

تأثیر مصرف مکمل رزوراترول بر آنزیم‌های کبدی، شاخص التهابی hs-CRP و میزان استئاتوز کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی: کارآزمایی بالینی تصادفی شده دو سوکور

فروزان فقیه‌زاده¹، پیمان ادیبی²، آریتا حکمت دوست³

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد علوم تغذیه، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

2- استاد گروه گوارش، دانشکده پزشکی و مرکز تحقیقات بیماری‌های کبد، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

3- نویسنده مسئول: دانشیار گروه تغذیه بالینی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، پست الکترونیکی: a_hekmat2000@yahoo.com

تاریخ دریافت: 92/9/10

تاریخ پذیرش: 92/10/15

چکیده

سابقه و هدف: رزوراترول یک ترکیب آنتی اکسیدانی می‌باشد که سودمند بودن آن در برخی بیماری‌ها نشان داده شده است. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر مکمل رزوراترول بر سطح آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای التهابی و درجه استئاتوز کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی می‌باشد.

مواد و روش‌ها: پنجاه بیمار مبتلا به کبد چرب غیر الکلی به طور تصادفی به دو گروه دریافت کننده مکمل رزوراترول و دارونما تقسیم شدند. بیماران روزانه یک عدد کپسول (رزوراترول یا دارونما مصرف می‌کردند). تمامی افراد دو گروه برنامه‌ی غذایی و توصیه‌های فعالیت بدنی طی مطالعه دریافت کردند. آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای التهابی، درجه استئاتوز کبد، میزان فعالیت بدنی و شاخص‌های تن سنجی در شروع و پایان مطالعه اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم افزار SPSS¹⁶ و آزمون‌های کولموگروف- اسمیرنوف، تی زوجی، تی مستقل و کای 2 انجام شد.

یافته‌ها: تفاوت معنی داری در متغیرهای زمینه‌ای در ابتدای مطالعه بین دو گروه مورد مطالعه مشاهده نشد. در انتهای مطالعه سطح آنزیم کبدی ALT، و فاکتورهای التهابی hs-CRP در گروه مصرف کننده مکمل رزوراترول در مقایسه با دارونما به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0/05$). درجه استئاتوز کبدی نیز در گروه مداخله نسبت به دارونما کاهش معنی داری نشان داد ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به اثرات مثبت مکمل یاری با رزوراترول در بهبود آنزیم‌های کبدی و درجه استئاتوز کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی، می‌توان مصرف آن را به این بیماران توصیه نمود.

واژگان کلیدی: کبد چرب غیر الکلی، رزوراترول، فاکتورهای التهابی

• مقدمه

نهایت منجر به سیروز کبدی و مرگ بیمار شود (1، 2). مطالعات غربی نشان می‌دهند حدود 30 درصد افراد مبتلا به NAFLD هستند (3). شیوع کبد چرب غیر الکلی در کشورهای آسیایی کمتر بوده اما با افزایش بار بیماری‌هایی چون دیابت ملیتوس، سندرم متابولیک و تغییر شیوه زندگی رو به افزایش است (4). شیوع کبد چرب در ایران در

کبد چرب غیر الکلی (Non-alcoholic fatty liver disease) در عصر حاضر یکی از متداول ترین نوع بیماری‌های کبدی در جهان در بین بزرگسالان و کودکان بشمار می‌رود. علت اصلی بروز آن تجمع چربی (تری گلیسرید یا TG) در کبد است که باعث تسریع در ایجاد التهاب، پیشرفت استئاتوز و فیبروز می‌گردد که می‌تواند در

غلظت آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای التهابی و درجه استئاتوز کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی به مدت 12 هفته می‌باشد.

• مواد و روش‌ها

این پژوهش به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور انجام شد. افراد مورد مطالعه شامل بیماران مراجعه کننده به کلینیک کبد چرب اصفهان بودند. معیارهای ورود به مطالعه عبارت بودند از: تمایل به شرکت در مطالعه، سن 18 سال و بالاتر، دارای شواهدی از وجود استئاتوهپاتیت غیر الکلی در اولتراسونوگرافی با درجه استئاتوز بالاتر و مساوی (18)، غلظت آنزیم کبدی (آلانین آمینو ترانسفراز یا ALT) بیشتر از 30 در آقایان و 19 در خانم‌ها، عدم داشتن سابقه مصرف الکل یا مصرف الکل کمتر از 10 گرم در روز در زنان و کمتر از 20 گرم در روز در مردان، عدم ابتلا به سایر بیماری‌ها و اختلالات مزمن و حاد کبدی (هپاتیت B، C و ...)، بیماری صفراوی، بیماری‌های خود ایمنی شناخته شده، سرطان، اختلالات ارثی موثر بر وضعیت کبد (بیماری ذخیره ای آهن و مس و ...)، بیماری‌های قلبی عروقی، ریوی و کلیوی، عدم بارداری یا شیردهی در زنان و یا استفاده از قرص ضد بارداری، عدم مصرف داروهای هپاتوتوکسیک مثل فنی توئین، آموکسی فن و لیتیم، داروهای بالا برنده قند خون یا چربی خون، عدم استفاده از مکمل‌های مولتی ویتامین مینرال، عدم سابقه عمل جراحی کاهش وزن در یکسال اخیر، برنامه کاهش وزن در 3 ماه اخیر، عدم سابقه هیپوتیروئیدیسم و سندرم کوشینگ، معیارهای خروج از پژوهش عبارت بودند از: کاهش بیش از 10% وزن ابتدای مطالعه در طول مدت مداخله، بارداری، عدم تمایل به ادامه همکاری و عدم مصرف بیش از 10% کپسول‌های داده شده در هر پیگیری.

