Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

ORIGINAL ARTICLE

PPARγ Gene Expression Changes in Patients with Coronary Artery Disease

Atena Ramezani[1]
Mahmood Djalali[2]

[1] Assistant Professor of Nutrition, Diabetes Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Professor, Department of Molecular and Cellular Nutrition, School of Nutritional Sciences and Dietetics, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received May 15, 2016 ; Accepted October 30, 2016)

Abstract

Background and purpose: Peroxisome proliferation-activated receptors (PPARγ) are a class of ligand-dependent nuclear receptors, which act as transcription factors. In fact, the increased activity of PPARγ, can increase the expression and secretion of adiponectin but in patients with coronary artery disease these levels are reduced. This study was conducted to investigate the effect of omega-3 and vitamin E on the expression of this gene.

Materials and methods: This double-blind, parallel clinical trial was conducted on 62 patients with coronary artery disease in Cardiovascular Research Center of Tehran in 2013. The patients were divided into three groups to receive n-3 fatty acids and n-3 and vitamin E combination therapy, and placebo (edible paraffin) for 8 weeks. The PPARγ expression was investigated in peripheral blood mononuclear cell (PBMC) at first and after 8 weeks. As well as, Consumption data and statistical tests were analyzed using Nutritionist IV and SPSS V.18, respectively.

Results: At the end of the study, the PPARγ gene expression in PBMC significantly increased in the groups receiving n-3 fatty acids and n-3 and vitamin E combination therapy compared with baseline (P=0.029 and P=0.038, respectively). Also, significant differences were observed between the three groups (P=0.027)

Conclusion: During eight weeks of treatment, the expression of PPARγ in the groups receiving omega-3 fatty acids with or without vitamin E increased in patients with coronary artery disease.

Keywords: PPARγ, n-3 fatty acid, coronary artery disease, gene expression

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26 (142): 68-81 (Persian).

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۴۲ آبان سال ۱۳۹۵ (۸۱-۶۸)

تغییرات بیان ژن PPARγ در بیماران با اختلال عروق کرونر قلب

آتنا رمضانی[۱]
محمود جلالی[۲]

چکیده

سابقه و هدف: گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزوم‌ها (PPARγ) گروهی از گیرنده‌های هسته‌ای وابسته به لیگاند هستند که به عنوان عوامل نسخه برداری عمل می‌کنند. در واقع افزایش فعالیت PPARγ سبب افزایش بیان و ترشح آدیپونکتین می‌شود که در بیماران با اختلالات کرونر قلب این فاکتور کاهش می‌یابد. لذا این تحقیق با هدف تاثیر مکمل امگا ۳ و ویتامین E بر بیان این ژن صورت گرفت.

مواد و روش‌ها: این تحقیق یک مطالعه کارآزمایی بالینی دوسوکور و موازی بر روی ۶۲ بیمار مبتلا به اختلال عروق کرونر قلب در مرکز تحقیقات قلب تهران در سال ۱۳۹۲ می باشد. بیماران به سه گروه دریافت کننده اسید چرب n-3 و گروه دریافت کننده توام n-3 و ویتامین E و دارونما (پارافین خوراکی) به مدت ۸ هفته تقسیم شدند. بیان ژن PPARγ در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) در ابتدا و انتهای هفته هشتم اندازه گیری شد. داده‌های بررسی مصرف با Nutritionist IV و آزمون‌های آماری با نرم افزار (SPSS:18 Inc.,Chicago,USA) مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: بیان ژن PPARγ در PBMC در دو گروه مداخله امگا ۳ و توام امگا ۳ و ویتامین E، در انتهای مطالعه نسبت به ابتدای مطالعه به طور معنی داری افزایش یافت (به ترتیب p=۰/۰۲۹ و p=۰/۰۳۸). هم‌چنین بین سه گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده گردید (p=۰/۰۲۷).

استنتاج: مصرف چهار کپسول حاوی اسید چرب امگا ۳ با و یا بدون ویتامین E در مدت ۸ هفته مکمل یاری سبب افزایش بیان ژن PPARγ در این بیماران گردید.

