۰ گرم، کاهو ۳۶۵ میلیگرم در ۱۰۰ گرم، نعنا ۲۷۹ میلیگرم در ۱۰۰ گرم، کرفس ۲۶۱ میلیگرم در ۱۰۰ گرم بود. سطح نیتريت در سبزیجات ۰/۷۴-۰/۲۱ میلیگرم در ۱۰۰ گرم و محتوای نیترات و نیتريت در لبنیات ۰/۴۵-۰/۱۴ میلیگرم در ۱۰۰ گرم و ۵/۷۵-۱/۲۶ میلیگرم در ۱۰۰ گرم و میانگین نیترات و نیتريت در گوشت ها و گوشت فرآیند شده ۵/۵۶-۱۹/۴ و ۲/۹۳-۱۳/۹ میلیگرم در ۱۰۰

میلیگرم در روز) در جدول شماره یک آمده است. به طور کلی افراد با دریافت ویتامین C بالاتر از میانه، نیترات و نیتريت ادرااری و سرمی بالاتری داشتند. تفاوت معنی داری در نمایه توده بدنی، دور کمر، فشارخون سیستولیک و دیاستولیک، سطح تری گلیسیرید و HDL و LDL سرم بین دو گروه وجود نداشت.

میانگین دریافت غذایی افراد بر اساس میانه دریافت ویتامین C رژیم غذایی در جدول شماره ۲ آمده است. در گروه با میانه دریافت بالاتر ویتامین C، میانگین دریافت نیترات و نیتريت بالاتر بود. همچنین دریافت انرژی کل، کربوهیدرات، پروتئین و چربی در این گروه، بالاتر بود.

در مورد ارتباط نیترات و نیتريت رژیم غذایی و سطح سرمی آنها در مدل خام رابطه معنی داری بر اساس میانه دریافت ویتامین C یافت نشد و این رابطه بعد از تعدیل کردن سن، جنس، نمایه توده بدنی، کالری دریافتی معنی دار یافت نشد. میزان p-value و ضرایب بتا رگرسیون دریافت نیترات و نیتريت و سطح ادرااری و سرمی آنها بر اساس میانه دریافت ویتامین C در جدول شماره ۳ آمده است. ارتباط آماری معنی دار بین نیترات دریافتی و سطح ادراای آنها در بالای میانه دریافت ویتامین C یافت شد ( $B = 0.004$ ,  $P = 0.004$ ). همچنین این رابطه بعد از تعدیل سن، جنس، نمایه توده بدنی، کالری دریافتی به صورت معنی دار باقی ماند ( $B = 0.03$ ,  $P\text{-value} = 0.001$ ). ارتباط نیترات دریافتی و ادرااری در مدل تعدیل شده برای نیترات و نیتريت دریافتی همچنان معنی دار یافت شد ( $B = 0.003$ ,  $P\text{-value} = 0.001$ ). اما افزایش دریافت ویتامین C بالاتر از میانه، اثری در میان کنش نیتريت دریافتی و سطح سرمی ،  $P = 0.98$ ,  $B = -0.002$  و ادرااری  $P = 0.53$ ,  $B = 0.056$  value ندارد.

گرم بود. نیترات و نیتريت بر پایه گیاهی و حیوانی جداگانه محاسبه شد.

اعتبارسنجی تخمین نیترات و نیتريت با FFQ بعد از تعدیل واریانس درون و بین فردی و بقیه مخدوش گر ها مانند سن، جنس، نمایه توده بدنی همبستگی معنی دار بین نیترات ( $r = 0.243$ ,  $95\% \text{ CI} = 0.016, 0.408$ ) و نیتريت ( $r = 0.57$ ,  $95\% \text{ CI} = -0.019, 0.208$ ) دریافتی و ادرااری یافت شد.

روش های آماری دادهها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-20 تجزیه و تحلیل شدند. برای ارزیابی ویژگیهای افراد شرکت کننده در دو گروه بالاتر و پایین تر از میانه مصرف ویتامین C از آزمون تی تست برای متغیرهای کمی و از آزمون مجذور خی برای متغیرهای کیفی استفاده شد. ضریب بتا رگرسیون و میزان P-value برای دریافت نیترات و نیتريت و سطح ادرااری و سرمی با استفاده از آزمون رگرسیون خطی در دو گروه بالاتر و پایین تر از میانه دریافت ویتامین C با تعدیل متغیرهای مخدوشگر سن (سال)، جنس (مرد/زن)، نمایه توده بدنی (کیلوگرم/مجدور قد)، انرژی دریافتی (کیلوکالری در روز) محاسبه شد. تعدیل اضافی برای کل نیترات و نیتريت دریافتی با استفاده از رگرسیون خطی صورت گرفت.