با توجه به مطالعه Soza و همکاران (19) با در نظر گرفتن خطای نوع اول ($\alpha=0/05$) و خطای نوع دوم ($\beta=0/20$) تعداد نمونه برابر با 21 نفر در هر گروه در نظر گرفته شد و با در نظر گرفتن ریزش نمونه در هر گروه 25 نفر تخمین زده شد. در این مطالعه از بیماران مبتلا به کبد چرب مراجعه کننده به کلینیک کبد چرب شهر اصفهان، در صورت دارا بودن معیارهای ورود به مطالعه جهت شرکت در پژوهش دعوت به عمل آمد. در یک جلسه ی توجیهی فواید انجام این پژوهش، هدف از انجام مطالعه، نحوه ی انجام مداخله و طول مدت مطالعه شرح داده شد. سپس از شرکت کنندگان در

مطالعات مختلف 15/3% (4) و 21/5% (5) گزارش شده است.

بر اساس نظریه‌ای موسوم به نظریه "دو ضربه" تبدیل و پیشرفت استئاتوز ساده به استئاتوهپاتیت و فیبروز پیشرفته نتیجه 2 ضربه می‌باشد (6)، که ضربه اول تجمع چربی در کبد که در اثر مقاومت به انسولین ایجاد می‌شود و ضربه دوم ایجاد استرس اکسیداتیو در نتیجه تجمع چربی در کبد است که باعث تسریع در ایجاد التهاب، پیشرفت استئاتوز و فیبروز می‌گردد (2، 7) که می‌تواند در نهایت منجر به سیروز کبدی و مرگ بیمار شود.

در حال حاضر درمان قطعی برای NAFLD وجود ندارد. بنابراین نیاز مبرم جهت پیدا کردن رویکردهای درمانی جدید جهت جایگزینی و یا کمک به درمان‌های موجود کبد چرب احساس می‌شود. وجود استرس اکسیداتیو در پاتوفیزیولوژی کبد چرب مشخص شده است و استفاده از فیتوکمیکال‌ها با خواص آنتی اکسیدانی از رویکردهای جدید مذکور به شمار می‌آید که امروزه از شهرت بسیاری برخوردار است و به عنوان درمان موثر بیماری‌های کبدی تلقی می‌شود. رزوراترول یکی از این مواد می‌باشد (8).

رزوراترول (ترانس ۳، ۴ تری هیدروکسی استیل بن) یک ترکیب پلی فنولیک فیتوآلکسین می‌باشد که در پاسخ به حمله پاتوژن‌ها و استرس محیطی در گیاهان تولید می‌شود (9، 10). مطالعات تجربی و پیش تجربی متعدد اثرات سودمند این ماده را در ممانعت از تجمع چربی و کاهش استرس اکسیداتیو در هپاتوسیت‌ها (9-11) و پیشگیری و درمان کبد چرب در مدل‌های حیوانی (12-17) نشان داده اند. رزوراترول اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی خود را با القا آنزیم‌های آنتی اکسیدان، تعدیل متابولیسم چربی و کاهش پراکسیداسیون چربی اعمال می‌کند (20-22).

با توجه به عدم انجام مطالعه کارآزمایی بالینی در زمینه تجویز رزوراترول در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی و با توجه به اثرات سودمند رزوراترول در پیشگیری و درمان کبد چرب در مطالعات تجربی ذکر شده، و توصیه ی پژوهش‌های پیشین به انجام کارآزمایی‌های بالینی در این زمینه، بر آن شدیم تا به بررسی اثر مکمل رزوراترول بر غلظت آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای التهابی و درجه استئاتوز کبدی در افراد مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بپردازیم. هدف این پژوهش بررسی اثر مصرف 500 میلی گرم رزوراترول بر

محاسبه شد. قبل از شروع مطالعه مجموعه قوطی‌های حاوی کپسول‌های مربوطه توسط فردی غیر از پژوهشگر به صورت A و B کد گذاری شد تا عدم اطلاع محقق از نوع کپسول‌های دریافتی توسط هر گروه (با توجه به دوسوکور بودن مطالعه) رعایت شود.

غلظت سرمی آنزیم‌های کبدی به روش کالریمتری توسط کیت‌های شرکت پارس آزمون اندازه‌گیری شد. غلظت پروتئین واکنشی R با حساسیت بالا (hs-CRP) با کیت شرکت BIONIK ایران به روش الایزا اندازه‌گیری شد.