واژه های کلیدی: PPARγ، اسید چرب امگا ۳، اختلال عروق کرونر قلب، بیان ژن

مقدمه

بیماری عروق کرونر(Coronary artery disease-CAD) نتیجه تجمع پلاک‌های آتروماتوز (Atheromatosis plaque) درون دیواره‌های عروق کرونری است که تغذیه کننده میوکارد (ماهیچه قلبی) با اکسیژن و مواد مغذی است(۱). CAD عامل بسیاری از مرگ و میرها در جهان است. در بسیاری از افراد مبتلا به این بیماری، سال‌ها طول می‌کشد تا در نهایت بیماری در زمان پیشروی آن به صورت برخی نشانه‌ها از جمله حمله قلبی بروز کند. این بیماری یکی از علل عمده مرگ و میرهای آنی است(۲). امروزه بیماری قلبی عروقی اولین عامل مرگ و میر و پنجمین عامل از کارافتادگی و ناتوانی در دنیا می‌باشد(۵-۳). درصد کل مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی

مولف مسئول: آتنا رمضانی– ساری، کیومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاه پیامبر اعظم(ص)، دانشکده بهداشت Email: ramezaniatena@yahoo.com
۱. استادیار، دکترای علوم تغذیه، مرکز تحقیقات دیابت، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. استاد، گروه تغذیه سلولی مولکولی، دانشکده تغذیه و رژیم شناسی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۵/۲/۲۶ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۵/۳/۱۰ تاریخ تصویب : ۱۳۹۵/۸/۹

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

در طی قرن بیستم، از ۱۰ درصد به ۳۰ درصد رسیده است و پیش‌بینی می‌شود که عامل بیش از ۲۳/۶ میلیون از موارد مرگ و میر درجوامع مختلف سال ۲۰۳۰ میلادی، بیماری‌های قلبی و عروقی باشد(۶-۴).

در ایران بیماری‌های قلبی و عروقی، اولین و شایع ترین علت مرگ و میر در تمام سنین و در هر دو جنس است؛ به‌طوری که روزانه حدود ۳۱۷ مورد از ۷۰۰-۸۰۰ مرگ در کشور به علت این بیماری می‌باشد(۷). هم‌چنین مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۹، میزان شیوع بیماری قلبی عروقی در تهران را ۲۱/۸ درصد (۲۲/۳ درصد در زنان و ۱۸/۸ درصد در مردان) نشان داد(۸).

تغذیه نقش حیاتی در سلامت بیماران مبتلا به اختلالات قلبی و عروقی دارد(۹،۵،۴). در حقیقت مصرف اسیدهای چرب n-3 موجود در منابع غذایی با کاهش پاسخ‌های التهابی، بهبود عملکرد اندوتلیال، کاهش ترمبوز و کاهش رشد پلاک‌های آترواسکلروز در این بیماران مفید به نظر می‌رسد(۱۰،۵،۴). اسیدهای چرب امگا ۳ از نوع ایکوزاپنتانوئیک اسید (EPA) و دکوزاهگزانوئیک اسید (DHA)، با افزایش دادن سطح HDL-C، غلظت آدیپوکین‌ها و سیتوکین‌های ضد التهابی، کاهش دادن غلظت‌تری گلیسرید، LDL های کم چگالی، غلظت پروتئین التهابی سیتوکین و پروتئین C واکنشگر، سبب کاهش عوارض در بیماران مبتلا به قلبی عروق می‌شود(۱۲،۱۱،۵،۴). گیرنده‌های فعال‌کننده پرولیفراسیون پروکسیزوم (Peroxisome proliferator–activated receptors یا PPAR) عوامل نسخه برداری هسته ای وابسته به لیگاند هستند که اثرات متعدد بیولوژیکی و فیزیولوژیکی در هومئوستاز گلوکز، لیپیدها، التهاب و ترمیم زخم و درییماری‌های سرطان، دیابت، آترواسکلروز و چاقی دارند(۱۳). سه ایزوفرم PPAR در انسان شناخته شده است که توسط ژن‌های متعدد از جمله PPARβ، PPARα و γ PPAR کد می‌شوند. PPAR ها با گیرنده رتینوئیک اسید، هترودایمر تشکیل می‌دهند و با المان‌های پاسخی خاصی در نواحی پروموتر ژن‌های هدف، برهمکنش می‌کنند و بیان ژن مربوطه را افزایش و یا کاهش می‌دهند(۱۴). البته PPAR ها می‌توانند بدون اتصال به مولکول DNA، با تداخل در مسیرهای سیگنالی، بیان ژن را سرکوب کنند(۱۵). اگرچه PPARها هومولوژی ساختمانی زیادی دارند، اما به نظر می‌رسد هر ایزوفرم، عملکرد فیزیولوژیکی خاصی دارد و از نظر وابستگی به لیگاند، بیان و ظهور و فعالیت های مختلف متابولیک متفاوت هستند(۹). γ PPAR سبب افزایش فعالیت سلول‌های بتای پانکراس و افزایش حساسیت به اعمال متابولیک انسولین می‌شود(۹). هورمون آدیپونکتین که از آدیپوسایتوکین‌های مترشحه از بافت چربی (آدیپوسیت‌ها) می‌باشد، تنها آدیپوکین با ویژگی‌های ضد التهابی و ضد آتروژنیک است که تنظیم و ترشح این پروتئین در بیماری قلبی و عروقی دچار اختلال می‌شود(۱۸،۵،۴-۱۶). بررسی‌ها نشان داده است افزایش فعالیت PPARγ سبب افزایش بیان و ترشح آدیپونکتین و سبب تنظیم سیستم این آدیپوکین در بیماری‌های قلبی و عروقی می‌گردد(۲۰،۱۹،۱۷،۱۶). در سال ۲۰۰۳، Iwaki و همکارانش، افزایش بیان ژن آدیپونکتین توسط رسپتورهای هسته‌ای به خصوص PPARγ را گزارش کردند و در نهایت به وجود عناصر پاسخ دهنده‌ی PPARγ در ناحیه‌ی پروموتر ژن آدیپونکتین اشاره کردند(۲۱).

