مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال هشتم، شماره 2، تابستان 1392، صفحات 8-1

تأثیر مکمل‌یاری سینبیوتیک بر آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی در افراد مبتلا به بیماری کبد چرب غیرالکلی: کارآزمایی بالینی تصادفی شده دو سوکور

طناز اسلام پرست[1]، حسین پوستچی[2]، فرهاد زمانی[2]، مریم شرف خواه[3]، رضا ملک زاده[4]، آزیتا حکمت دوست[5]

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
2- پژوهشیار مرکز تحقیقات بیماری های دستگاه گوارش و کبد، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران.
3- کارشناس ارشد آمار، مرکز تحقیقات بیماری های دستگاه گوارش و کبد، بیمارستان دکتر شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
4- استاد مرکز تحقیقات بیماری های دستگاه گوارش و کبد، بیمارستان شریعتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
5- نویسنده مسئول : دانشیار گروه تغذیه بالینی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
پست الکترونیکی: a_hekmat2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: 92/2/20 تاریخ پذیرش: 92/5/21

چکیده

سابقه و هدف: شواهدی مبنی بر اثر سینبیوتیک‌ها بر بیماری کبد چرب غیرالکلی NAFLD وجود دارد. هم‌چنین، ارتباط بین سینبیوتیک‌ها با کبد و ایجاد پاسخ‌های التهابی در دست بررسی است. هدف این مطالعه، بررسی تأثیر مکمل‌یاری سینبیوتیک بر آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی در افراد مبتلا به NAFLD بود.

مواد و روش‌ها: در این کارآزمایی بالینیِ تصادفیِ دو سوکور 52 فرد مبتلا به NAFLD به دو گروه تقسیم شدند و به مدت 28 هفته تحت مداخله با کپسول سینبیوتیک (روزانه 2 کپسول، هر کپسول حاوی 7 سویه‌ی باکتریایی به همراه فروکتوالیگوساکارید) یا دارونما قرار گرفتند. تمامی افرادِ دو گروه برنامه‌ی غذایی و توصیه‌های فعالیت بدنی طی مطالعه دریافت کردند. آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی سرم و میزان فیبروز کبدی در ابتدا و انتهای پژوهش و شاخص‌های تن‌سنجی و میزان فعالیت بدنی افراد در ابتدا و هفته‌ی چهاردهم و انتهای پژوهش تعیین شدند. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار $STATA_{11}$ انجام گرفت.

یافته‌ها: تفاوت معنی‌داری در متغیرهای زمینه‌ای در ابتدای مطالعه بین دو گروه مشاهده نشد. پس از 28 هفته، آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی در گروه مکمل در مقایسه با گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت ($P<0/001$). در گروه مکمل میزان فیبروز 2/99 kPa نسبت به ابتدای مداخله کاهش یافت ($P<0/001$).

نتیجه گیری: مکمل‌یاری با سینبیوتیک باعث بهبود آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی در افراد مبتلا به NAFLD شد.

واژگان کلیدی: بیماری کبد چرب غیرالکلی، سینبیوتیک، شاخص‌های التهابی

• مقدمه

بیماری کبد چرب غیرالکلی NAFLD (Non-alcoholic fatty liver disease) رایج‌ترین بیماری مزمن کبدی در کودکان و بزرگسالان به شمار می‌آید (1). NAFLD شامل طیف گسترده‌ای از بیماری‌های مرتبط با تجمع بیش از حد چربی در کبد افرادی است که سوء مصرف الکل ندارند. شدت آن از استئاتوز ساده تا استئاتوهپاتیت NASH (Non-alcoholic steatohepatitis) فرق می‌کند و در نهایت می‌تواند به سیروز و سرطان سلول های کبدی منجر شود (2). 14 تا 30 درصد افراد در جوامع غربی به NAFLD مبتلا هستند (3). چاقی ارتباط محکمی با NAFLD دارد و پیشگویی‌کننده‌ی مراحل پیشرفته‌ی بیماری است. با شیوع روزافزون چاقی در ایران و جهان انتظار می‌رود شیوع این بیماری نیز افزایش یابد (5، 4).

