

## تأثیر مکمل‌یاری با اسید لینولئیک مزدوج و اسیدهای چرب امگا ۳ بر برخی شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو در تصلب شرایین

فرشته علی اصغری<sup>۱</sup>، محمد حسن افتخاری<sup>۲</sup>، محمد علی بابایی بیگی<sup>۳</sup>، جعفر حسن زاده<sup>۴</sup>، نگین مازوجی<sup>۱</sup>

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۲- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تغذیه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، پست الکترونیکی: h\_eftkhari@yahoo.com

۳- دانشیار گروه قلب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

۴- دانشیار گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

تاریخ پذیرش: ۹۱/۷/۲۵

تاریخ دریافت: ۹۱/۴/۴

### چکیده

**سابقه و هدف:** بیماری‌های قلبی عروقی دلیل عمده‌ی مرگ و میر در جهان و ایران است. التهاب و استرس اکسیداتیو دو عامل خطر مهم تصلب شرایین هستند. برخی شواهد حاکی از تأثیرات ضد التهابی اسیدهای چرب امگا ۳ (ω3) و اسید لینولئیک مزدوج (CLA) است. این مطالعه با هدف بررسی اثر مکمل‌یاری اسید لینولئیک مزدوج و اسیدهای چرب امگا ۳ بر برخی از شاخص‌های التهابی و استرس اکسیداتیو در بیماران مبتلا به تصلب شرایین انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** ۹۰ بیمار مبتلا به تصلب شرایین مراجعه‌کننده به کلینیک قلب امام رضا (ع) دانشگاه علوم پزشکی شیراز که واجد شرایط بودند، داوطلبانه در این مطالعه شرکت کردند. بیماران به صورت تصادفی به ۳ گروه دریافت‌کننده‌ی CLA (۳۰۰ mg/d)، ω3 (۱۹۲۰ mg/d) و دارونما تقسیم شدند و به مدت ۲ ماه این مکمل‌ها را دریافت می‌کردند. پروتئین واکنشی C (CRP)، اینترلوکین ۶ (IL-6)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و فعالیت آنزیم گلوکاتایون پراکسیداز (GPx) قبل و بعد از مداخله مورد سنجش قرار گرفتند. CRP به روش الیزا، IL-6 به روش رادیویمونواسی (RIA) و شاخص‌های MDA و GPx به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند. داده‌های به دست آمده با نرم افزار SPSS ۱۹ تجزیه و تحلیل شد.  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها:** سطح CRP در هر دو گروه دریافت‌کننده‌ی اسیدهای چرب ω3 و CLA در طول مطالعه کاهش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب  $P = 0/01$  و  $P = 0/01$ )،  $7/48 \pm 5/64$  vs  $5/95 \pm 5/87$  و  $4/43 \pm 4/13$  vs  $1/6 \pm 1/41$ ، IL-6 در گروه دریافت‌کننده‌ی اسیدهای چرب ω3 نسبت به گروه دارونما کاهش معنی‌داری نشان داد ( $P = 0/04$ )،  $11/12$  vs  $13/37 \pm 9/44$ ، در گروه دریافت‌کننده‌ی CLA هر چند سطح IL-6 کاهش یافت، اما این تغییرات، معنی‌دار نبود ( $P = 0/06$ )،  $16/13 \pm 10/21$  vs  $12/95 \pm 8/1$ ، GPx در گروه دریافت‌کننده‌ی اسیدهای چرب ω3 و CLA افزایش معنی‌داری نشان داد (به ترتیب  $P = 0/01$  و  $P = 0/01$ )،  $12 \pm 46/06$  vs  $17/1/4 \pm 68/90$  و  $174/61 \pm 62/8$ ،  $144/57 \pm 56/89$  vs  $174/61 \pm 62/8$ ، سطح MDA در هر دو گروه دریافت‌کننده‌ی اسیدهای چرب ω3 و CLA کاهش معنی‌داری یافت (به ترتیب  $P = 0/01$ ،  $P = 0/01$ )،  $3/7 \pm 1/77$  vs  $2/4 \pm 0/8$  و  $3/98 \pm 1/50$  vs  $2/87 \pm 1/55$ ،  $P = 0/01$  و  $P = 0/01$ ).

**نتیجه‌گیری:** اسید لینولئیک مزدوج و اسیدهای چرب امگا ۳ می‌توانند التهاب و استرس اکسیداتیو را در بیماران مبتلا به تصلب شرایین کاهش دهند.

**واژگان کلیدی:** تصلب شرایین، التهاب، استرس اکسیداتیو، اسید لینولئیک مزدوج

### • مقدمه

حاکی از آن است که تصلب شرایین شرایط التهابی مزمنی است که می‌تواند با پارگی پلاک به ایجاد رخداد بالینی حاد منجر شود (۳). مطالعات نشان می‌دهد که فرایند التهاب با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن به مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها و تولید محصولات پراکسیداتیو منجر

بیماری‌های قلبی عروقی یکی از دلایل عمده‌ی مرگ و میر در کشورهای پیشرفته و در کشورهای در حال توسعه است (۱). این بیماری‌ها دلیل عمده‌ی مرگ و میر و ناتوانی در جمعیت ایران است؛ به‌گونه‌ای که مسئول نیمی از مرگ و میرهای سالیانه گزارش شده است (۲). تحقیقات اخیر

### • مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش یک‌سوکور، کنترل شده با دارونما انجام شد. مقاله‌ی حاضر قسمتی از مطالعه بزرگ‌تری است که در آن شاخص تری‌گلیسرید از متغیرهای مهم مورد بررسی بود. به همین دلیل برای تعیین حجم نمونه، از نتایج حاصل از مطالعه عمرانی و همکاران (۱۳) استفاده شد. حجم نمونه با استفاده از فرمول تعیین حجم با  $\alpha = 0/05$  و  $Power = 80\%$  در هر گروه ۲۸ نفر تعیین شد که با در نظر گرفتن ریزش احتمالی نمونه‌ها در مدت پیگیری، حجم نمونه به ۳۰ مورد در هر گروه افزایش یافت. ۹۰ بیمار با نمایه توده بدنی نرمال (۱۸/۵-۲۴/۹) مبتلا به تصلب شرایین بالای ۳۰ سال که با انجام آنژیوگرافی، بیماری کرونر قلبی در آن‌ها به اثبات رسیده بود، در این مطالعه شرکت کردند. این افراد از بین زنان و مردان مراجعه کننده به کلینیک قلب امام رضا(ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی شیراز انتخاب شدند. آن‌ها دز ثابتی از داروهای آنتی‌هیپرلیپیدمیک را دریافت می‌کردند. طی مطالعه نوع و دز داروی تجویز شده تغییر نکرد. برخی از معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: داشتن سابقه‌ی آنژین صدری پایدار، سکت‌های قلبی قدیمی یا سابقه‌ی جراحی بای‌پس به علت تصلب شرایین. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: داشتن نارسایی حاد قلبی، آریتمی، عوارض حاد تصلب شرایین، دیابت، ابتلا به بیماری مزمن یا حاد التهابی، استفاده از پرتو درمانی، بارداری، مصرف هرگونه مکمل از جمله ویتامین‌های C و E،  $\omega 3$  و CLA طی شش ماه قبل از مطالعه. در اولین مراجعه هدف و مراحل مطالعه به طور کامل برای بیمار شرح داده شد و در صورت تمایل بیمار برای همکاری، فرم رضایت‌نامه کتبی تکمیل شد. از طرفی پژوهش حاضر در کمیته‌ی اخلاق دانشگاه علوم پزشکی شیراز مورد تأیید قرار گرفت. پس از جلب رضایت بیمار و امضای فرم رضایت‌نامه توسط بیمار برای هر فرد ۲ پرسشنامه، یکی بسامد خوراک و دیگری مربوط به مشخصات بیمار تکمیل شد. در پرسشنامه‌ی مشخصات بیمار سن، وزن، قد، سطح تحصیلات، مدت ابتلا به بیماری، انواع و دوز داروهای مورد استفاده جهت کنترل چربی خون، سابقه ابتلا به سایر بیماری‌ها، سابقه تغییرات شدید وزن طی ۶ ماه اخیر سؤال شد. پرسشنامه‌ی بسامد خوراک با استفاده از نرم‌افزار Food Procerssor Nut4 آنالیز و میزان اجزای رژیم غذایی افراد مشخص شد.

می‌شود. متابولیت‌های اکسیداتیو می‌تواند مسیر NF-kb (Nuclear Factor-kappa b) را فعال کند و تولید سیتوکین‌های پیش التهابی را افزایش دهد (۴). NF-Kb شامل گروهی از فاکتورهای رونویسی قابل القا است که پاسخ‌های ایمنی و التهابی را تنظیم می‌کند (۵). به همین دلایل، التهاب و استرس اکسیداتیو دو عامل مهم در ایجاد تصلب شرایین هستند. مواد مغذی ممکن است با تأثیرات ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی در روند بیماری‌های قلبی و عروقی تأثیرگذار باشند (۶). تاکنون، مطالعات متعددی تأثیرات مثبت آنتی‌اکسیدان‌هایی مثل ویتامین‌های E و C را در روند بیماری تصلب شرایین نشان داده است (۶). امروزه، اثرات ضدالتهابی اسید لینولئیک مزدوج (CLA) و اسیدهای چرب امگا-۳ ( $\omega 3$ ) توجه بسیاری را به خود جلب کرده است (۷). CLA به طور طبیعی در غذاهایی که از حیوانات نشخوار کننده به دست می‌آید، مثل گوشت و لبنیات وجود دارد (۸). نزدیک به یک دهه است که فواید سلامتی بخش CLA مورد بحث قرار گرفته است. برای مثال، می‌توان به عملکرد ضد التهابی آن اشاره کرد (۸). در مدل‌های حیوانی مکمل‌یاری CLA نقش مفیدی در کاهش زخم‌های آئورتیک داشته است (۹). مطالعات اولیه نشان داد که خرگوش‌های مکمل‌یاری شده با CLA کاهش معنی‌داری در سطح LDL-C داشته‌اند، اگرچه تغییر معنی‌داری در سطح HDL-C آن‌ها نشان داده نشد (۹). *Kritchevsky* نشان داد که مکمل‌یاری CLA در خرگوش‌ها موجب ۳۰٪ بازگشت پلاک می‌شود (۱۰). مطالعات محدودی تأثیر مکمل‌یاری CLA را روی جمعیت انسانی بررسی کرده است. شواهد گسترده‌ای که از مطالعات بالینی، تجربی و اپیدمیولوژیکی به دست آمده است، اهمیت  $\omega 3$  را در پیشگیری و درمان بیماری‌های قلبی عروقی نشان می‌دهد (۱۱). برخی از مطالعات این ویژگی  $\omega 3$  را به تأثیرات ضد التهابی آن نسبت می‌دهند (۱۲). با توجه به شیوع بالای بیماری قلبی عروقی و اثرات مثبت  $\omega 3$  و CLA در بهبود و پیشگیری از بیماری‌های قلبی عروقی و با در نظر گرفتن مطالعات محدودی که در این زمینه به ویژه در جمعیت‌های انسانی انجام یافته است، مطالعه حاضر جهت بررسی تأثیر  $\omega 3$  و CLA بر فاکتورهای التهابی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو در افراد مبتلا به بیماری تصلب شرایین طراحی شد.