#### یافته ها

میانگین سن ۴۱/۳ سال و نمایه توده بدنی ۲۱/۰۷ کیلوگرم بر متر مربع بود. میانگین دریافت نیترات و نیتريت در جمعیت مورد مطالعه به ترتیب ۵۵۷ و ۹ میلیگرم در روز بود. همچنین میانگین دریافت ویتامین C در افراد شرکت کننده ۱۷۰ میلیگرم در روز بود. ویژگی افراد شرکت کننده در مطالعه بر اساس میانه دریافت ویتامین C (۱۴۳/۷

جدول ۱: مشخصات افراد شرکت کننده بر اساس میانه ویتامین C رژیم غذایی

P-value	ویتامین C	متغیرها
	۱۴۳/۷ <	>
	۱۴۲ نفر	۱۴۳/۷
		۱۴۱ نفر
۰/۲۱۹	۴۲/۶ ± ۱۲/۱	۴۰/۸ ±
		سن (سال)
۰/۳۷۲	۲۷/۱ ± ۴/۶	۱۲/۹
		نمایه توده
۰/۴۷۲	۳۸/۴	۲۷/۱ ± ۴/۵
		بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)
۰/۳۵۳	۹۱/۱ ± ۱۱/۸	۳۵/۲
		مرد (%)
۰/۴۹۷	۹۴/۶ ± ۱۲/۳	۹۰/۴ ±
		دور کمر (سانتی متر)
۰/۶۵۰	۱۲۹/۵ ± ۷۶.۹۶	۱۱/۴
		کراتینین سرم (میلیگرم بر دسی لیتر)
۰/۷۳۰	۴۸/۲ ± ۱۰	۹۱/۴ ±
		تری گلیسیرید
۰/۸۴۶	۱۱۰ ± ۲۸/۳	۱۱/۱
		سرم (میلیگرم بر دسی لیتر)
۰/۰۳۷	۱۶/۲ ± ۷/۲	۱۲۹/۸ ±
		سرم (میلیگرم بر دسی لیتر)
۰/۶۱۷	۱۳۰/۴	۸۱/۰۲
		سرم (میلیگرم بر دسی لیتر)
۰/۴۳۶	۴۸/۱ ± ۲۶/۸	۴۹/۷ ±
	۱۰۴۴/۳۲	۱۰/۷
		سرم HDL (میلیگرم بر دسی لیتر)
		۱۱۰/۵ ±
		سرم LDL (میلیگرم بر دسی لیتر)
		۲۹/۸
		۱۵/۱ ± ۵/۲
		۱۱۶/۶
		نیتریت
		۴۵/۳ ±
		سرم (میکروگرم در لیتر)
		۲۵/۳
		نیتریت
		۹۸۴/۷
		ادراری (میکروگرم در لیتر)
		نیترات
		سرم (میکروگرم در لیتر)
		نیترات
		ادراری (میکروگرم در لیتر)

داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار هستند به جز داده هایی که به صورت درصد بیان شدند.

جدول ۲: میانگین دریافت اجزای رژیم غذایی در افراد شرکت کننده بر اساس میانه ویتامین C رژیم غذایی