اطلاعات به دست آمده از طریق پرسشنامه ی یادآمد 24 ساعته خوراک با استفاده از نرم افزار تغذیه‌ای (Nutritionist 4) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون کولموگروف - اسمیرنوف ارزیابی شد. مقایسه ی بین متغیرهای مورد مطالعه در ابتدا و انتهای مطالعه در هر گروه با استفاده از آزمون تی زوجی یا ویلکاکسون و مقایسه ی بین متغیرهای مورد مطالعه ی دو گروه مکمل رزوراترول و دارونما با استفاده از آزمون تی مستقل یا من ویتنی انجام شد. برای ارزیابی ارتباط بین متغیرهای کیفی از آزمون کای 2 (کای اسکور) به کار رفت. همه مقادیر بر اساس میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS₁₆ انجام شد. مقادیر P به صورت دوطرفه محاسبه و $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

افراد مورد مطالعه با آگاهی کامل از طرح و به صورت داوطلبانه وارد مطالعه شدند و رضایت نامه کتبی امضا کردند و مختار بودند تا در هر زمان که تمایل به ادامه همکاری نداشتند، از مطالعه خارج شوند. طبق بررسی در دز تجویز شده هیچ گونه عوارضی از مصرف مکمل رزوراترول یا دارونما در مصرف کنندگان دیده نشد.

اجرای این پژوهش از طرف کمیته ی اخلاق پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به شماره 046468 مورد تایید قرار گرفته است. همچنین در مرکز ثبت کارآزمایی بالینی ایران به شماره IRCT201202014010N7 ثبت شده و از طریق سایت www.irct.ir قابل دسترسی است.

• یافته‌ها

بررسی نحوه توزیع متغیرها نشان داد که همه 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).

مطالعه رضایت نامه ی کتبی گرفته شد. از میان افراد دعوت شده 5 نفر تمایلی به شرکت در مطالعه نداشتند. طی 12 هفته مداخله 1 نفر به علت عدم تمایل به ادامه همکاری از پژوهش حذف شد. در پایان مطالعه نیز یک نفر به علت کاهش بیش از 10% وزن اولیه از مطالعه حذف شد و مجموعاً 48 نفر پژوهش را به پایان رساندند. 24 نفر (6 زن و 18 مرد) در گروه مداخله و 24 نفر (8 زن و 16 مرد) در گروه کنترل در آنالیز نهایی وارد شدند. در ابتدای مطالعه، پرسشنامه ی اطلاعات عمومی برای افراد تکمیل شد و بیماران بر اساس جنس و سن طبقه بندی شدند. هر فرد بر مبنای طبقه‌بندی صورت گرفته با استفاده از روش تقسیم تصادفی ساده در گروه دریافت کننده مکمل رزوراترول یا دریافت کننده دارونما قرار گرفتند. بیماران در گروه دریافت کننده مکمل رزوراترول روزانه یک عدد کپسول رزوراترول یا حاوی 500 میلی‌گرم ترانس رزوراترول خالص (Sumabe, Australia) به صورت ناشتا دریافت کردند. در حالی که به بیماران گروه شاهد روزانه یک عدد کپسول دارونما (حاوی آرد گندم) که از نظر ظاهری مشابه کپسول رزوراترول بود، داده شد.

از تمامی افراد شرکت کننده در مطالعه پس از 10 تا 12 ساعت ناشتایی 5 سی سی خون گرفته شد. بیماران توسط سونولوژیست ناآگاه نسبت به گروه بندی انجام شده، تحت سونوگرافی 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 رژیم قرار گرفتند که انرژی آن 500 تا 1000 کیلوکالری کمتر از انرژی مورد نیاز آنها بر حسب وزن ایده آل تعدیل شده هر فرد بود. این رژیم حاوی 30% چربی، 18% پروتئین و 52% کربوهیدرات بود. طول دوره مداخله 12 هفته بود. در ابتدای مطالعه و در پایان هفته دوازدهم از بیماران 3 روز یادآمد خوراک 24 ساعته (2 روز غیر تعطیل و 1 روز تعطیل) و شدت فعالیت بدنی بر حسب معادل متابولیکی MET (Metabolic Equivalents) بوسیله پرسشنامه فعالیت بدنی تکمیل شد (20) و در ابتدای مطالعه و پایان هفته‌های چهارم، هشتم و دوازدهم شاخص‌های تن سنجی شامل قد (تنها در ابتدای مطالعه)، وزن، دور کمر و باسن با توجه به تعریف WHO اندازه‌گیری شد. BMI افراد از تقسیم وزن به کیلوگرم بر مجذور قد به مترمربع و نسبت دور کمر به باسن (WHR) از تقسیم دور کمر به دور باسن

معنی‌داری کاهش یافت اما دو گروه نسبت به همدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند. شاخص التهابی hs-CRP در گروه مصرف کننده مکمل رزوراترول کاهش معنی‌داری را هم نسبت به ابتدای مطالعه و هم نسبت به گروه مصرف کننده پلاسبو نشان داد ($P_v < 0/05$). اما در گروه مصرف کننده پلاسبو تغییر معنی‌داری نداشت. درجه استئاتوز کبدی در هر دو گروه کاهش معنی‌داری را نشان داد ($P_v < 0/001$). این کاهش در گروه مصرف کننده مکمل رزوراترول به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P_v < 0/05$).