گلوکاتاتیون پراکسیداز واکنش اکسیداسیون گلوکاتاتیون (GSH) را توسط کسومن هیدروپراکسید (CumeneHydroperoxide) کاتالیز می‌کند. در حضور آنزیم گلوکاتاتیون ردوکتازو NADPH، گلوکاتاتیون اکسید شده (GSSG) دوباره به گلوکاتاتیون احیا تبدیل می‌شود. این احیاء با اکسیداسیون همزمان NADPH به NADP<sup>+</sup> همراه است. در این واکنش، کاهش جذب نوری در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. CRP به روش الیزا (IBL، آمریکا) (۱۶) و اینترلوکین-۶ به روش RIA (بلژیک) اندازه‌گیری شد (۱۷).

**تحلیل آماری:** داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS<sup>۱۹</sup> تجزیه و تحلیل شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها آزمون Kolmogorov-Smirnov به کار رفت. نتایج آزمون، نرمال بودن داده‌ها را تأیید کرد. جهت تعیین اثر مداخله روی پیامدهای مورد نظر در داخل گروه‌ها از آزمون Paired Sample T و برای مقایسه‌ی بین گروهی نتایج از آزمون‌های ANOVA و Post Hoc Dunnet استفاده شد. ویژگی‌های پایه در گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از آزمون ANOVA مقایسه شد. نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار ارائه شدند. مقادیر  $P < 0/05$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### • یافته‌ها

در طول مطالعه ۲ نفر از شرکت‌کنندگان در گروه دریافت‌کننده‌ی CLA (۱ نفر به علت سردرد و ۱ نفر به علت عوارض گوارشی) و ۱ نفر در گروه دارونما (به دلیل رفتن به مسافرت) از مطالعه خارج شدند و ۸۷ فرد شرکت‌کننده (۳۹ مرد و ۴۸ زن) مطالعه را به پایان رساندند. لازم به ذکر است که توزیع جنسی افراد در گروه‌ها مشابه بود. همان‌گونه که جدول شماره ۱ نشان می‌دهد. افراد شرکت‌کننده در سه گروه از لحاظ مشخصات پایه وزن، قد، BMI، مدت زمان بیماری تفاوت معنی‌داری نداشتند. آنالیز پرسشنامه بسامد خوراک نیز نشان داد که افراد از لحاظ دریافت مواد غذایی تفاوت معنی‌داری نداشتند که نتایج آن در مقاله ای جداگانه ارائه خواهد شد.

افراد با استفاده از پروتکل BBR (Balance Block Randomization) به سه گروه دریافت‌کننده‌ی CLA،  $\omega 3$  و دارونما تقسیم شدند. گروه‌های مورد مداخله به مدت ۲ ماه تحت مکمل‌یاری با مقدار ۳ گرم CLA (۳ کپسول ۱۰۰۰ میلی‌گرمی در روز) یا ۱۹۲۰ میلی‌گرم  $\omega 3$  (۳ کپسول ۶۴۰ میلی‌گرمی در روز) قرار گرفتند. افراد گروه شاهد نیز در همین مدت، روزانه ۳ کپسول دارونما دریافت کردند. برخی مطالعات نشان داده است که ایزومر c10t12 ممکن است مقاومت انسولینی ایجاد کند. در صورتی که این اثر سوء در استفاده از مخلوط ایزومرها مشاهده نشده است (۱۴). از سوی دیگر، برخی مطالعات نشان داده است که ایزومر CLA c9t11 حساسیت انسولینی را افزایش می‌دهد (۱۵). در این مطالعه مکمل CLA به صورت کپسول‌های یک گرمی شامل ۸۰٪ CLA با نسبت ۵۰:۵۰ ایزومر (trans 11, cis 9, trans 10) از شرکت Puritan (آمریکا) تهیه شد. کپسول‌های ۶۴۰ میلی‌گرمی  $\omega 3$  از شرکت Seven Seas (انگلستان) حاوی ۳۱۰ میلی‌گرم EPA و ۲۱۰ میلی‌گرم DHA تهیه شد. دارونما که حاوی روغن زیتون بود، از شرکت زهراوی تهیه شد. همه‌ی مکمل‌ها یک‌باره در اختیار بیماران قرار نمی‌گرفت. همه‌ی مکمل‌ها در بسته‌های مشابه قرار داده شدند و هر دو هفته یک بار به بیماران داده می‌شد. جهت اطمینان از مصرف مکمل‌ها هر هفته با آن‌ها تماس گرفته می‌شد.

وزن افراد با حداقل پوشش و بدون کفش با استفاده از یک ترازوی دیجیتالی با حساسیت ۱۰۰ گرم اندازه‌گیری و ثبت شد. قد افراد در وضعیت ایستاده در کنار دیوار و بدون کفش در حالی که کتف‌ها در شرایط عادی قرار داشتند، با حساسیت یک سانتی‌متری اندازه‌گیری شد. نمایه توده بدنی (BMI) از تقسیم وزن (کیلوگرم) بر مجذور قد (متر مربع) محاسبه شد.