P-value	ویتامین C		
	>۱۴۳/۷ (نفر ۱۴۲)	<۱۴۳/۷ (نفر ۱۴۱)	
<۰/۰۰۵			کربوهیدرات
<۰/۰۰۵			پروتئین
<۰/۰۰۵	۴۱۹	۲۸۵	چربی
<۰/۰۰۵	۱۰۲	۷۰/۶ ± ۲۴/۵	فیبر دریافتی
<۰/۰۰۵	۹۲/۱ ± ۴۶/۷	۶۰/۵ ± ۲۴/۳	دریافت
<۰/۰۰۵	۵۴/۲ ± ۲۱/۲	۳۳/۳ ± ۱۲/۹	انرژی کل
<۰/۰۰۵	۲۸۰۶	۱۹۱۳	دریافت
<۰/۰۰۵	۶۹۶	۴۱۹	نیتрат
<۰/۰۰۵	۶۷۳	۴۰۵	گیاهی
۰/۳۳۹	۱۹/۷	۱۳/۹ ± ۹/۷	حیوانی
۰/۰۰۲	۱۱ ± ۴	۷ ± ۲/۶	دریافت
<۰/۰۰۵	۷/۳ ± ۲/۵	۴/۴ ± ۱/۵	نیتريت
<۰/۰۰۵	۳/۷ ± ۲/۴	۲/۶ ± ۱/۸	گیاهی
۰/۰۱۰			حیوانی

داده ها به صورت میانگین و انحراف معیار هستند

جدول ۳: رابطه دریافت غذایی نیترات و نیتريت و سطح ادراری و سرمی آنها

P-value	ویتامین C دریافتی		
	>۱۴۳/۷	<۱۴۳/۷	
۰/۰۰۴ (۰/۹۷)		۰/۰۶۸ (۰/۴۵)	نیترات مدل خام
۰/۰۳۰ (۰/۷۶)		۰/۰۷۵ (۰/۴۳)	سرمی مدل ۱
۰/۰۰۳ (۰/۹۸)		۰/۰۲۱ (۰/۸۳)	مدل ۲
۰/۲۵۴ (۰/۰۰۴)		۰/۱۹۴ (۰/۰۲)	مدل خام
۰/۳۱۳ (۰/۰۰۱)		۰/۱۹۲ (۰/۰۴)	مدل ۱
۰/۳۰۸ (۰/۰۰۱)		۰/۲۳۱ (۰/۰۱)	نیترات مدل ۲
۰/۰۰۲ (۰/۹۸)		۰/۰۴۰ (۰/۶۶)	نیتريت مدل خام
۰/۰۳۱ (۰/۷۴)		۰/۰۴۲ (۰/۶۴)	سرمی مدل ۱
۰/۰۲۷ (۰/۷۴۲)		۰/۰۲۶ (۰/۷۰۳)	مدل ۲
۰/۰۵۶ (۰/۵۳)		۰/۲۲۸ (۰/۰۱)	مدل خام
۰/۰۵ (۰/۵۳)		۰/۲۱۲ (۰/۰۱)	نیتريت مدل ۱
۱/۰۰ (۰/۳۰)		۰/۳۷۸ (۰/۰۰۱)	ادراری مدل ۲

داده ها به صورت ضرایب بتا رگرسیون و P value هستند.

مدل ۱: رگرسیون خطی با تعدیل سن، جنس، نمایه توده بدنی، کالری دریافتی

مدل ۲: تعدیل اضافی برای نیترات و نیتريت دریافتی کل

## بحث

نتایج نشان داد افزایش دریافت نیتрат و نیتريت، با افزایش دفع ادراری آنها در ارتباط است. افراد با دریافت بالاتر ویتامین C در مقایسه با دریافت پایین تر ویتامین C، دفع ادراری نیترات بالاتری داشتند. اما اثر ویتامین C در برهمکنش نیتريت دریافتی و سطح ادراری آن معنی دار یافت نشد. همچنین سطح نیترات و نیتريت سرمی با افزایش ویتامین C دریافتی تفاوت معنی داری نداشت. در این مطالعه نقش ویتامین C در برهمکنش نیتريت دریافتی و سطح ادراری آن معنی دار یافت نشد.