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

چندین مکانیسم اتیولوژیک در ایجاد NAFLD ارائه شده است که از این میان می‌توان به افزایش جریان اسیدهای چرب آزاد به سمت کبد، کاهش بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد و افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها اشاره کرد (6). امروزه، مطالعات جدید عوامل دیگری را در پاتوژنز این بیماری معرفی یا شناسایی کرده‌اند. اثر فلور باکتریایی روده محدود به دستگاه گوارش نیست و با درگیر کردن سیستم ایمنی میزبان اثر معنی‌داری بر خطوط دفاعی بدن می‌گذارد و با دادن پیام‌هایی باعث تشدید التهاب و فیبروز در بدن فرد می‌شود. در مطالعات اخیر، برای رشد بی‌رویه‌ی باکتری‌های روده SIBO (Small Intestinal Bacterial Overgrowth) در ایجاد بیماری کبد چرب غیرالکلی یک نقش احتمالی پیشنهاد کرده‌اند. با تولید اتانول باعث نشت محصولات باکتری‌های روده مانند لیپوپلی ساکاریدها LPS (Lipopolysaccharide) می‌شود که ناشی از افزایش نفوذپذیری روده است. اتانول و LPS هر دو هپاتوتوکسیک هستند و آزادسازی سیتوکین‌ها به ویژه عامل نکروزه‌کننده‌ی تومور- آلفا (TNF-α) را تحریک می‌کنند (7). بر پایه‌ی مطالعات گوناگون حیوانی و انسانی، پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها در سطوح چندگانه در تنظیم کاهش میانجی‌های التهابی اندوژن عمل می‌کنند. مهم‌ترین مسیرها عبارتند از: تنظیم سیستم ایمنی، تعدیل فلور روده، بهبود اتصالات محکم دیواره‌ی روده، کاهش نفوذپذیری عوامل بیماری‌زا به گردش خون بدن و فعالیت‌های ضد فیبروزی و ضد التهابی است (8).

در حال حاضر درمان دارویی قطعی برای NAFLD وجود ندارد. اثربخشی پروبیوتیک‌ها در چندین مدل تجربی NAFLD/NASH گزارش شده است. در مطالعه‌ای بر روی موش‌های ob/ob تحت رژیم با چربی بالا مشاهده شد که دستکاری فلور روده‌ای این مدل تجربی بر بیماری کبد چرب ناشی از چاقی اثر می‌گذارد. در واقع پروبیوتیک VSL# 3 باعث بهبود هیستولوژی کبد، کاهش مقدار چربی تام کبد و کاهش سطوح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT) می‌شود (9). در پژوهش دیگری، پروبیوتیک VSL# 3 توانست پروفایل لیپیدی را اصلاح و التهاب، آسیب اکسیداتیو و سطوح بافتی TNF-α را کاهش دهد (10).

تاکنون، مطالعات محدودی اثر پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها در درمان NAFLD در انسان را بررسی کرده‌اند. در پژوهشی، مصرف روزانه‌ی مکمل پروبیوتیک به مدت 3 ماه باعث کاهش سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی (ALT، آسپارتات آمینوترانسفراز AST و گاما گلوتامیل ترانس پپتیداز GGT) شد (11). اکثر این مطالعات تغییراتی را در سطوح آنزیم‌های کبدی نشان دادند، ولی نتایج حاصل از مکمل‌یاری سینبیوتیک (ترکیب پروبیوتیک و پربیوتیک) و پروبیوتیک‌ها به تنهایی بر شاخص‌های التهابی افراد در این مطالعات اندک و به صورت ترکیب با ویتامین‌ها بود (14-12).

از آنجا که سینبیوتیک ترکیبی از پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک است (15) سینبیوتیک اثربخش‌تر از پروبیوتیک و پربیوتیک باعث تعدیل فلور روده می‌شود (16). با توجه به اطلاعات موجود این فرضیه شکل گرفت که آیا افزایش باکتری‌های سینبیوتیک از طریق مکمل‌یاری می‌تواند با بهبود سطوح آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی به بهبود NAFLD منجر شود؟ تعداد اندک مطالعات انجام شده در این زمینه و توصیه‌ی پژوهش‌های پیشین به انجام کارآزمایی‌های بالینی تصادفیِ شاهددارِ دو سوکور روی افراد مبتلا به این بیماری، لزوم اجرای این مطالعه را توجیه می‌کند. هدف این پژوهش، بررسی تأثیر مکمل‌یاری سینبیوتیک (حاوی 7 سویه‌ی باکتریایی به همراه فروکتوالیگوساکارید) به مدت 28 هفته بر آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی در افراد مبتلا به NAFLD بود.

• مواد و روش‌ها

این پژوهش به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور انجام شد. افراد مورد مطالعه شامل مردان و زنان مراجعه‌کننده به *کلنیک هراز بیمارستان 17 شهریور آمل* بودند. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: تمایل به شرکت در مطالعه، بالا بودن سطوح سرمی آنزیم کبدی (ALT بیشتر از 1/5 برابر طبیعی) و بالاتر از یک بودن درجه‌ی استئاتوز در اولتراسونوگرافی بیماران، عدم سوء مصرف الکل (مصرف بیش از 10 گرم در روز در زنان و بیش از 20 گرم در روز در مردان BMI برابر یا بیشتر از $25\ kg/m^2$ و برابر یا کمتر از $40\ kg/m^2$، عدم ابتلا به سایر بیماری‌ها و اختلالات مزمن و حاد کبدی (هپاتیت B، C و ...)، سیروز، بیماری سلیاک، دیابت، فشار خون بالا، بیماری قلبی عروقی، بیماری ریوی، بیماری کلیوی، عدم بارداری یا شیردهی، عدم مصرف داروی متفورمین، ویتامین E و اسید اورسودی اکسی کولیک (UDCA)، عدم مصرف داروهای

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

هپاتوتوکسیک مثل فنی‌توئین، آموکسی‌فن و لیتیوم، عدم مصرف داروهای آنتی‌بیوتیک بیش از یک هفته قبل از ورود به مطالعه، عدم سابقه‌ی عمل جراحی کاهش وزن در یک سال اخیر، عدم کاهش وزن در 3 ماه اخیر. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: مصرف داروهای آنتی‌بیوتیک بیش از یک هفته در طول دوره مطالعه و تمایل شخصی به خروج از مطالعه و عدم مصرف بیش از 10% کپسول‌های داده شده در هر پیگیری.