به منظور سنجش متغیرهای مورد مطالعه در سرم، ابتدا و انتهای مطالعه ۵cc خون ناشتا از بیماران گرفته شد. سطح MDA بر اساس روش تیوباربیتریک اسید (TBARS) اندازه‌گیری شد. فعالیت گلوکاتاتیون پراکسیداز به روش اسپکتروفوتومتری (Cayman، آمریکا) اندازه‌گیری شد. آنزیم

جدول ۱. مقایسه میانگین متغیرهای پایه در گروه‌های مورد مطالعه

P-value***	گروه دریافت‌کننده‌ی ω3 (n = ۳۰)	گروه دریافت‌کننده‌ی CLA (n = ۲۹)	گروه دارونما (n=۲۸)*	عنوان متغیرها
۰/۲۹	۵۴/۵۳±۱۵/۲۱	۵۲/۷۹±۱۴/۱۱	۵۵/۸۵**±۱۴/۱۳	سن (سال)
۰/۸۹	۶۷/۶۶±۷/۹۶	۶۷/۰۶±۸/۰۱	۶۸/۲۱±۷/۸۲	وزن (کیلوگرم)
۰/۶۸	۲۴/۳۰±۲/۳۴	۲۴/۰۲±۲/۷۶	۲۴/۶۶±۲/۳۴	نمایه توده بدنی (کیلوگرم بر متر مربع)
۰/۵۶	۴/۱۰±۱/۹۶	۳/۵۰±۲/۰۵	۳/۸۹±۲/۰۰	طول مدت بیماری قلبی و عروقی (سال)

تعداد افراد (n)

\*\* میانگین ± انحراف معیار

\*\*\* ANOVA

ضروری است (۲۰، ۱۹). از طرف دیگر، فعال‌سازی PPAR (Peroxisome Proliferator Activated Receptor) با مهار بیان ژن‌های التهابی مرتبط با NF-κb طی افزایش پروتئین مهاری Ikb تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی را سرکوب می‌کند (۵). یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که CLA و ω3 فعالیت PPAR را افزایش می‌دهند (۲۰، ۱۹). مطالعات انسانی اندکی اثرات ایزومرهای CLA را بر التهاب بررسی کرده است. با وجود نتایج مختلف در این زمینه اکثر مطالعات ویژگی ضدتصلب شریانی این اسید چرب را به تأثیرات ضدالتهابی آن نسبت می‌دهند (۱۹). در مطالعه حاضر، مکمل‌یاری روزانه‌ی CLA به مدت ۲ ماه منجر به کاهش معنی‌داری در سطح CRP شد. در مطالعه انجام شده توسط Riserus و همکاران (۲۱) که مکمل‌یاری ایزومرهای CLA به طور جداگانه در گروه‌ها صورت گرفت، سطح CRP افزایش یافت، اگرچه این افزایش در سطح CRP در گروه مکمل‌یاری شده با ایزومر t10 c12 مشاهده شد و در گروه مکمل‌یاری شده با ایزومر c9t11 و گروه کنترل سطح CRP تغییری نیافت. مقدار ایزومر t10 c12 به کار رفته در مطالعه حاضر (روزانه ۱/۲۷ گرم به مدت ۸ هفته) کمتر از مقدار به کار رفته در پژوهش Riserus (۳/۴ گرم روزانه به مدت ۱۲ هفته) بود. احتمالاً در مطالعه حاضر به واسطه استفاده از مخلوط دو ایزومر c9t11 و t10c12 تأثیرات سودمند مکمل‌یاری CLA مشاهده شد.

جدول ۲ فاکتورهای التهابی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو را در سه گروه مورد مطالعه در ابتدا و انتهای مطالعه نشان می‌دهد. لازم به ذکر است که شاخص‌های بیوشیمیایی پایه در سه گروه شرکت‌کننده تفاوت معنی‌داری نداشت. همان‌طور که در این جدول مشاهده می‌شود، در پایان مطالعه سطح CRP و IL-6 در گروه دریافت‌کننده‌ی ω3 تغییر معنی‌داری نشان داد. در گروه CLA سطح CRP نسبت به ابتدای مطالعه به طور معنی‌داری کاهش یافت، ولی با وجود کاهش سطح IL-6 نسبت به ابتدای مطالعه در این گروه تغییرات از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در هر دو گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل، سطح MDA و GPx نسبت به ابتدای مطالعه به طور معنی‌داری کاهش یافت. جدول ۳ میانگین تغییرات شاخص‌های اندازه‌گیری شده را بین ۳ گروه مقایسه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود ω3 سطح CRP و IL-6 را نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش داد (P=۰/۰۴). تغییرات MDA، GPx و BMI معنی‌دار نبود (جدول شماره ۳).

## • بحث

با توجه به نقش التهاب در روند بیماری تصلب شریانی، شاخص‌های التهابی متعددی نظیر hs-CRP و IL-6 به عنوان ابزار پیشگویی‌کننده بیماری‌های قلبی عروقی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد (۱۸). استرس اکسیداتیو ممکن است اثرات پیش‌التهابی داشته باشد (۴). استرس اکسیداتیو برای فعال‌سازی مسیر NF-κb (Nuclear Factor KappaB)