مطالعات گذشته حاکی از توجه محققین به نقش محافظتی ویتامین C در برهمکنش نیترات و نیتريت بود (۱۱،۱۳،۲۹). مشاهده شد افرادی که رژیم غذایی با محتوی نیترات و نیتريت بالاتر داشتند، دفع ادراری نیترات و نیتريت بالاتری هم داشتند (۱۱،۱۲،۲۱). در این مطالعات با افزایش دریافت ویتامین C سطح ادراری نیترات و نیتريت کاهش یافت (۱۱،۱۳). همچنین در مطالعه ای توسط وگنر و همکاران نشان داده شد که ویتامین C از فرآیند نیتروز شدن در بدن جلوگیری کرد و مقدار نیتروزوپرویلین-به عنوان یک متابولیت فرآیند نیتروزه شدن - را در ادرار کاهش داد (۲۹). در مطالعه ای دیگر مشاهده شد نیترات موجود در غذا بعد از ورود به گردش خون، نیترات پلاسما را افزایش می دهد و بیشترین قسمت آن از طریق ادرار دفع می شود (۱۱). باکتری های موجود در دهان نیترات را به نیتريت احیا کرده و نیتريت در محیط اسیدی معده به اکسید نیتريك احیا می شود (۳۰). فعالیت این مسیر توسط آنتی اکسیدان هایی مانند ویتامین C افزایش می یابد (۳۱،۳۲). در بررسی حاضر مشخص شد ویتامین C تنها در برهمکنش نیترات دریافتی و سطح ادراری آن ارتباط معنی دار داشت و در برهمکنش نیتريت دریافتی و سطح ادراری و سرمی اثری نداشت.

اگرچه در مطالعه ای برای بررسی رابطه دریافت خوراکی ویتامین C بر نیترات، هیچ رابطه معنی داری بین مکمل یاری ویتامین C و اثر آن در برهمکنش نیترات دریافتی و سطح

ادراری و سرمی نیترات و نیتريت مشاهده نشد (۳۳). مطالعه ای توسط بدنر و همکاران نشان داد ویتامین C اثر معنی داری در دفع نیترات و نیتريت ادراری ندارد. اما با افزایش ویتامین C دریافتی، دفع نیترات و نیتريت ادراری کاهش می یابد. در این مطالعه دیده شد ویتامین C میزان تبدیل نیترات به نیتريت را کاهش می دهد اما مقدار کلی نیترات و نیتريت در ادرار را کاهش نمی دهد (۱۱). همچنین در مطالعه دیگری، رابطه معنی داری بین مصرف ویتامین C با دفع متابولیت های ادراری نیترات (نیتروزوپرویلین و n-نیتروزو دی متیل آمین) یافت نشد. از جمله دلایل عدم یافتن رابطه معنی دار در این مطالعات می توان به این مورد اشاره کرد که بیشترین قسمت فرآیند نیتروزه شدن در بافت هایی به جز دستگاه گوارش رخ میدهد که از دسترس ویتامین C دریافتی خارج است و به همین دلیل ویتامین C در کاهش متابولیت های فرآیند نیتروز موثر دیده نشد (۳۴). همچنین دلیل دیگر این بود که نیتروزوپرویلین در بعضی رژیم های غذایی وجود دارد و تنها از متابولیزه شدن نیترات در بدن بوجود نمی آید؛ افزایش آن در ادرار فقط به میزان نیترات دریافتی مرتبط نمی باشد. در نتیجه نمی توان اثر ویتامین C را در برهمکنش نیترات دریافتی و سطح ادراری آن از طریق نیتروزوپرویلین به طور دقیق اندازه گیری کرد (۳۴). همچنین در مطالعه ای توسط گرین و همکاران مشاهده شد حدوداً ۶۰٪ از نیترات ادراری از نیترات دریافتی است و مابقی آن از طریق سنتز درون زا نیترات است و در این مطالعه مشخص نیست که چه مقدار از نیترات ادراری از منابع دریافتی آن و چه مقدار از سنتز داخلی آن است. به همین دلیل اثر ویتامین C دریافتی بر میان کنش نیترات دریافتی و سطح ادراری آن به طور دقیق مشخص نیست (۳۵). در مطالعه حاضر اثر ویتامین C در برهمکنش بین نیتريت دریافتی و سطح ادراری و سرمی آن معنی دار یافت نشد. همچنین این اثر در برهمکنش نیترات دریافتی و سطح سرمی آن مشاهده نشد.

بر اساس یافته های مطالعات گذشته مشخص شد با کاهش نسبت ویتامین C به نیترات و نیتريت، بروز سرطان معده،

کند، با توجه به محتوای متفاوت نیترات و نیتريت غذاها به خصوص سبزیجات و تفاوت در الگوی رژیم و عادات غذایی در جمعیت های مختلف، ممکن است اطلاعات ما قابل تعمیم به جمعیت های دیگر نباشد و عدم اندازه گیری نیترات و نیتريت آب آشامیدنی از محدودیت های مطالعه حاضر است.