در مطالعه انجام شده در rat های چاق که با ۳۵۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم ویتامین E درمان شده بودند، هم بیان mRNA و هم پروتئین آدیپونکتین در گردش پلاسمایی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. در این مطالعه بر نقش ویتامین E در افزایش آدیپونکتین از طریق افزایش فعالیت PPARγ اشاره کردند که در حقیقت غیرمرتبط با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ویتامین E می‌باشد(۲۲). PPARγ نقش مهمی را در افزایش حساسیت به انسولین و فعالیت پروموتر آدیپونکتین انسانی (حاوی یک PPRE) بازی می‌کند(۲۳). القای PPARγ با واسطه ویتامین E می‌تواند مقدار در دسترس PPARγ را برای باند شدن به PPRE

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

در ناحیه پروموتر آدیپونکتین افزایش دهد و علاوه بر این فعالیت، PPARγ برای رونویسی ژن آدیپونکتین لازم می‌باشد. ویتامین E علاوه بر افزایش سطح PPARγ در دسترس برای باند شدن، در فعالیت وابسته به لیگاند PPARγ برای رونویسی ژن‌های هدف مرتبط با PPARγ از جمله آدیپونکتین نیز نقش دارد(۲۳). تحقیقات بسیاری در این زمینه بر سطح سلول‌های آدیپوسیت و در نمونه‌های حیوانی انجام شده ولی تا به حال مطالعه‌ای تاثیر مصرف اسید چرب n-3 و یا توام اسید چرب n-3 و ویتامین E بر بیان ژن PPARγ را با هدف کنترل سطح برخی آدیپوکاین‌ها از جمله آدیپونکتین در سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC) مردان مبتلا به CAD مورد بررسی قرار نداد.

مواد و روش ها

بیماران

این تحقیق یک مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی شاهددار و دو سوکور بود که بر روی ۶۲ مرد ۶۵-۴۵ سال مراجعه کننده به مرکز قلب شهر تهران با BMI کم‌تر از ۳۰، مبتلا به بیماری قلبی و عروقی با تنگی بیش از ۵۰ درصد در حداقل یکی از عروق کرونری، ثابت شده با آنژیوگرافی در سه ماه اخیر انجام شد. بیماران غیر سیگاری بوده و هیچ نوع مکمل رژیمی یا ویتامینی را دست کم از ۶-۴ هفته پیش از مداخله مصرف نکردند. هم‌چنین مبتلا به بیماری کلیوی، کبدی، دیابت، سرطان و اختلالات تیروئیدی نبودند. از داروهای آگونیست PPARγ از جمله تیازولیدین دیون (TZDs) و فیبرات‌ها و داروهای بلوکه‌کننده تیپ ۱ رسپتور آنژیوتانسین استفاده نمی‌کردند و علاوه بر این‌ها، مکمل‌هایی از جمله اسید چرب امگا ۳ و یا روغن ماهی و ویتامین E را نیز سه ماه قبل از درمان مصرف نمی‌کردند. مکمل‌ها طی دو مرحله به بیماران تحویل داده شد. به منظور اطلاع یافتن از مصرف مرتب مکمل در طول طرح، هر دو هفته یکبار با بیماران تماس گرفته می‌شد تا از بروز مشکلات احتمالی اطلاع حاصل گردد. مصرف کم‌تر از ۹۰ درصد از مکمل در پایان ده هفته به عنوان غیر موافق (Non-compliant) در نظر گرفته می‌شد؛ تمامی شرکت‌کنندگانی که طرح را به پایان رساندند، بیش از این سطح را مصرف نموده بودند. جهت اجرای روش دو سوکور، فرد سومی قوطی‌ها را با مکمل و یا دارونما کد گذاری کرد و در اختیار پژوهشگر قرار داد. قابل ذکر می‌باشد که تا انتهای پژوهش، بیمار و پژوهشگر از محتوای قوطی‌ها اطلاع نداشتند.