نتایج این مطالعه نشان داد که مصرف روزانه ۱ مکمل رزوراترول به همراه اصلاح شیوه ی زندگی طی ۱۲ هفته باعث کاهش آنزیم‌های کبدی، شاخص التهابی hs-CRP و میزان استئاتوز کبدی می‌شود. که در واقع در بهبود NAFLD نقش مؤثری را ایفا می‌کند. به علاوه، هیچ گونه عوارضی بر اثر مصرف مکمل رزوراترول یا دارونما طی مدت مداخله مشاهده نشد.

میانگین و انحراف معیار وزن، BMI، WHR، میزان انرژی دریافتی و فعالیت بدنی در جدول ۲ نمایش داده شده است. تفاوت معنی‌داری در داخل گروهها برای وزن در هر دو گروه، BMI در گروه دارونما و انرژی دریافتی در گروه رزوراترول در ابتدا و پس از اتمام مداخله دیده شد، ولی این تغییرات بین دو گروه مکمل و دارونما معنی‌دار نبود.

طبق داده‌های مطالعه که در جدول ۳ مشاهده می‌شود سطوح سرمی آنزیم کبدی آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) در هر دو گروه کاهش معنی‌داری را نسبت به شروع مطالعه داشت ($P_v < 0/05$). اما در گروه مصرف کننده مکمل رزوراترول کاهش بیشتری در مقایسه با دارونما نشان داد ($P_v < 0/05$). AST سرم نیز در هر دو گروه کاهش معنی‌داری را نسبت به ابتدای مطالعه نشان داد ($P_v < 0/05$). این کاهش در گروه مصرف کننده مکمل رزوراترول بیشتر بود (درصد کاهش: $-48.27 \pm 20/69$ در گروه رزوراترول و $-21/23 \pm 33/48$ در گروه دارونما) اما در دو گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. سطح GGT سرم در هر دو گروه به طور

جدول ۱. ویژگی‌های فردی و اندازه‌های تن‌سنجی دو گروه مکمل رزوراترول و دارونما پیش از مداخله*

متغیر	مکمل رزوراترول (n=24)	دارونما (n=24)	P-value
سن (سال)	44/04±10/10	46/28±9/52	0/42
قد (سانتی متر)	167/14±9/85	167/82±10/56	0/81
وزن (کیلوگرم)	79/11±10/94	80/63±9/00	0/59
دور کمر (سانتی متر)	95/46±7/78	96/24±7/82	0/89
دور باسن (سانتی متر)	101/13±5/77	100/65±5/97	0/52

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.

جدول ۲. عوامل مخدوش کننده‌ی متابولیکی دو گروه مکمل رزوراترول و دارونما پیش و پس از مداخله*

متغیر	مکمل رزوراترول		دارونما		P ₁ -value	P ₂ -value
	پیش از مداخله	پس از مداخله	پیش از مداخله	پس از مداخله		
وزن (Kg)	79/11±10/94	78/28±11/06	80/63±9/00	79/51±9/49	0/006	0/769
BMI (Kg/m ²)	28/35±3/49	27/96±3/39	28/75±3/5	28/40±3/60	0/065	0/465
نسبت دور کمر به دور باسن	0/94±0/04	0/93±0/04	00/95±0/07	0/95±0/07	0/059	0/199
انرژی دریافتی (کالری)	2265±376/46	2049/30±402/48	2251±317/17	2131/14±302/200	0/000	0/071
شدت فعالیت بدنی (MET.h/d)	30/824±2/88	30/68±3/11	30/832±1/42	30/65±1/34	0/549	0/977

مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار گزارش شده است.*

P₁-value: تفاوت در مقایسه با شروع مطالعه در داخل هر گروه (آزمون T زوج)
P₂-value: تفاوت میانگین تغییرات بین گروه‌های مورد مطالعه (آزمون T مستقل)

جدول 3. آنزیم‌های کبدی، شاخص‌های التهابی و میزان استئاتوز کبدی دو گروه مکمل رزوراترول و دارونما پیش و پس از مداخله *

P ₂ -value	P ₁ -value	دارونما			P ₁ -value	مکمل رزوراترول			متغیر
		درصد تغییرات	پس از مداخله	پیش از مداخله		درصد تغییرات	پس از مداخله	پیش از مداخله	
0/04	0/04	-13/54±45/00	33/92±16/43	45/08±21/70	0/00	-32/38±25/63	36/67±15/56	61/12±39/08	(U/L) ALT
0/04	0/002	-21/23±33/48	21/04±5/53	28/72±9/47	0/00	-27/48±20/69	22/62±6/41	33/28±14/24	(U/L) AST
0/77	0/04	-18/23±22/41	42/08±39/51	47/79±38/90	0/001	-16/13±27/82	28/33±11/18	35/16±14/77	(U/L) GGT
شاخص‌های التهابی									
0/04	0/95	-2/00±45/61	3/40±2/13	3/20±1/85	0/00	-25/29±31/31	2/11±0/96	3/02±1/44	hs-CRP (ng/mL)
0/02	0/00		0/3/13/8	2/9/14/0	0/00		0/2/10/12	5/12/8/0	درجه استئاتوز کبدی (3/2/1/0)