جدول ۲. شاخص‌های بیوشیمیایی در هفته‌های صفر و ۸ در گروه‌های مداخله

P-value	گروه دریافت کننده W3 (n=30)		گروه دریافت کننده CLA (n=29)		گروه دارونما (n=28)		شاخص‌ها
	P-value		P-value		P-value		
	هفته ۸	هفته ۰	هفته ۸	هفته ۰	هفته ۸	هفته ۰	
۰/۰۱	۱/۶±۱/۴۱	۴/۴۳±۴/۱۳	۵/۹۵±۵/۸۷	۷/۴۸±۵/۶۴	۰/۹	۵/۰۳±۴/۴۶	hs-CRP(mg/l)
۰/۰۴	۱۳/۳۷±۹/۴۴	۱۸/۵۹±۱۱/۱۲	۱۲/۹۵±۸/۱	۱۶/۱۳±۱۰/۲۱	۰/۷	۱۳/۸۸±۹/۱۳	IL-6(pg/ml)
۰/۰۰۱	۲/۸۷±۱/۵۵	۳/۹۸±۱/۵۰	۲/۴±۰/۸	۳/۷±۱/۷۷	۰/۰۹	۴/۴۶±۲/۵۲	MDA(mol/l)
۰/۰۰۱	۱۷۴/۶۱±۶۲/۸	۱۴۴/۵۷±۵۶/۸۹	۱۷۱/۴±۶۸/۹۰	۱۲۵±۴۶/۰۶	۰/۱۴	۱۷۲/۵۵±۶/۸۴	GPx(nmol/ml/min)
۰/۴۵	۲۴/۴±۲/۳۴	۲۴/۳۰±۲/۳۴	۲۳/۹۸±۲/۷۸	۲۴/۰۲±۲/۷۶	۰/۳۱	۲۴/۶۶±۲/۳۴	BMI(kg/m <sup>2</sup> )

تعداد افراد (n)

میانگین ± انحراف معیار

Paired Sample T-Test

جدول ۳. مقایسه تغییرات میانگین شاخص‌ها قبل و بعد از مطالعه

P-value	درصد میانگین تغییرات W3 (n=30)		درصد میانگین تغییرات CLA (n=29)		درصد میانگین تغییرات دارونما (n=28)		شاخص‌ها
	گروه دریافت کننده W3	گروه دریافت کننده CLA	گروه دریافت کننده CLA	گروه دریافت کننده CLA	گروه دارونما	گروه دارونما	
۰/۰۴	۲/۸۰±۰/۷۶	۲/۸۰±۰/۷۶	۱/۵۲±۰/۷۷	۱/۵۲±۰/۷۷	۰/۰۵±۰/۷۸	۰/۰۵±۰/۷۸	hs-CRP(mg/l)
۰/۰۴	۵/۱۸±۱/۶۰	۵/۱۸±۱/۶۰	۳/۱۷±۱/۶۳	۳/۱۷±۱/۶۳	-۰/۶۲±۱/۶۶	-۰/۶۲±۱/۶۶	IL-6(pg/ml)
۰/۶۲	۱/۱۰±۰/۳۵	۱/۱۰±۰/۳۵	۱/۳۰±۰/۳۶	۱/۳۰±۰/۳۶	۰/۸۱±۰/۳۶	۰/۸۱±۰/۳۶	MDA(mol/l)
۰/۴۱	-۳۰/۰۴±۱۲/۳۳	-۳۰/۰۴±۱۲/۳۳	-۴۵/۴۵±۱۲/۵۴	-۴۵/۴۵±۱۲/۵۴	-۲۲/۰۷±۱۲/۷۶	-۲۲/۰۷±۱۲/۷۶	GPx(nmol/ml/min)
۰/۳۹	-۰/۰۵±۰/۵۷	-۰/۰۵±۰/۵۷	۰/۰۴±۰/۵۸	۰/۰۴±۰/۵۸	-۰/۰۴±۰/۵۹	-۰/۰۴±۰/۵۹	BMI(kg/m <sup>2</sup> )

ANOVA

در مقایسه با گروه کنترل (Post Hoc dunnett) p<0.05 (با استفاده از)

در مقایسه با گروه کنترل

آنزیم و دیگر آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی مانند SOD در افراد مبتلا به تصلب شرایین کاهش یافته است (۲۸).

CLA و  $\omega 3$  با افزایش بیان گاماگلوتامیل سیتین لیگاز، سطح گلوتاتیون را افزایش می‌دهند (۲۹). مطالعات *invitro* حاکی از آن است که CLA موجب افزایش بیان mRNA گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود (۳۰). نتایج مطالعه‌ی حاضر هم نشان می‌دهد که سطح فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در گروه دریافت‌کننده‌ی CLA نسبت به ابتدای مطالعه افزایش یافته است. هر چند در مقایسه با گروه کنترل افزایش سطح فعالیت این آنزیم معنی‌دار نیست. از طرف دیگر، برخی مطالعات نشان می‌دهد که CLA به طور معنی‌داری فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را کاهش می‌دهد (۳۱). طبق بررسی‌های اخیر CLA باعث افزایش ثبات اکسیداتیوی کبد می‌شود که بیانگر حفاظت علیه استرس است (۳۲). در مطالعه‌ی Park و همکاران مکمل‌یاری CLA استرس اکسیداتیو را در موش‌ها کاهش داد (۳۲). در مطالعه‌ی حاضر در گروه دریافت‌کننده‌ی CLA سطح MDA نسبت به ابتدای مطالعه کاهش معنی‌داری نشان داد.