این تحقیق توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران با شماره ۸۶۶۸۶ مورد تایید قرار گرفت و هم‌چنین در مرکز کارآزمایی بالینی ایران با شماره IRCT2013080514273N1 ثبت گردید.

بیماران مذکور پس از تکمیل برگه رضایت نامه کتبی وارد مطالعه شدند. اهداف و روش کار برای مردان شرکت‌کننده در این مطالعه توضیح داده شد. تاریخچه پزشکی، آزمایشات بیوشیمیایی و وضعیت آنتروپومتریک آنان سنجیده شد و براساس مطابقت با معیارهای ورود، وارد مطالعه شدند. بیماران به روش Randomized Permuted Block به سه گروه تقسیم شدند (تصویر شماره ۱):

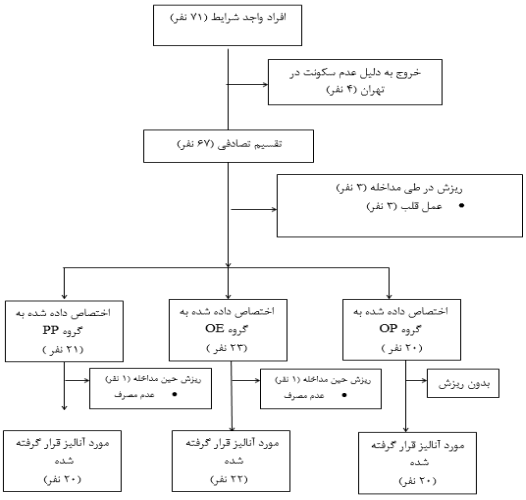
-گروه اول، دریافت‌کننده مکمل n-3 (OP)، به مدت ۸ هفته روزانه ۴ گرم امگا ۳ (softgel) و یک عدد پلاسبوی ویتامین E همراه با ناهار و شام دریافت کردند.

-گروه دوم، دریافت‌کننده توام مکمل n-3 و ویتامین E (OE)، به مدت ۸ هفته روزانه ۴ گرم n-3 و ۱ کپسول ویتامین E به شکل کپسول ژل نرم (softgel)، همراه با ناهار و شام دریافت کردند.

-گروه سوم دریافت‌کننده دارونما (پارافین خوراکی یا PP) به مدت ۸ هفته روزانه دارونمای n-3 و دارونمای ویتامین E به شکل کپسول ژل نرم (softgel) همراه با ناهار و شام دریافت کردند(۵،۴). پرسشنامه اطلاعات عمومی شامل سن، زمان تشخیص بیماری و طول مدت بیماری تکمیل گردید. در ابتدا و انتهای

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

مداخلـه نیـز یادآمـد خـوراک ۲۴ سـاعته، فـرم ثبـت نمایه‌های تن سنجی و پرسشـنامه فعالیـت فیزیکـی IPAQ تکمیل گردید(۵،۴). نمونه‌های خون گرفته شـده از بیمـاران در ابتدا و انتهای مداخله جمع‌آوری گردیـد و PPARγ اندازه‌گیری گردید.



تصویر شماره ۱: دیاگرام بیماران مطالعه

اندازه گیری های تن سنجی

قد، وزن، دور کمر و دور باسن بیماران پیش و پس از مداخله در حالت ناشتا تعیین گردیـد. بـرای تـوزین از ترازوی دیجیتالی کفه‌ای seca مدل Clara 803 با دقـت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. قد با استفاده از قدسـنج دیـواری seca (stadiometer) بدون کفش بـا حساسـیت ۰/۱ cm (seca, Germany) انـدازه‌گیـری شـد. دور کمـر و دور باسـن بـا اسـتفاده از متـر نـواری seca مـدل ۲۰۱ و طبـق استانداردهای سازمان جهانی بهداشت اندازه‌گیری شدند و میانگین دو اندازه‌گیری وارد گردید. نمایه توده بـدنی (BMI) افـراد نیـز بـا اسـتفاده از فرمـول مربوطـه ($\mathrm{BMI} = \frac{\mathrm{weight(kg)}}{\mathrm{height(m)^2}}$) به‌دست آمد. نسبت WHR بـا تقسیم دور کمر به دور باسن محاسبه گردید.