با توجه به مطالعه‌ی *Malaguarnera* و همکاران (14) با در نظر گرفتن خطای نوع اول (α=0/05) و خطای نوع دوم (β=20%) تعداد نمونه 21 نفر در هر گروه در نظر گرفته شد و با در نظر گرفتن ریزش نمونه (معادل 20 %) حجم نمونه 26 نفر در هر گروه تخمین زده شد. در این مطالعه از زنان و مردان سنین 18 سال و بالاتر مراجعه‌کننده به *کلینیک هراز بیمارستان 17 شهریور آمل* که قبلاً طی یک برنامه غربالگری بیماری‌های کبدی تحت سونوگرافی کبدی و بررسی سایر متغیرهای بیوشیمیایی و آنتروپومتری قرار گرفته بودند و دارای معیارهای ورود به مطالعه بودند، دعوت شد تا در این پژوهش شرکت کنند. در یک جلسه‌ی توجیهی فواید انجام این پژوهش، هدف از انجام مطالعه، نحوه‌ی انجام مداخله و طول مدت مطالعه شرح داده شد. سپس از شرکت‌کنندگان در مطالعه رضایت‌نامه‌ی کتبی گرفته شد. از میان افراد دعوت شده 2 نفر (یک مرد و یک زن) به دلیل عدم تمایل به همکاری وارد مطالعه نشدند و طی مطالعه 6 نفر (3 مرد و 3 زن) حذف شدند و نتایج نهایی مطالعه با تعداد 13 مرد و 11 زن در گروه مکمل و 10 مرد و 12 زن در گروه دارونما گزارش شد. از میان افرادی که از مطالعه حذف شدند، دو زن از گروه مکمل و یک مرد از گروه دارونما به دلیل مسافرت از ادامه‌ی مطالعه منصرف شدند و یک زن از گروه مکمل و دو مرد از گروه دارونما به علت عدم تمایل به ادامه‌ی فعالیت کنار گذاشته شدند.

در ابتدای مطالعه، پرسشنامه‌ی اطلاعات عمومی برای افراد تکمیل شد و بیماران بر اساس جنس و سن طبقه‌بندی شدند. هر فرد بر مبنای طبقه‌بندی صورت گرفته با استفاده از روش تقسیم تصادفی بلوکی طبقه‌بندی شده (Stratified Blocked Randomization) در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل سینبیوتیک یا دریافت‌کننده‌ی دارونما قرار گرفت. بیماران در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل سینبیوتیک (شرکت *Protexin*، انگلستان) روزانه 2 کپسول حاوی ترکیبی از پروبیوتیک‌ها مشتمل بر 7 سویه 2×10^8 CFU (لاکتوباسیلوس کازئی، لاکتوباسیلوس رامنوسوس، استرپتوکوکوس ترموفیلوس، بیفیدوباکتریوم بروی، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، بیفیدوباکتریوم لانگوم و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس) ، 197 میلی‌گرم فروکتوالیگوساکارید (FOS) و محیط کشت پروبیوتیکی دریافت کردند. در حالی که به بیماران گروه شاهد روزانه 2 کپسول دارونما (حاوی 250 میلی گرم مالتودکسترین) داده شد که از نظر ظاهری، مشابه کپسول سینبیوتیک بود.