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شده است.*

P₁-value: تفاوت در مقایسه با شروع مطالعه در داخل هر گروه (آزمون T زوج یا ویلکاکسون)P₂-value: تفاوت میانگین تغییرات بین گروه‌های مورد مطالعه (آزمون T مستقل یا من ویتنی)

• بحث

با توجه به شواهد موجود، این اولین مطالعه‌ی کارآزمایی بالینی تصادفی شاهددار دوسوکور است که اثر مکمل رزوراترول را همراه با مداخله شیوه زندگی (رژیم غذایی و توصیه‌های ورزشی) روی آنزیم‌های کبدی، فاکتورهای التهابی و میزان استئاتوز کبدی در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی بررسی کرده است. در پژوهش حاضر مصرف 500 میلی گرم ترانس رزوراترول خالص با کاهش سطح آنزیم کبدی ALT و فاکتور التهابی hs-CRP و کاهش درجه استئاتوز کبدی نسبت به دارونما در بیماران مبتلا به کبد چرب غیر الکلی همراه بود. اثر رزوراترول در بهبود NAFLD را با توجه به کاهش سطح فاکتور التهابی hs-CRP می‌توان به اثرات آنتی اکسیدانی و ضد التهابی آن نسبت داد.

در مطالعه‌ای که در سال 2008 توسط Shang و همکاران به چاپ رسید مکانیسم اثر رزوراترول بر بهبود کبد چرب غیرالکلی بررسی شد. سلول‌های HepG2 کبد انسان با انسولین (100nmol/l) و گلوکز (25nmol/l) در حضور و عدم حضور رزوراترول (50 mol/lμ) به مدت 24 ساعت انکوبه شدند. انکوباسیون سلول‌ها با گلوکز و انسولین باعث تجمع چربی در سلول‌های کبدی می‌شود (شبیه به حالتی که در کبد چرب غیر الکلی اتفاق می‌افتد) و اضافه کردن رزوراترول به محیط کشت از تجمع TG در سلول‌های HepG2 از طریق فعالسازی AMPK (AMP-activated protein kinase) و تنظیم کاهشی بیان ژن Fatty Acid سنتز جلوگیری کرد (21).

در سال‌های اخیر مطالعات زیادی اثرات بالقوه رزوراترول در کاهش آنزیم‌های کبدی و محتوای چربی کبد را در مدل‌های حیوانی گزارش کرده‌اند. در مطالعه Bujanda و همکاران (16) کاهش معنی‌دار ALT، و تجمع چربی در هپاتوسیت‌ها را در اثر مصرف (10 mg/kg) رزوراترول در مدل حیوانی کبد چرب غیرالکلی مشاهده کردند. همچنین، در این مطالعه، میزان TNF-α، MDA و نیتریک اکساید سنتز در کبد رت‌های گروه مصرف کننده رزوراترول در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت درحالی که میزان آنزیم‌های آنتی اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز افزایش یافت (16).

رزوراترول همچنین باعث ممانعت از افزایش ALT، AST و GGT در رت‌های دیابتی (ناشی از مصرف استرپتوزتوسین) شد (22) و کبد را از آسیب اکسیداسیون (با افزایش فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) محافظت کرد. در مطالعه دیگری رزوراترول از افزایش ALT و AST در خوک‌هایی که رژیم هایپر کسترولمیک مصرف می‌کردند، جلوگیری کرد (23) محتوای چربی کبد نیز کاهش یافت. در این مطالعه عنوان شد که رزوراترول با کاهش استرس اکسیداتیو قادر است کبد را در برابر NAFLD محافظت کند. Gomez-Zorita و همکاران (24) کاهش نسبت AST/GOT، ALT/GPT، کاهش محتوای چربی سلول‌های کبدی و کاهش وزن کبد و کاهش استرس اکسیداتیو در کبد با (thiobarbituric acid reactive substrates) TBARS مصرف 15kg/mg رزوراترول در رت‌های fa/fa Zucker را

لیپیدی کبد با مصرف رزوراترول نیز در مطالعات حیوانی دیگر نیز دیده شده است (29-31).

در مطالعه ما مصرف 12 هفته مکمل رزوراترول با کاهش معنی‌دار hs-CRP همراه بود. نتایج ما با مطالعه Bo و همکاران (32) همسو بود که در آن مصرف 500 میلی گرم رزوراترول در افراد سالم سیگاری باعث بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و کاهش hs-CRP شد. در یک مطالعه انسانی دیگر، مصرف 150 میلی گرم رزوراترول به مدت 30 روز با کاهش برخی فاکتورهای التهابی سیستمیک نظیر $\text{TNF-}\alpha$ و IL-6 همراه بود (33). در مطالعه دیگری با مصرف عصاره انگور (حاوی پلی فنول‌های انگور و 8 میلی گرم رزوراترول) کاهش 8% و 18% در hs-CRP به ترتیب طی 6 و 12 ماه در افراد مبتلا بیماری عروق کرونر دیده شد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (34).