در مطالعات حیوانی نشان داده شد که مکمل‌یاری با  $\omega 3$  روند پیشرفت استرس اکسیداتیو را آهسته می‌کند (۳۳). در مطالعه‌ی خسروشاهی و همکاران (۳۳) روی بیماران همودیالیزی مکمل‌یاری با  $\omega 3$  به مدت ۲ ماه سطح گلوتاتیون پراکسیداز را در این بیماران افزایش و سطح MDA آن‌ها را کاهش داد. در مطالعه حاضر نیز مکمل‌یاری با  $\omega 3$  سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را در گروه دریافت‌کننده نسبت به ابتدای مطالعه افزایش و سطح MDA آن‌ها را کاهش داد. در مطالعه Mika و همکاران (۳۴) هم مکمل‌یاری  $\omega 3$  فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز را افزایش داد. اگرچه برخی از مدل‌های حیوانی و مطالعات انسانی افزایش پراکسیداسیون لیپیدی را در نتیجه‌ی مکمل‌یاری با  $\omega 3$  نشان می‌دهند، Allard بر این باور است که افزایش MDA و پراکسیداسیون لیپیدی با مکمل‌یاری  $\omega 3$  به دلیل سطوح پایین آنتی‌اکسیدان در پلاسما یا محتوای آنتی‌اکسیدان

طبق گزارش Kelly و همکاران (۲۲) مکمل‌یاری CLA سطح IL-6 را در موش‌ها افزایش می‌دهد. یافته‌ها در مورد تأثیر CLA بر سطح IL-6 متناقض است. در مطالعه حاضر با مکمل‌یاری CLA در سطح IL-6 کاهش معنی‌داری مشاهده نشد که با نتایج مطالعه Molony و همکاران (۲۳) مطابقت دارد.

در مطالعه‌ی Chan و همکاران (۲۴) افراد چاق به مدت ۶ هفته با  $\omega 3$  مکمل‌یاری شدند. در آن بررسی تغییرات معنی‌داری در سطح CRP مشاهده نشد. اگرچه در مطالعه Saifullah و همکاران (۲۵) که تأثیر مکمل‌یاری  $\omega 3$  را به مدت ۱۲ هفته روی عوامل خطر بیماری‌های قلبی عروقی در بیماران همودیالیزی سنجیدند،  $\omega 3$  باعث کاهش معنی‌داری در سطح CRP شد. یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که بخشی از اثرات ضدالتهابی  $\omega 3$  به فعال‌سازی PPAR- $\gamma$  مربوط می‌شود.  $\omega 3$  می‌تواند به طور مستقیم تولید سیتوکین‌های التهابی را توسط سلول‌های منونوکلئار کاهش دهد. البته مکانیسم آن ناشناخته است (۲۶). در مطالعه حاضر، مکمل‌یاری بیماران مبتلا به تصلب شرایین با CLA و  $\omega 3$  تأثیر چشمگیری بر فاکتورهای التهابی CRP و IL-6 داشت از آن جا که تصلب شرایین امروزه به عنوان یک بیماری التهابی پذیرفته شده، اهمیت این بهبودی دوچندان می‌شود. مطالعات انسانی اندکی تأثیرات مکمل‌یاری CLA را روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو سنجیده است و بیشتر مطالعات انجام شده در این زمینه به صورت *invitro* است. به همین دلیل، نظرات ضد و نقیض فراوانی در مورد تأثیرات مکمل‌یاری CLA روی شاخص‌های استرس اکسیداتیو وجود دارد.

در این مطالعه سطح فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز و غلظت مالون‌دی‌آلدئید سنجیده شد. نتایج مطالعه حاضر تأثیرات معنی‌دار CLA و  $\omega 3$  را بر استرس اکسیداتیو نشان داد.

گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم آنتی‌اکسیدانی مهمی است که هیدروژن پراکسید را در حضور گلوتاتیون احیا شده کاتالیز می‌کند (۲۷). نشان داده شده است که سطح فعالیت این

بعدی توصیه می‌شود. به نظر می‌رسد که اندازه‌گیری مقادیر  $\omega 3$  (EPA, DHA) و اسید لینولئیک مزدوج در سرم افراد مورد مطالعه جهت پایش بیشتر افراد در مورد مصرف مکمل‌ها می‌تواند مفید باشد. در مطالعه‌ی حاضر به دلیل محدودیت بودجه قادر به انجام این کار نشدیم. هر چند که مصرف مکمل‌ها توسط افراد شرکت‌کننده هر هفته با تماس‌های تلفنی پیگیری می‌شد تا احتمال عدم مصرف آن‌ها توسط بیماران به حداقل برسد.

### سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از اعتبار مالی پروژه مصوب ۸۷-۵۴۰۷ در دانشگاه علوم پزشکی شیراز انجام شد. از آقای دکتر محمدمهدی احمدی رئیس محترم شرکت آرمان‌سند جهت تأمین مکمل‌های  $\omega 3$  در این مطالعه تقدیر و تشکر می‌شود. از تمامی افراد شرکت‌کننده در این طرح به خاطر همکاری صمیمانه قدردانی به عمل می‌آید. مقاله‌ی حاضر از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد با شماره طرح ۸۷-۵۴۰۷ از دانشگاه علوم پزشکی شیراز استخراج شده است.

موجود در کپسول‌های حاوی  $\omega 3$  برای سرکوب رادیکال‌های آزاد تولیدی است (۳۵).

نتایج مطالعه‌ی حاضر در مواردی همسو و در مواردی بر خلاف مطالعات انجام یافته بود. شاید یکی از دلایل این اختلاف‌ها بررسی نکردن دریافت غذایی و فعالیت فیزیکی طی مطالعه بود. اگر چه سیستم تصادفی، خطر این عوامل مخدوش‌کننده را کاهش می‌دهد ولی از تمام شرکت‌کنندگان هم خواسته شده بود که عادات غذایی و شیوه زندگی خود را در طول مدت مطالعه ثابت نگه دارند. مطالعه حاضر بیانگر تأثیرات مطلوب و سودمند اسیدهای چرب  $\omega 3$  و CLA بر سطح برخی فاکتورهای التهابی و شاخص‌های استرس اکسیداتیو است. از سوی دیگر می‌توان معنی‌دار نبودن برخی از نتایج مطالعه را به داشتن BMI نرمال و فعالیت نسبتاً پایین افراد شرکت‌کننده نسبت داد. همچنین دز مکمل‌های استفاده شده نیز می‌تواند یکی دیگر از دلایل باشد.