نتایج این مطالعه نشان داد که افزایش دریافت ویتامین C دریافتی به طور معنی داری منجر به افزایش دفع ادراری نیترات می شود. و ویتامین C در میان کنش نیترات دریافتی و دفع ادراری آن موثر است. بر اساس نتایج این مطالعه، به نظر می رسد رژیم غذایی غنی از ویتامین C موثر در افزایش سلامتی است.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مصوب پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی بدین وسیله از کارشناسان مجرب گروه تغذیه پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی برای انجام مصاحبه و ورود داده ها و از مدیریت واحد بررسی قند و چربی های خون صمیمانه سپاسگزاری می نمایم.

مری، تیروئید و دیابت نوع ۲ افزایش یافت (۱۲،۱۳،۳۶،۳۷). در مطالعه ای توسط موات و همکاران مشخص شد که کاهش نسبت ویتامین C به نیترات منجر به افزایش خطر بروز سرطان معده شد (۳۶). همینطور اخیرا نشان داده شده است که در افراد با دریافت نیتريت بالاتر و دریافت کمتر ویتامین C خطر بروز دیابت نوع دو افزایش یافت (۱۲). مطالعه ای توسط وارد و همکاران نشان داد افزایش مصرف نیترات دریافتی با افزایش بروز سرطان تیروئید مرتبط می باشد و ممکن است نیترات در اتیلوژی سرطان تیروئید موثر باشد. دیده شد مصرف ویتامین C می تواند در این فرآیند موثر باشد (۳۷).

نقش ویتامین C در این برهمکنش برای پیشگیری از این بیماری ها مهم به نظر می رسد و مکانیسم پیشنهادی برای اثر ویتامین C در برهمکنش نیترات و نیتريت دریافتی و سطح ادراری آنها بدین صورت است که ویتامین C به عنوان یک آنتی اکسیدان در اکسیداسیون و احیا موثر است (۱۱) و در شرایط استرس اکسیداتیو نیتريت می تواند به رادیکال نیتروژن دی اکساید یا دی نیتروژن تری اکساید تبدیل شود و از طریق واکنش با آمین ها منجر به تولید نیتروزآمین می شود (۳۸). ویتامین C به عنوان یکی از مهمترین مهار کننده های ساخت نیتروزآمین به حساب می آید (۱۲). ویتامین C از طریق جایگزینی با پیش ساز آمین از این فرآیند جلوگیری می کند (۱۸،۳۹).

نقاط قوت مطالعه حاضر شامل مطالعه بر پایه جمعیت، استفاده از پرسشنامه بسامد خوراک معتبر برای ارزیابی دریافت خوراک افراد شرکت کننده، تخمین دریافت نیترات و نیتريت بر اساس آیتم های غذایی پرسشنامه بسامد خوراک جمع آوری شده از جمعیت، آنالیز دریافت نیترات و نیتريت به صورت جداگانه بر پایه حیوانی و گیاهی بود. با این وجود مطالعه ما دارای تعدادی محدودیت مشخص بود. در نظرنگرفتن فرآیند پختن و بقیه فرآیندها برای محصولات حیوانی که آنالیز جداگانه بر اساس نیترات و نیتريت حیوانی و گیاهی تا حدی این مشکل را برطرف می