از آن جا که استاندارد طلایی تشخیص کبد چرب غیرالکلی بیوپسی از کبد می‌باشد، یکی از محدودیت‌های این مطالعه را می‌توان عدم استفاده از بیوپسی در تشخیص و پیگیری بیماران دانست. که با توجه به تهاجمی بودن این روش و عدم پذیرش از سوی بیماران، استفاده از بیوپسی امکان پذیر نبود. این مطالعه اولین کارآزمایی بالینی می‌باشد که اثر مصرف مکمل رزوراترول را بر بیماری کبد چرب غیر الکلی بررسی می‌کند. رزوراترول مورد استفاده در این مطالعه به صورت خالص و به فرم ترانس بود که جذب بهتری دارد. در مجموع، این کارآزمایی بالینی تصادفی شاهد دار دوسوکور از نظر آماری تأثیر مطلوب معنی‌دار مکمل‌یاری با رزوراترول بر افزایش اثربخشی مداخله در شیوه ی زندگی (کاهش وزن و افزایش فعالیت بدنی) در مقایسه با مداخله در شیوه زندگی به تنهایی را نشان داد. از آن جا این اولین مطالعه انسانی (کارآزمایی بالینی) می‌باشد که به بررسی اثر مکمل یاری با رزوراترول بر کبد چرب غیر الکلی می‌پردازد، انجام مطالعات دیگر با حجم نمونه بیشتر و با دوزهای مختلف رزوراترول و مدت زمان طولانی تر جهت حصول نتیجه کاربردی، پیشنهاد می‌شود.

سپاسگزاری: از مسئولان محترم انستیتو تحقیقات تغذیه و صنایع غذایی کشور برای تامین هزینه این طرح سپاسگزاری می‌شود. از مسئولان و کارکنان محترم مرکز تحقیقات صدیقه طاهره اصفهان و درمانگاه کبد چرب اصفهان به خاطر همکاری در اجرای این پژوهش قدردانی می‌شود.

گزارش کردند. TBARS از پرکاربردترین مارکرهای پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو می‌باشد و کاهش آن نشان دهنده اثرات آنتی اکسیدانی رزوراترول در کبد می‌باشد (24).

در مورد آسیب کبدی ایجاد شده به وسیله دی نیتروزامین، رزوراترول اثرات متناقضی را نشان داده است (30، 31). در مطالعه Hong و همکاران (25) بهبودی در سطح آنزیم‌های کبدی با مصرف رزوراترول مشاهده نشد در حالی که Lee و همکاران (26) کاهش معنی‌دار ALT و AST را با مصرف رزوراترول در فیبروز کبدی ایجاد شده مشاهده کردند. در این مطالعه همچنین رزوراترول قادر به کم کردن غلظت بیلی روبین سرم بود.

در این مطالعه ما مشاهده کردیم که مصرف 12 هفته مکمل رزوراترول علاوه بر اصلاح شیوه زندگی قادر به بهبود معنی‌دار استئاتوز کبدی نسبت به گروه دارونما شد. نتایج این مطالعه در تضاد با مطالعه Poulsen و همکاران می‌باشد که عدم تأثیر 1500 میلی گرم رزوراترول به مدت 4 هفته اثری بر محتوای چربی کبد در افراد چاق و سالم نداشت (27). در مورد استفاده در این مطالعه 3 برابر مطالعه ماست (1500 میلی گرم در برابر 500 میلی گرم). شاید بتوان عدم تأثیر رزوراترول در این مطالعه را به نرمال بودن اولیه محتوای چربی کبد در این افراد سالم و چاق و یا مدت کوتاه مطالعه نسبت داد. کاهش استئاتوز کبدی با مصرف رزوراترول در چندین مطالعه در مدل‌های حیوانی گزارش شده است.

Ahn و همکاران (28) گزارش کردند محتوای چربی و TG کبد در گروه مصرف کننده رژیم اتروژنیک به علاوه رزوراترول نسبت به گروه دریافت کننده رژیم اتروژنیک به تنهایی کاهش داشت. بهبود واضح درجه استئاتوز ($1/5 \pm 0/1$ در برابر $3/3 \pm 0/1$, $P < 0/01$) و نکروز التهابی (necroinflammation) ($1/2 \pm 0/1$ در برابر $2/3 \pm 0/1$, $P < 0/01$) در کبد موش‌های مصرف کننده رژیم اتروژنیک به علاوه رزوراترول نسبت به گروه دریافت کننده رژیم اتروژنیک دیده شد (28).