به منظور برطرف کردن ابهام‌ها در زمینه استفاده از ایزومرهای جداگانه، افزایش مدت زمان مطالعه در تحقیقات

## • References

1. Nissinen A, Berrios X, Puska P. Community-based noncommunicable disease interventions: lessons from developed countries for developing ones. *Bull World Health Organ* 2001;79(10):963-70.
2. Hatmi ZN, Tahvildari S, Gafarzade A, Sabouri A. Prevalence of coronary artery disease risk factors in Iran: a population based survey, *BMC Cardiovascular Disorders* 2007; 7:32-8.
3. Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, et al. Atherosclerosis: basic mechanism, oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 1995;91:2488-96.
4. Spittle MA, Hoenich NA, Handelman GJ, Adhikarla R, Homel P, Levin NW. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001;38:1408-73.
5. Winther M, Kanters E, Kraal G, Hofker M. Nuclear factor KB signaling in atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25:904-14.
6. Aviram M. Interaction of Oxidized Low Density Lipoprotein with Macrophages in Atherosclerosis, and the Antiatherogenicity of Antioxidants. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1996;34:599-608.
7. Sneddon A, Tsofliou F, Jalckson D, Horgan G. Effect of a Conjugated Linoleic Acid and  $\omega$ -3 Fatty Acid Mixture on Body Composition and Adiponectin. *Obesity* 2008; 16: 1019-1024.
8. Nagao K, Yanagita T. Conjugated fatty acids in food and their health benefits. *J Biosci Bioeng* 2005;100: 152-7.
9. Nakamura Y, Flintoff-Dye N, Omaye S. Conjugated linoleic acid modulation of risk factors associated with atherosclerosis. *NM* 2008; 5:20-40.
10. Kris-Etherton P, Harris S, Appel L. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *ATVB* 2003; 23: 20-30.

11. Connor S, Connor W. Are fish oils beneficial in the prevention and treatment of coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1997;66: 1020-23.
12. Romieu I, Esteban R, Sunyer J, Rios C, Zubeldia M, Velasco S, et al. The effect of supplementation with omega-3 polyunsaturated fatty acids on markers of oxidative stress in elderly exposed to PM (2-5). *Environ Health Perspect* 2008; 116: 1237-42.
13. Omrani GH, Mazloom Z, Savid M, Rashidi AA. Effect of omega-3 fatty acids on glycemic control and lipid profile in patients with type 2 diabetes. *JDMD* 2003;2:34-39.
14. Ryder JW, Portocarrero CP, Song XM, Cui L, Yu M, Combatsiaris T, et al. Isomer-specific antidiabetic properties of conjugated linoleic acid improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. *Diabetes* 2001;50:1149-57.
15. Choi J, Koh I, Jung M, Song J. Effects of three different conjugated linoleic acid preparations on insulin signalling, fat oxidation and mitochondrial function in rats fed a high-fat diet. *Br J Nutr* 2007;98:264-75.
16. Crp-Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clin Chem* 1999;45:2136-41.
17. Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, Maeda K, Ohnishi M, Fukai D, et al. Interleukin-6 spillover in peripheral circulation increases with the severity of heart failure, and the high plasma interleukin-6 level is an important prognostic predictor of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:391-8.
18. Ridker P, Hennekens CH, Buring J, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 2000;342:836-43.
19. Jaudszus A, Krokowski M, Mockel P, Darcan Y, Avagyan A, Matricardi P, et al. cis-9,trans-11-conjugated linoleic acid inhibits allergic sensitization and airway inflammation via a PPAR $\gamma$ -related mechanism in mice. *J Nutr* 2008;138: 1336-42.
20. Bouwens M, van de Rest O, Dellschaft N, Bromhaar MG, de Groot LC, Geleijnse JM, et al. Fish-oil supplementation induce antiinflammatory gene expression profiles in human blood mononuclear cells. *Am J Clin Nutr* 2009;90:415-24.
21. Risérus U, Basu S, Jovinge S, Fredrikson G. Supplementation with conjugated linoleic acid causes isomer-dependent oxidative stress and elevated c-reactive protein. *Circulation* 2002; 106:1925-29.
22. Kelley D, Warrena J, Simona V, Bartolinia G, Mackeyb B, Ericksonc K. Similar effects of c9,t11-CLA and t10,c12-CLA on immune cell functions in mice. *Lipids* 2002; 37:725-8.
23. MoloneyF, Yeow T, Mullen A, Nolan J, Roche H. Conjugated linoleic acid supplementation, insulinsensitivity, and lipoprotein metabolism in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 2004;80:887-95.
24. Chan D, Watts G, Barrett P, Beilin L, Mori T. Effect of atorvastatin and fish oil on plasma high-sensitivity C-reactive protein concentrations in individuals with visceral obesity. *Clin Chem* 2002; 48:877-83.
25. Saifullah A, Watkins B, Saha CH, Li Y, Moe SH, Friedman A. Oral fish oil supplementation raises blood omega-3 levels and lowers C-reactive protein in haemodialysis patients: a pilot study. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3561-67.
26. Li H, Ruan XZ, Powis SH, Fernando R, Mon WY, Wheeler DC, et al. EPA and DHA reduce LPS-induced inflammation responses in HK-2 cells: Evidence for a PPAR-c-dependent mechanism. *Kidney Int* 2005;67: 867-74.
27. Rush J, Sandiford SH. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. *Clin Biochem* 2003;36:345-51.
28. Zawadzka-Bartczak E. Activities of red blood cell anti-oxidative enzymes (SOD, GPx) and total anti-oxidative capacity of serum (TAS) in men with coronary atherosclerosis and in healthy pilots. *Med Sci Monit* 2005; 11: 440-44.
29. Arab K, Rossary A, Soulerè L, Steghens JP. Conjugated linoleic acid, unlike other unsaturated fatty acids, strongly induces glutathione synthesis without any lipoperoxidation. *Br J Nutr* 2006 ;96:811-19.
30. Farquharson A, Wu H, Grant I, Choung J, Eremin O, Heys S, et al. Possible mechanisms for the