از افراد شرکت‌کننده در ابتدا و انتهای مطالعه پس از 12 تا 14 ساعت ناشتایی 10CC خون گرفته شد. تمامی افراد توسط هپاتولوژیست، ناآگاه نسبت به گروه افراد، تحت فایبرواسکن قرار گرفتند. از آنجا که درمان اصلی NAFLD کاهش وزن و افزایش فعالیت بدنی است، به تمامی افراد دو گروه توصیه‌های غذایی و فعالیت بدنی ارائه شد. سپس بیماران دو گروه تحت رژیمی قرار گرفتند که انرژی آن برای وزن ایده‌آل هر فرد تعدیل شده مناسب بود و 500 تا 1000 کیلوکالری کمتر از انرژی مورد نیاز آن‌ها بر حسب وزن ایده‌آل تعدیل شده بود. این رژیم حاوی 30% چربی، 18-15% پروتئین و 55-52% کربوهیدرات بود. طول دوره مداخله 28 هفته بود. در ابتدای مطالعه و پایان هفته‌های چهاردهم و بیست و هشتم برای افراد 3 روز یادآمد 24 ساعته خوراک (2 روز عادی و یک روز تعطیل) و شدت فعالیت بدنی بر مبنای معادل متابولیکی MET (Metabolic Equivalents) توسط پرسشنامه‌ی فعالیت بدنی تکمیل شد (17) و در ابتدای مطالعه و پایان هفته‌های هفتم، چهاردهم، بیست و یکم و بیست و هشتم شاخص‌های تن‌سنجی شامل قد (تنها در ابتدای مطالعه)، وزن، دور کمر و باسن با توجه به تعریف WHO اندازه‌گیری شد. BMI افراد با تقسیم وزن بر مجذور قد (kg/m^2) و نسبت دور کمر به باسن (WHR) با تقسیم دور کمر به دور باسن محاسبه شد. کپسول‌ها به صورت A و B از سوی شرکت کدگذاری شده بودند تا مجری پژوهش از محتوی کپسول‌ها (با توجه به دوسوکور بودن) بی اطلاع باشد. سرم و سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی (PBMC) نمونه‌های خون پس از سانتریفوژ کردن جدا شد. اندازه‌گیری غلظت فاکتور هسته‌ای κB (NF-κB) در PBMC به روش الایزا با استفاده از کیت شرکت *Cell Signaling* کشور آمریکا، غلظت سرمی TNF-α به وسیله کیت شرکت *KOMA BIOTECH Inc* کشور کره،

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

غلظت پروتئین واکنشی R- با حساسیت بالا (hs-CRP) توسط کیت شرکت *Diagnostics Biochem Canada Inc.* نیز به روش الایزا و غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی به روش کالریمتری توسط کیت‌های شرکت *پارس آزمون* اندازه‌گیری شد.

اطلاعات به دست آمده از طریق پرسشنامه‌ی یادآمد 24 ساعته خوراک با استفاده از نرم افزار تغذیه‌ای N4 (Nutritionist 4) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- اسمیرنوف ارزیابی شد. مقایسه‌ی بین متغیرهای مورد مطالعه در ابتدا و انتهای مطالعه در هر گروه با استفاده از آزمون تی زوجی و مقایسه‌ی بین متغیرهای مورد مطالعه‌ی دو گروه مکمل سینبیوتیک و دارونما با استفاده از آزمون t مستقل انجام شد. برای از بین بردن اثرات عوامل مخدوش‌کننده‌ای که در ابتدای پژوهش یا در طول پژوهش بین دو گروه اختلاف معنی‌داری داشتند، از آزمون ANCOVA استفاده شد. تجزیه و تحلیل متغیرها با استفاده از نرم‌افزار $STATA_{11}$ انجام شد. مقادیر P به صورت دوطرفه محاسبه شد و $P<0/05$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

اجرای این پژوهش از طرف *کمیته‌ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی* (شماره 046466) مورد تأیید قرار گرفته است. هم‌چنین، در *مرکز ثبت کارآزمایی‌های بالینی ایران* (به شماره IRCT201012084010N4) ثبت شده و از طریق سایت www.irct.ir قابل دسترسی است.

• یافته‌ها

بررسی نحوه‌ی توزیع متغیرها نشان داد که همه‌ی متغیرهای این مطالعه توزیع نرمال داشتند. تفاوت معنی‌داری بین متغیرهای سن، قد، وزن، دور کمر و باسن بین گروه‌ها در ابتدای مطالعه وجود نداشت (جدول 1).

میانگین و انحراف معیار BMI، WHR، میزان انرژی دریافتی و فعالیت بدنی در جدول 2 نمایش داده شده است. تفاوت معنی‌داری بین مقدار این متغیرها در ابتدا و پس از اتمام مداخله در داخل هر گروه دیده شد، ولی این تغییرات بین دو گروه مکمل و دارونما معنی‌دار نبود.

طبق داده‌های مطالعه که در جدول 3 مشاهده می‌شود، سطوح سرمی آنزیم‌های کبدی (ALT، AST و GGT) در پایان هفته‌ی بیست و هشتم کاهش معنی‌داری در هر دو گروه نسبت به ابتدای مطالعه نشان داد (جدول 3). گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل کاهش بیشتری در مقایسه با گروه دارونما داشت ($P<0/001$). افراد دو گروه کاهش معنی‌داری را در شاخص‌های التهابی، hs-CRP و TNF-α در پایان مطالعه نشان دادند ($P<0/01$). این کاهش در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل سینبیوتیک بسیار بیشتر از گروه شاهد بود ($P<0/005$). در پایان مداخله، میانگین غلظت تام p65 NF-κB در گروه مکمل نسبت به آغاز مطالعه کاهش معنی‌داری داشت ($P<0/01$). در حالی که گروه دارونما نسبت به ابتدای مطالعه تغییر معنی‌داری نشان نداد. این تغییرات بین دو گروه معنی‌دار بود ($P<0/001$). میزان فیبروز کبدی نیز پس از 28 هفته بین دو گروه کاهش معنی‌داری نشان داد ($P<0/001$). تمامی تغییرات مشاهده شده، پس از تعدیل داده‌ها برای BMI، WHR، انرژی دریافتی و MET معنی‌دار باقی ماند.