مصرف 10 هفته ای رزوراترول در رت‌های دریافت کننده رژیم پرچرب و پر سوکروز با کاهش تجمع چربی و بهبود خواص هیستولوژیکی کبد همراه بود (9). کاهش محتوای

• References

1. McClain CJ, Mokshagundam SPL, Barve SS, Song Z, Hill DB, Chen T, et al. Mechanisms of non-alcoholic steatohepatitis. *Alcohol* (Fayetteville, NY). 2004;34(1):67-79.
2. Petta S, Muratore C, Craxì A. Non-alcoholic fatty liver disease pathogenesis: The present and the future. *Digestive and Liver Disease*. 2009;41(9):615-25.
3. Adams LA, Angulo P. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Postgraduate Medical Journal*. 2006 May 1, 2006;82(967):315-22.
4. Ahad Eshraghian M, EshraghianMD H, OmraniMD GR. Nonalcoholic Fatty Liver Disease in a Cluster of Iranian Popula-tion: Thyroid Status and Metabolic Risk Factors. *Archives of Iranian medicine*. 2013;16(10):584-9.
5. Lankarani KB, Ghaffarpasand F, Mahmoodi M, Lotfi M, Zamiri N, Heydari ST, et al. Non Alcoholic Fatty Liver Disease in Southern Iran: A Population Based Study. *Hepatitis monthly*. 2013;13(5):e9248.
6. Day CP, James O. Steatohepatitis: a tale of two" hits"? *Gastroenterology*. 1998;114(4):842.
7. Videla LA, Rodrigo R, Araya J, Ponichik J. Oxidative stress and depletion of hepatic long-chain polyunsaturated fatty acids may contribute to nonalcoholic fatty liver disease. *Free Radical Biology and Medicine*. 2004;37(9):1499-507.
8. Vitaglione P, Morisco F, Caporaso N, Fogliano V. Dietary antioxidant compounds and liver health. *Critical reviews in food science and nutrition*. 2005;44(7-8):575-86.
9. Shang J, Chen LL, Xiao FX, Sun H, Ding HC, Xiao H. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMP-activated protein kinase. *Acta pharmacologica Sinica*. 2008 Jun;29(6):698-706. PubMed PMID: 18501116. Epub 2008/05/27. eng.
10. Rubiolo JA, Mithieux G, Vega FV. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against oxidative stress damage: activation of the Nrf2 transcription factor and augmented activities of antioxidant enzymes. *European journal of pharmacology*. 2008 Sep 4;591(1-3):66-72. PubMed PMID: 18616940. Epub 2008/07/12. eng.
11. Rubiolo JA, Vega FV. Resveratrol protects primary rat hepatocytes against necrosis induced by reactive oxygen species. *Biomedicine & pharmacotherapy Biomedecine & pharmacotherapie*. 2008. Nov;62(9):606-12. PubMed PMID: 18674878. Epub 2008/08/05. eng.
12. Kopeć A, Piatkowska E, Leszczyńska T, Koronowicz A. Effect of long term administration of resveratrol on lipid concentration in selected organs and liver's histology in rats fed high fructose diet. *Journal of Functional Foods*. 2013;5(1):299-305.
13. Poulsen MM, Larsen JØ, Hamilton-Dutoit S, Clasen BF, Jessen N, Paulsen SK, et al. Resveratrol up-regulates hepatic uncoupling protein 2 and prevents development of nonalcoholic fatty liver disease in rats fed a high-fat diet. *Nutrition Research*. 2012;32(9):701-8.
14. Alberdi G, Rodriguez VM, Macarulla MT, Miranda J, Churrua I, Portillo MP. Hepatic lipid metabolic pathways modified by resveratrol in rats fed an obesogenic diet. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif). 2013 Mar;29(3):562-7. PubMed PMID: 23274094. Epub 2013/01/01. eng.
15. Cho SJ, Jung UJ, Choi MS. Differential effects of low-dose resveratrol on adiposity and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. *The British journal of nutrition*. 2012 Dec 28;108(12):2166-75. PubMed PMID: 22414733. Epub 2012/03/15. eng.
16. Bujanda L, Hijona E, Larzabal M, Beraza M, Aldazabal P, Garcia-Urria N, et al. Resveratrol inhibits nonalcoholic fatty liver disease in rats. *BMC gastroenterology*. 2008;8:40. PubMed PMID: 18782455. Pubmed Central PMCID: 2547101. Epub 2008/09/11. eng.
17. Ajmo JM, Liang X, Rogers CQ, Pennock B, You M. Resveratrol alleviates alcoholic fatty liver in mice. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2008 Oct;295(4):G833-42. PubMed PMID: 18755807. Pubmed Central PMCID: 2575919. Epub 2008/08/30. eng.
18. Obika M, Noguchi H. Diagnosis and evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. *Experimental Diabetes Research*. 2011;2012:1-12.
19. Soza A, Riquelme A, González R, Alvarez M, Pérez-ayuso RM, Glasinovic JC, et al. Increased orocecal transit time in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Digestive diseases and sciences*. 2005;50(6):1136-40.
20. Jing SHANG L-IC, Fang-xi XIAO, Hui SUN, Hong-cheng DING, Hu XIAO. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMPactivated protein kinase1. *Acta Pharmacol Sin*. 2008;29(6):698-706.