- putative antiatherogenic and antitumorigenic effects of conjugated polyenoic fatty acids. *Lipids* 1999; 34: 343.
31. Cantwell H, Devery R, OShea M, Stanton C. The effect of conjugated linoleic acid on the antioxidant enzyme defense system in rat hepatocytes. *Lipids* 1999;34:833-9.
32. Park N, Valacchi G, Lim Y. Effect of dietary conjugated linoleic acid supplementation on early inflammatory responses during cutaneous wound healing. *MEDIAT INFLAMM* 2010;2010:1-8.
33. Khosroshahi H, Houshyar J, Hoshyar J, Tabrizi A, Vatankhah A, Zonouz N, et al. Effect of omega-3 fatty acid on oxidative stress in patients on hemodialysis. *Iran J Kidney Dis.* 2010;4:322-7.
34. Kesavulu M, Kameswararao B, Apparao CH, Kumar E, Harinarayan C. Effect of w-3 fatty acids on lipid peroxidation and antioxidant enzyme status in type2 diabetic patients. *Diabetesmetab (paris)* 2002;28:20-26.
35. Ando K, Nagata K, Beppu M, Kikugawa K, Kawabata T, Hasegawa K, et al. Effect of n-3 fatty acid supplementation on lipid peroxidation and protein aggregation in rat erythrocyte membranes. *Lipids* 1998;33: 505-12.

## The effect of conjugated linoleic acids and omega-3 fatty acids supplementation on some inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerosis

Aliasghari F<sup>1</sup>, Eftekhari MH<sup>\*2</sup>, Babaei Beigi MA<sup>3</sup>, Hasanzadeh J<sup>4</sup>, Mazooji N<sup>1</sup>

1- MSc in Nutrition, Dept. of Nutrition, Faculty of Health and Nutrition, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz Iran.

2- \*Corresponding author: Associate Prof, Dept. of Nutrition, Faculty of Health and Nutrition, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz Iran. Email: h\_eftekhari@yahoo.com

3- Associate Prof, Dept. of Cardio, Faculty of Medical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.

4- Associate Prof, Dept. of Epidemiology, Faculty of Health and Nutrition, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz Iran.

Received 24 Jun, 2012

Accepted 16 Oct, 2012

**Background and Objective:** Cardiovascular disease is the major cause of morbidity, mortality and disability in the world and Iranian population. Inflammation and oxidative processes are major risk factors of atherosclerosis. Some evidence demonstrated anti-inflammatory effect of conjugated linoleic acids (CLA) and omega-3 fatty acids ( $\omega$ -3 fatty acids). So the aim of this study was to evaluate the effect of CLA and  $\omega$ -3 fatty acids supplementation on inflammatory and oxidative stress markers in atherosclerotic patients.

**Materials and Methods:** In this study 90 volunteers who referred to Emam Reza Heart Clinic of Shiraz University of Medical Sciences were selected if they fulfilled the inclusion criteria. Participants were classified into 3 groups receiving 3g/d CLA, 1920mg/d  $\omega$ 3 or placebo for 2 months. C-reactive protein (CRP), interleukin -6(IL-6), malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GPx) were measured before and after supplementation. CRP measurement was done by a high sensitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay and IL-6 assay was performed by Radioimmunoassay methods. GPx enzyme activity and MDA was measured by spectrophotometry. Data processing and statistical analysis were done using SPSS19 software and a p-value of <0.05 was considered as statistically significant.

**Results:** hs-CRP level decreased significantly in both the  $\omega$ 3 and CLA group during the study ( $4.43 \pm 4.13$  vs  $1.6 \pm 1.41$  and  $7.48 \pm 5.64$  vs  $5.95 \pm 5.87$ ) ( $p = 0.01$ ). IL-6 reduced significantly in  $\omega$ 3 group relative to control ( $18.59 \pm 11.12$  vs  $13.37 \pm 9.44$ ) ( $p=0.04$ ) but in CLA group reduction in IL-6 levels was not significant ( $16.13 \pm 10.21$  vs  $12.95 \pm 8.1$ ) ( $p=0.06$ ). GPx increased in CLA and  $\omega$ 3 groups ( $144.57 \pm 56.89$  vs  $174.61 \pm 62.8$  and  $125 \pm 46.06$  vs  $171.4 \pm 68.90$ ) ( $p=0.001$ ). MDA level decreased significantly in both the  $\omega$ 3 and CLA group ( $3.98 \pm 1.50$  vs  $2.87 \pm 1.55$  and  $3.7 \pm 1.77$  vs  $2.4 \pm 0.8$ ) ( $p = 0.001$ ).

**Conclusion:** Supplementation of diet with CLA and  $\omega$ 3 can have a beneficial effect on some indices of inflammatory and oxidative stress.

**Keywords:** Atherosclerosis, Inflammation, Oxidative stress, Conjugated linoleic acids