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف روزانه‌ی مکمل سینبیوتیک به همراه اصلاح شیوه‌ی زندگی طی 28 هفته باعث کاهش آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی می‌شود که در واقع در بهبود NAFLD نقش مؤثری را ایفا می‌کند. به علاوه، هیچ گونه عوارضی بر اثر مصرف مکمل یا دارونما طی مدت مداخله مشاهده نشد.

جدول 1. ویژگی‌های فردی و اندازه‌های تن‌سنجی دو گروه مکمل سینبیوتیک و دارونما پیش از مداخله

متغیر	مکمل سینبیوتیک (n =24)	دارونما (n =22)	P-value
سن (سال)	46/5 ± 8/6	45/0 ± 10/03	0/587
قد (سانتی‌متر)	163/08 ± 8/4	160/13 ± 11/6	0/326
وزن (کیلوگرم)	85/14 ± 9/9	81/25 ± 13/7	0/273
دور کمر (سانتی‌متر)	102/17 ± 7/7	102/55 ± 6/1	0/854
دور باسن (سانتی‌متر)	108/75 ± 5/7	106/73 ± 5/0	0/212

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده‌اند.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

جدول 2. عوامل مخدوش‌کننده‌ی متابولیکی دو گروه مکمل سینبیوتیک و دارونما پیش و پس از مداخله†

متغیر	مکمل سینبیوتیک (n =24)		دارونما (n =22)	
	پیش از مداخله	پس از مداخله	پیش از مداخله	پس از مداخله
وزن (kg)	85/14 ± 9/9	82/1 ± 10/0***	81/25 ± 13/7	78/34 ± 13/5***
BMI (kg/m^2)	32/03 ± 2/5	30/81 ± 2/4***	31/38 ± 2/4	30/35 ± 2/1***
نسبت دور کمر به دور باسن	0/94 ± 0/06	0/93 ± 0/6**	0/96 ± 0/06	0/93 ± 0/05***
انرژی دریافتی (kcal)	2359/87 ± 528/9	1948/9 ± 342/0***	2212/32 ± 396/0	1896/86 ± 284/9***
شدت فعالیت بدنی (MET.h/d)	31/3 ± 4/2	32/92 ± 4/2***	31/94 ± 4/6	33/59 ± 4/8***

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند.

† تغییرات بین دو گروه در ابتدا و انتهای مطالعه معنی‌دار نبود (P-value>0/05).

تغییرات درون هر گروه، * P-value = NS، ** P-value < 0/05 و *** P-value < 0/01، محاسبه شده توسط آزمون تی زوجی

جدول 3. آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان فیبروز کبدی دو گروه مکمل سینبیوتیک و دارونما پیش و پس از مداخله

متغیر	مکمل سینبیوتیک (n =24)		دارونما (n =22)		P-value (1)	P-value (2)
	پیش از مداخله	پس از مداخله	پیش از مداخله	پس از مداخله		
آنزیم‌های کبدی						
ALT (U/L)	69/03 ± 2/2	43/89 ± 3/8***	71/42 ± 9/9	64/02 ± 12/1***	<0/001	<0/001
AST (U/L)	66/12 ± 2/5	34/82 ± 2/7***	68/28 ± 10/2	60/27 ± 14/1***	<0/001	<0/001
GGT (U/L)	89/5 ± 1/6	74/39 ± 1/8***	88/9 ± 2/5	83/66 ± 3/3***	<0/001	<0/001
شاخص‌های التهابی						
hs-CRP (ng/mL)	4/25 ± 2/9	2/03 ± 1/8***	4/18 ± 2/8	3/15 ± 2/4***	0/017	<0/027
TNF-α (pg/mL)	10/96 ± 2/2	9/56 ± 1/9***	12/13 ± 4/1	11/56 ± 3/9***	<0/001	<0/001
NF-κB p65 (†OD)	0/075 ± 0/01	0/06 ± 0/01***	0/065 ± 0/01	0/067 ± 0/03*	<0/001	<0/001
درجه‌ی فیبروز (kPa)	9/42 ± 1/9	6/43 ± 1/6***	7/93 ± 2/2	7/15 ± 2/1**	<0/001	<0/001

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده اند.