21. Schmatz R, Perreira LB, Stefanello N, Mazzanti C, Spanevello R, Gutierrez J, et al. Effects of resveratrol on biomarkers of oxidative stress and on the activity of delta aminolevulinic acid dehydratase in liver and kidney of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biochimie*. 2012 Feb;94(2):374-83. PubMed PMID: 21864646. Epub 2011/08/26 .eng.
22. Burgess TA, Robich MP, Chu LM, Bianchi C, Sellke FW. Improving glucose metabolism with resveratrol in a swine model of metabolic syndrome through alteration of signaling pathways in the liver and skeletal muscle. *Archives of surgery (Chicago, Ill : 1960)*. 2011 May;146(5):556-64. PubMed PMID: 21739664. Pubmed Central PMCID: 3285438. Epub 2011/07/09. eng.
23. Gómez-Zorita S, Fernández-Quintela A, MacArulla MT, Aguirre L, Hijona E, Bujanda L, et al. Resveratrol attenuates steatosis in obese Zucker rats by decreasing fatty acid availability and reducing oxidative stress. *British Journal of Nutrition*. 2012;107(2):202-10.
24. Hong SW, Jung KH, Zheng HM, Lee HS, Suh JK, Park IS, et al. The protective effect of resveratrol on dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in rats. *Archives of pharmacal research*. 2010 Apr;33(4):601-9. PubMed PMID: 20422370. Epub 2010/04/28. eng.
25. Lee ES, Shin MO, Yoon S, Moon JO. Resveratrol inhibits dimethylnitrosamine-induced hepatic fibrosis in rats. *Archives of pharmacal research*. 2010 Jun;33(6):925-32. PubMed PMID: 20607498. Epub 2010/07/08. eng.
26. Poulsen MM, Vestergaard PF, Clasen BF, Radko Y, Christensen LP, Stødkilde-Jørgensen H, et al. High-Dose Resveratrol Supplementation in Obese Men An Investigator-Initiated, Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial of Substrate Metabolism, Insulin Sensitivity, and Body Composition. *Diabetes*. 2013;62(4):1186-95.
27. Ahn J, Cho I, Kim S, Kwon D, Ha T. Dietary resveratrol alters lipid metabolism-related gene expression of mice on an atherogenic diet. *Journal of hepatology*. 2008;49(6):1019-28.
28. Rivera L, Morón R, Zarzuelo A, Galisteo M. Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. *Biochemical pharmacology*. 2009;77(6):1053-63.
29. Tauriainen E, Luostarinen M, Martonen E, Finckenberg P, Kovalainen M, Huotari A, et al. Distinct effects of calorie restriction and resveratrol on diet-induced obesity and Fatty liver formation. *Journal of nutrition and metabolism*. 2011;2011:525094. PubMed PMID: 21977315. Pubmed Central PMCID: 3184417. Epub 2011/10/07. eng.
30. Cho IJ, Ahn JY, Kim S, Choi MS, Ha TY. Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochemical and biophysical research communications*. 2008;367(1):190-4.
31. Bo S, Ciccone G, Castiglione A, Gambino R, De Micheli F, Villosio P, et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Effects of Resveratrol in Healthy Smokers A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Cross-Over Trial. *Current medicinal chemistry*. 2013;20(10):1323-31.
32. Timmers S, Konings E, Bilet L, Houtkooper RH, Van De Weijer T, Goossens GH, et al. Calorie restriction-like effects of 30 days of resveratrol supplementation on energy metabolism and metabolic profile in obese humans. *Cell Metabolism*. 2011;14(5):612-22.
33. Tomé-Carneiro J, González M, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, García-Almagro FJ, Ruiz-Ros JA, et al. Grape resveratrol increases serum adiponectin and downregulates inflammatory genes in peripheral blood mononuclear cells: a triple-blind, placebo-controlled, one-year clinical trial in patients with stable coronary artery disease. *Cardiovascular Drugs and Therapy*. 2013;27(1):37-48.

Effects of dietary resveratrol supplementation on liver enzymes, hs-CRP, and hepatic steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease

Faghihzadeh F¹, Adibi P², Hekmatdoost A^{3*}

- 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- Prof., Integrative Functional Gastroenterology Research Center, Isfahan University of medical Sciences, Isfahan, Iran
- 3- *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 1 Dec, 2013

Accepted 5 Jan, 2014

Background and Objective: Resveratrol is an antioxidant compound that has been shown to be effective in the management of some diseases. The present study investigated the effects of resveratrol supplementation on serum liver enzymes, inflammatory factors, and the degree of hepatic steatosis in patients with nonalcoholic fatty livers.

Materials and Methods: Fifty patients with NAFLD were randomly assigned to groups that received either resveratrol or a placebo. All patients received 1 capsule (resveratrol or placebo) daily. Both groups were advised to follow an energy-balanced diet and to be physically active. Liver enzymes, inflammatory markers, hepatic steatosis, anthropometric measurements and physical activity were assessed at baseline and at the end of the study. The SPSS 16 and Kolmogorov-Smirnov, paired t-test, t-test and chi-2 were used for data analysis.

Results: No significant differences were observed for the monitored variables between the two groups at baseline. After treatment, the group consuming dietary resveratrol supplementation showed a statistically significant decrease over the control group for ALT and hs-CRP ($p < 0.05$). Ultrasonography also showed a significant decrease in the level of steatosis in the resveratrol group over the placebo group ($p < 0.05$).

Conclusion: The positive effects of resveratrol supplementation in improving liver enzyme values and the degree of hepatic steatosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease suggest that it can be recommended for such patients.

Keywords: NAFLD, Resveratrol, hs-CRP