## منابع

1. Raat NJH, Noguchi AC, Liu VB, Raghavachari N, Xu X, Shiva S, et al. NIH Public Access. *Free Radic Biol Med*. 2010;47(5):510–7.
2. Zhao J, Wang J, Yang Y, Lu Y. The determination of nitrate and nitrite in human urine and blood by high-performance liquid chromatography and cloud-point extraction. *J Chromatogr Sci*. 2015;53(7):1169–77.
3. Zhao J, Wang J, Yang Y, Lu Y. The determination of nitrate and nitrite in human urine and blood by high-performance liquid chromatography and cloud-point extraction. *J Chromatogr Sci*. 2015;53(7):1169–77.
4. Rosselli M, Keller PJ, Dubey RK. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction. *Hum Reprod Update*. 1998;4(1):3–24.
5. Garthwaite J, Charles SL, Chess-Williams R. Endothelium-derived relaxing factor release on activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature*. 1988 Nov 24;336(6197):385–8. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/336385a0>
6. Ghasemi A, Jeddi S. Anti-obesity and anti-diabetic effects of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide* [Internet]. 2017 Nov 1 [cited 2018 Oct 20];70:9–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28804022>
7. Deonikar P, Kavdia M. A computational model for nitric oxide, nitrite and nitrate biotransport in the microcirculation: Effect of reduced nitric oxide consumption by red blood cells and blood velocity. *Microvasc Res*. 2010;80(3):464–76.
8. Tsuchiya M, Asada A, Kasahara E, Sato EF. Smoking a Single Cigarette Rapidly Reduces Combined Concentrations of Nitrate and Nitrite and Concentrations of Antioxidants in Plasma. 2002;1–4.
9. Bassenge E, Fink N, Skatchkov M, Fink B. Dietary Supplement with Vitamin C Prevents Nitrate Tolerance. 1998;102(1):67–71.
10. Bahadoran Z, Mirmiran P, Ghasemi A, Carlström M. Association between Dietary Intakes of Nitrate and Nitrite and the Risk of Hypertension and Chronic Kidney Disease: Tehran Lipid and Glucose Study. :1–13.
11. Bednar C, Kies C. Nitrate and vitamin C from fruits and vegetables: impact of intake variations on nitrate and nitrite excretions of humans. *Plant Foods Hum Nutr* [Internet]. 1994 Jan [cited 2018 Apr 16];45(1):71–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8146105>
12. Bahadoran Z, Mirmiran P, Ghasemi A, Carlström M, Azizi F, Hadaegh F. Vitamin C intake modify the impact of dietary nitrite on the incidence of type 2 diabetes: A 6-year follow-up in Tehran Lipid and Glucose Study. *Nitric Oxide* [Internet]. 2017 Jan 30 [cited 2018 Apr 16];62:24–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27916563>
13. Lu S, Ohshima H, Fu H, Tian Y, Li F, Blettner M. Urinary Excretion of N-Nitrosamino Acids and Nitrate by Inhabitants of High- and Low-Risk Areas for Esophageal Cancer in Northern China: Endogenous Formation of Nitrosoproline and Its Inhibition by Vitamin C. 1986;(March):1485–91.
14. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud*. 2010;7(1):15–25.
15. Pharmacol A, Gtn W, Another O, Physiologie A. Tolerance to nitrates and simultaneous upregulation of platelet activity prevented by enhancing antioxidant state. 1996;363–7.
16. Hinz B, Schro H. Vitamin C attenuates nitrate tolerance independently of its antioxidant effect. 1998;428:98–100.