تغییرات درون هر گروه، * P-value = NS، ** P-value < 0/05 و *** P-value < 0/01، محاسبه شده توسط Paired t-test

(1) P-value تغییرات بین دو گروه مکمل سینبیوتیک و دارونما محاسبه شده توسط آزمون t مستقل

(2) P-value تغییرات بین دو گروه مکمل سینبیوتیک و دارونما پس از تعدیل برای BMI، WHR، انرژی و MET محاسبه شده توسط ANCOVA

† Optical density : OD

• بحث

با توجه به شواهد موجود، این اولین مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی شاهددار دوسوکور است که اثر مکمل سینبیوتیک را همراه با مداخله شیوه‌ی زندگی (رژیم غذایی و توصیه‌های ورزشی) روی آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای التهابی و میزان فیبروز کبدی بیماران مبتلا به NAFLD مورد بررسی کرده است. یافته‌های کارآزمایی حاضر نشان می‌دهد که مکمل‌یاری با سینبیوتیک باعث افزایش اثر درمانی کاهش وزن و افزایش فعالیت بدنی در بیماران مبتلا به NAFLD می‌شود. با توجه به نتایج حاضر می‌توان این اثربخشی را نتیجه‌ی کاهش TNF-α و مهار فعالیت NF-κB دانست؛ هدف اثر IKKβ آنزیمی که فعالیتش توسط TNF-α تنظیم و باعث ایجاد و تشدید مقاومت به انسولین می‌شود.

اکثر مطالعات حیوانی که اثر پروبیوتیک‌ها را در NAFLD مورد بررسی قرار دادند، گزارش کرده‌اند که پروبیوتیک‌ها می‌توانند باعث اصلاح شاخص‌های مرتبط با NAFLD و شاخص‌های التهابی مانند فعالیت NF-κB و ترشح TNF-α شوند (19، 18) اگرچه هنوز نتایج مربوط به بیان ژن TNF-α در بافت کبدی بحث برانگیز است (20، 9). *Li* و همکاران اثر پروبیوتیک VSL#3 را در مدل‌های تجربی کبد چربِ ایجاد شده در اثر رژیم غنی از چربی بررسی و گزارش کردند که VSL#3 مشابه آنتی‌بادی ضد TNF-α باعث بهبود هیستولوژی کبدی، کاهش مقدار اسید چرب تام کبدی و سطوح سرمی ALT سرم شد. این تأثیرات با کاهش فعالیت NF-κBو Jun N-terminal kinase (JNK)، یک کیناز

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

استرسی که توسط TNF-α تنظیم می‌شود، در ارتباط بود. اگرچه آن‌ها کاهشی در بیان ژن TNF-α کبدی مشاهده نکردند، اما بیان داشتند که VSL#3 می‌تواند باعث مهار تولید TNF-α توسط برخی منابع خارج کبدی شود یا فعالیت TNF-α در سطوح پس از رونویسی در کبد را بلوکه کند (9). یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج مطالعه‌ی *Li* همسو است. در پژوهش دیگری *Ma* و همکاران دریافتند که VSL#3 در مدل‌های موشی استئاتوز ناشی از رژیم با چربی بالا، پیام‌دهی التهابی TNF-α و IKKβ کیناز را کاهش می‌دهد و به بهبود حساسیت پیام‌دهی انسولین منجر می‌شود (19). در حالی که *Velayudham* و همکاران هیچ گونه اثری بر التهاب و استئاتوز در مدل‌های موشی NASH پس از مکمل‌یاری با پروبیوتیک VSL#3 مشاهده نکردند (20). نتایج پژوهش حاضر با دیگر مطالعات انسانی همسواست. *Loguercio* و همکاران بهبود معنی‌داری را در شاخص‌های التهابی (TNF-α، IL-6 و IL-10) افراد مبتلا به NAFLD بر اثر مصرف پروبیوتیک‌ها پس از 3 ماه مداخله نشان دادند VSL#3 حاوی 450 میلیون از سویه‌های مختلف باکتریایی (استرپتوکوکوس ترموفیلوس، بیفیدوباکتریوم بروی، بیفیدوباکتریوم لانگوم، بیفیدوباکتریوم اینفنتیس، لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس پلانتاروم، لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس بولگاریکوس) بود (12). در پژوهش حاضر نشان دادیم که مکمل سینبیوتیک باعث کاهش فعالیت NF-κB در PBMC و کاهش TNF-α تام سرم می‌شود که نشانگر اثر تنظیم کننده‌ی ایمنی پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها در برخی اندام‌های خارج کبدی است.

فیبروز کبدی در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل سینبیوتیک کاهش معنی‌داری یافت؛ در حالی که در گروه دارونما تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. در واقع، التهاب کبدی باعث پیشرفت بیماری از طریق فعال‌سازی سلول‌های استلات کبدی (HSC) می‌شود که نقش مهمی در ایجاد فیبروز کبدی ایفا می‌کنند (21). استفاده از پروبیوتیک‌ها اثرات سودمندی مثل بهبود هیستولوژی کبدی، استئاتوز و پیام دهی‌التهابی، مقاومت به انسولین و فیبروز کبدی در مدل‌های موشی NASH داشته است (19، 9). در پژوهشی که اثر مکمل VSL#3 را در مدل‌های موشی NASH ناشی از رژیم فاقد متیونین و کولین (رژیم MCD) بررسی کردند، پروبیوتیک‌ها باعث کاهش فیبروز کبدی از طریق کاهش تجمع کلاژن و α- اکتین ماهیچه صاف شد (20). تاکنون، هیچ مطالعه‌ی انسانی اثر پروبیوتیک‌ها و پربیوتیک‌ها را بر میزان فیبروز کبدی بررسی نکرده است. پژوهش حاضر اولین کارآزمایی بالینی است که اثر سینبیوتیک‌ها را بر فیبروز کبدی در بیماران مبتلا به NAFLD بررسی کرده و کاهش معنی‌داری در درجه‌ی فیبروز افراد پس از 28 هفته مداخله مشاهده کرده است.