17. Watanabe H, Kakihana M, Ohtsuka S, Sugishita Y. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of the preventive effect of supplemental oral vitamin C on attenuation of development of nitrate tolerance. *J Am Coll Cardiol* [Internet]. 1998;31(6):1323–9. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097\(98\)00085-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0735-1097(98)00085-0)
18. Bartsch H, Ohshima H, Pignatelli B. Inhibitors of endogenous nitrosation mechanisms and implications in human cancer prevention. *Mutat Res Mol Mech Mutagen* [Internet]. 1988 Dec 1 [cited 2018 Apr 16];202(2):307–24. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0027510788901947>
19. Hinz B, Schröder H. Vitamin C attenuates nitrate tolerance independently of its antioxidant effect. *FEBS Lett*. 1998;428(1–2):97–9.
20. Watanabe H, Kakihana M, Ohtsuka S, Sugishita Y. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of the preventive effect of supplemental oral vitamin C on attenuation of development of nitrate tolerance. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(6):1323–9.
21. Florin TH, Neale G, Cummings JH. The effect of dietary nitrate on nitrate and nitrite excretion in man. *Br J Nutr*. 1990;64(2):387–97.
22. Bartsch H, Ohshima H, Shuker DE, Pignatelli B, Calmels S. Exposure of humans to endogenous N-nitroso compounds: implications in cancer etiology. *Mutat Res*. 1990;238(3):255–67.
23. Azizi F, Ghanbarian A, Momenan AA, Hadaegh F, Mirmiran P, Hedayati M, et al. Prevention of non-communicable disease in a population in nutrition transition: Tehran Lipid and Glucose Study phase II. *Trials* [Internet]. 2009 Dec 25 [cited 2018 Aug 24];10(1):5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19166627>
24. Miranda KM, Espey MG, Wink DA. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. *Nitric Oxide* [Internet]. 2001 Feb 1 [cited 2018 May 15];5(1):62–71. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1089860300903197>
25. Hosseini-Esfahani F, Jessri M, Mirmiran P, Bastan S, Azizi F. Adherence to dietary recommendations and risk of metabolic syndrome: Tehran Lipid and Glucose Study. *Metabolism* [Internet]. 2010 Dec [cited 2018 Aug 24];59(12):1833–42. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20667561>
26. Mirmiran P, Hosseini Esfahani F, Mehrabi Y, Hedayati M, Azizi F. Reliability and relative validity of an FFQ for nutrients in the Tehran Lipid and Glucose Study. *Public Health Nutr* [Internet]. 2010 May 7 [cited 2018 Aug 25];13(05):654. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19807937>
27. Muntoni S, Cocco P, Muntoni S, Aru G. Nitrate in Community Water Supplies and Risk of Childhood Type 1 Diabetes in Sardinia, Italy. *Eur J Epidemiol*. 2006 Mar ;21(3):245–7.
28. Bahadoran Z, Mirmiran P, Jeddi S, Azizi F, Ghasemi A, Hadaegh F. Nitrate and nitrite content of vegetables, fruits, grains, legumes, dairy products, meats and processed meats. *J Food Compos Anal* . 2016 Aug 1;51:93–105.
29. Wagner DA, Shuker DEG, Bilmazes C, Obiedzinski M, Baker I, Young VR, et al. Effect of Vitamins C and E on Endogenous Synthesis of N-Nitrosamino Acids in Humans: Precursor-Product Studies with [15N]Nitrate. *Cancer Res*. 1985;45(December):6519–22.
30. McNally B, Griffin JL, Roberts LD. Dietary inorganic nitrate: From villain to hero in metabolic disease? *Mol Nutr Food Res*. 2016;60(1):67–78.
31. Lundberg JON, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Intra-gastric nitric oxide production in humans: Measurements in expelled air. *Gut*. 1994;35(11):1543–6.
32. Gago B, Lundberg JO, Barbosa RM, Laranjinha J. Red wine-dependent reduction of nitrite to nitric oxide in the stomach. *Free Radic Biol Med*. 2007;43(9):1233–42.

33. Wagner DA, Schultz DS, Deen WM, Wagner DA, Schultz DS, Deen WM, et al. Metabolic Fate of an Oral Dose of 15 N -labeled Nitrate in Humans: Effect of Diet Supplementation with Ascorbic Acid Metabolic Fate of an Oral Dose of 15A / -labeled Nitrate in Humans : Effect of Diet Supplementation with Ascorbic Acid1. 1983;(April):1921–5.
34. Garland WA, Kuenzig W, Rubio F, Kornychuk H, Conney AH. Urinary Excretion of Nitrosodimethylamine and Nitrosoproline in Humans: Interindividual and Intraindividual Differences and the Effect of Administered Ascorbic Acid and  $\alpha$ -Tocopherol. *Cancer Res.* 1986;46(10):5392–400.
35. Green LC, Ruiz de Luzuriaga K, Wagner DA, Rand W, Istfan N, Young VR, et al. Nitrate biosynthesis in man. *Proc Natl Acad Sci U S A* . 1981;78(12):7764–8.
36. Mowat C, Carswell A, Wirz A, McColl KEL. Omeprazole and dietary nitrate independently affect levels of vitamin C and nitrite in gastric juice. *Gastroenterology.* 1999;116(4):813–22.
37. Ward MH, Kilfoy BA, Weyer PJ, Anderson KE, Folsom AR, Cerhan JR. Nitrate Intake and the Risk of Thyroid Cancer and Thyroid Disease. *Epidemiology* . 2010 May [cited 2018 Oct 24];21(3):389–95.
38. Hill BG, Dranka BP, Bailey SM, Lancaster JR, Darley-Usmar VM. What part of NO don't you understand? Some answers to the cardinal questions in nitric oxide biology. *J Biol Chem.* 2010;285(26):19699–704.
39. Tannenbaum SR. Preventive action of vitamin C on nitrosamine formation. *Int J Vitam Nutr Res Suppl [Internet]*. 1989 ;30:109–13.