یکی از محدودیت‌های این مطالعه را می‌توان عدم استفاده از روش بیوپسی برای تشخیص NAFLD دانست که روش استاندارد تشخیص این بیماری است. از آنجا که بیوپسی یک روش تهاجمی است، قادر به اجرای این روش نبودیم و درجه‌ی فیبروز کبدی توسط دستگاه فایبرواسکن (الاستوگرافی اولتراسونیک) اندازه‌گیری شد. این تکنیک به آسانی و به طور غیرتهاجمی، متوسط میزان سختی (stiffness) کبد را اندازه‌گیری می کند (22). از مهم‌ترین نقاط قوت این مطالعه، مدت طولانی مطالعه (28 هفته)، اندازه‌گیری فعالیت NF-κB در PBMC و استفاده از روش تقسیم تصادفی بلوکی طبقه‌بندی شده بود. شرکت‌کنندگان در این پژوهش، افرادی بودند که بیماری آن‌ها به تازگی تشخیص داده شده بود و هیچ یک از آن‌ها تحت هیچ‌گونه روش درمانی قرار نداشتند. در این مطالعه به منظور اطمینان از دریافت دز مشخص سینبیوتیک از دو عدد مکمل سینبیوتیک در روز استفاده شد؛ زیرا در صورت استفاده از ترکیب غذایی حاوی سینبیوتیک احتمال خطا در میزان دریافت روزانه افراد به مراتب بیشتر از مکمل‌یاری بود.

در مجموع، این کارآزمایی بالینیِ تصادفیِ شاهددار دوسوکور نشان داد که مکمل سینبیوتیک باعث افزایش اثربخشی مداخله در شیوه‌ی زندگی (کاهش وزن و افزایش فعالیت بدنی) در مقایسه با مداخله در شیوه زندگی به تنهایی می‌شود. از آنجا که میزان ماندگاری این روش کاملا مشخص نیست، پیشنهاد می‌شود مطالعاتی به منظور بررسی میزان ماندگاری استفاده از مکمل سینبیوتیک با تعداد افراد بیشتر انجام شود.

سپاسگزاری

از مسئولان محترم *انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور* و *مرکز تحقیقات بیماری‌های کبد و گوارش بیمارستان شریعتی* برای تأمین هزینه‌های این طرح سپاسگزاری می‌شود. از مسئولان و کارمندان محترم *کلینیک هراز بیمارستان 17 شهریور آمل* برای همکاری در این پژوهش تقدیر می‌شود. این طرح برگرفته از پایان‌نامه‌ی کارشناسی ارشد خانم طناز اسلام پرست بود.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

References

1. Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. N Engl J Med 2002;346(16):1221-31.
2. Brunt EM, Janney CG, Di Bisceglie AM, Neuschwander-Tetri BA, Bacon BR. Nonalcoholic steatohepatitis: a proposal for grading and staging the histological lesions. Am J Gastroenterol. 1999;94(9):2467-74.
3. Adams L, Angulo P. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Postgrad Med J. 2006;82(967):315-22.
4. Mirzazadeh A, Sadeghirad B, Haghdoost A, Bahreini F, Kermani MR. The prevalence of obesity in Iran in recent decade; a systematic review and meta-analysis study. Iran J Public Health. 2009;38(3).
5. Solga S, Alkhuraishe AR, Clark JM, Torbenson M, Greenwald A, Diehl AM, et al. Dietary composition and nonalcoholic fatty liver disease. Dig Dis Sci. 2004;49(10):1578-83.
6. Musso G, Gambino R, De Michieli F, Cassader M, Rizzetto M, Durazzo M, et al. Dietary habits and their relations to insulin resistance and postprandial lipemia in nonalcoholic steatohepatitis. Hepatol. 2003;37(4):909-16.
7. Zheng MH, Xin YN, Li H, Cai XN, Cui YL, Qiu LX, et al. Probiotics: A possible specific liver drug for non-alcoholic fatty liver disease. Biosci Hypotheses 2009; 2(1):54-55.
8. Iacono A, Raso GM, Canani RB, Calignano A, Meli R. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. J Nutr Biochem 2011;22(8):699-711.
9. Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, et al. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. Hepatol. 2003;37(2):343-50.
10. Esposito E ,Iacono A, Bianco G, Autore G, Cuzzocrea S, Vajro P, et al. Probiotics Reduce the inflammatory response induced by a high-fat diet in the liver of young rats. J Nutr 2009;139(5):905-11.
11. Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R , Gonzalez Sagrado M, Primo D, et al. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2011;15(9):1090-5.
12. Loguercio C, Federico A, Tuccillo C, Terracciano F, D'Auria MV, De Simone C, et al. Beneficial effects of a probiotic VSL#3 on parameters of liver dysfunction in chronic liver diseases. J Clin Gastroenterol 2005;39(6):540-3.
13. Loguercio C, De Simone T, Federico A, Terracciano F, Tuccillo C, Di Chicco M, et al. Gut-liver axis: a new point of attack to treat chronic liver damage&quest. Am J Gastroenterol 2002;97(8):2144-6.
14. Malaguarnera M, Vacante M, Antic T, Giordano M, Chisari G, Acquaviva R, et al. Bifidobacterium longum with fructo-oligosaccharides in patients with non alcoholic steatohepatitis. Dig Dis Sci 2011:1-9.
15. Gibson GR. Dietary modulation of the human gut microflora using the prebiotics oligofructose and inulin. J Nutr. 1999;129(7):S1438-41.
16. Saulnier D, Gibson GR, Kolida S. In vitro effects of selected synbiotics on the human faecal microbiota composition. FEMS Microbiol Ecol. 2008;66(3):516-27.
17. Kelishadi R, Rabiei K, Khosravi A, Famouri F, Sadeghi M, Rouhafza H, et al. Assessment of physical activity of adolescents in Isfahan. J Shahrekord Univ Med Sci 2001, 3(2): 27-33.
18. Nardone G, Compare D, Liguori E, Di Mauro V, Rocco A, Barone M, et al. Protective effects of Lactobacillus paracasei F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol. 2010;299(3):G669-G76.
19. Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. J Hepatol 2008;49(5):821-30.
20. Velayudham A, Dolganiuc A, Ellis M, Petrasek J, Kodys K, Mandrekar P, et al. VSL#3 probiotic treatment attenuates fibrosis without changes in steatohepatitis in a diet-induced nonalcoholic steatohepatitis model in mice. J Hepatol 2009;49(3):989-97.
21. Fujii H, Kawada N. Inflammation and fibrogenesis in steatohepatitis. J Gastroenterol 2012;47(3):215-25.
22. Malekzadeh R, Poustchi H. Fibroscan for assessing liver fibrosis: an acceptable alternative for liver biopsy: Hepat Mon 2011;11(3):157-8.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]

The effects of dietary synbiotic supplementation on the liver enzymes, inflammatory markers and hepatic fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease: A double-blind randomized clinical trial

Eslamparast T[1], Poustchi H[2], Zamani F[2], Sharafkhah M[3], Malekzadeh R[4], Hekmatdoost A[5]*

1- M.Sc. in Nutrition, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran

2- Assistant prof, Digestive Disease Research Center, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3- M.Sc. in Statistic, Digestive Disease Research Center, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Prof, Digestive Disease Research Center, Shariati Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

*5-*Corresponding author: Associate prof, Dept. of Clinical Nutrition & Dietetics, National Nutrition and Food Technology Research Institute Shahid Beheshti University of Medical Science, Tehran, Iran, E-mail: a_hekmat2000@yahoo.com*

Received 10 May, 2013 **Accepted 12 Aug, 2013**

Background and objective: There is evidence suggesting a relationship between synbiotics and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). Also, probable associations of synbiotics with liver and inflammatory responses are presently being investigated. The aim of our study was to determine the effects of supplementation of diet with synbiotics on the liver enzymes, inflammatory markers and hepatic fibrosis in patients with NAFLD.

Materials and methods: In this double-blind randomized clinical trial, 52 patients with NAFLD were divided in two groups, one (experimental group) receiving daily 2 synbiotic capsules (each one containing 7 probiotic strains and fructooligosaccharides) and the other (control group) receiving 2 placebo capsules, for 28 weeks. Both groups were advised to follow an energy-balanced diet and recommended to perform physical activity. Liver enzymes, inflammatory markers and hepatic fibrosis were assessed at baseline and the end of the study. In addition, at weeks 0, 14 and 28 data were collected on anthropometric measurements and physical activity. The $STATA_{11}$ software was used for data analysis.

Results: At baseline no significant differences were seen in the background variables between the two groups. After 28 weeks, liver enzymes, inflammatory markers and hepatic fibrosis in the synbiotic group decreased significantly as compared with the placebo group ($P<0.001$). Moreover, the treatment brought about a reduction of 2.99 kPa in the hepatic fibrosis score ($P<0.001$) in the experimental group.

Conclusion: On the basis of the findings it can be concluded that synbiotic supplementation can bring about improvements in liver enzymes and inflammatory markers and affect favorably liver fibrosis in patients with NAFLD.

Keywords: NAFLD, Synbiotic, Inflammatory markers

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-15]