مکمل اسید چرب امگا ۳ و دارونما

کپسول اسید چرب امگا ۳، ویتامین E و هـم چنـین پلاسبوی آن‌هـا از شـرکت دارویـی- بهداشـتی مینـو در شکل ژلاتینی (soft gel) تهیه گردیـد. هـر کپسـول n-3 حـاوی ۱۸۰ میلـی گـرم EPA و ۱۲۰ میلـی گـرم DHA بود. هر کپسول ویتامین E حاوی ۴۰۰ واحد بـین المللـی (International Unit) ویتـامین E بـود. دارونماهـا از پارافین خوراکی تهیه گردید و از لحاظ رنـگ و انـدازه تفاوتی با مکمل ها نداشتند.

جمع آوری نمونه خون

حدود ۸ml نمونه خـون وریـدی- پـیش و پـس از مداخله- در شرایط استریل از ورید بازویی بیمار پـس از ۱۴-۱۲ سـاعت ناشـتا در آزمایشـگاه تحقیقـات سـلولی مولکـولی دانشـکده بهداشـت، دانشـگاه علـوم پزشـکی تهران گرفته شد و به داخل سرنگ در لوله های در پـیچ دار استریل حاوی هپارین (به میزان ۴ میکرولیتـر بـه ازاء هر میلی‌لیتر خون) ریخته شد.

جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی (PBMC)

۸ میلی لیتر بافر PBS با ۸ میلی لیتر خون هپارینه در فالکون ورتکس گردیـد. سـپس روی لولـه‌هـای حـاوی فایکول، به‌طوری‌که خون بـا فـایکول مخلـوط نشـود، از مخلوط خـون و PBS اولیـه، اضـافه گردیـد و بـا شـتاب ۲۵۰۰ rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شـد. PBMC در لوله، به صورت لایه ابری شکل از سایر لایه هـای خـون جدا گشت و بـه درون فـالکون اسـتریل دیگـری انتقـال یافت. بعد از شستشو با بافر PBS با شـتاب ۱۶۰۰rpm بـه مدت ۱۵ دقیقـه سـانتریفیوژ گردیـد. در نهایـت رسـوب تولید شده از آن بـه میکروتیـوب RNAase free انتقـال یافت(۵،۴).

جداسازی RNA و سنتز cDNA

RNA از سـلول‌هـای PBMC بـا اسـتفاده از کیـت Rneasy plus mini kit شرکت Qiagen استخراج گردیـد. سپس cDNA توسط کیت Quantitect reverse transcriptase شرکت Qiagen از RNA ساخته شـد و تـا انجـام تسـت

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

Real-time PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. ارزیابی شدت بیان ژن ها توسط دستگاه StepOne RealTime PCR System ساخت شرکت Applied Biosystems امریکا انجام گرفت. از سایبرگرین (SYBR Green) به عنوان رنگ باند شونده بین ۲ رشته DNA استفاده گردید. واکنش‌های PCR در حجم ۲۰ µl با غلظت ۰/۵µl از هر پرایمر، ۷ µl از SYBR Green Power PCR Master Mix (2X) (شامل DNA پلیمراز، بافر، dNTPs و سایبر گرین) از شرکت Applied Biosystems و ۲µl نمونه cDNA انجام گردید. برای محاسبه بیان ژن از فرمول $2^{-\Delta\Delta ct}$ استفاده شده است:

2-[(CT ژن مورد نظر after - CT βactin after) – (CT ژن مورد نظر before – CT βactin before)]

روش طراحی پرایمر

توالی ژن‌های موردنظر و mRNA آن‌ها از وب سایت Ensembl گرفته شد. سپس با بررسی مطالعات مختلف، پرایمرهای مطلوب انتخاب شده و با استفاده از نرم‌افزارهای آن لاین Sequence Utilities- -Primer Blast از نظر شرایط بهینه PCR اصلاح گردیدند. برای ژن housekeeping (β-actin) نیز به همین شیوه پرایمر از مطالعات انتخاب و اصلاح گردید.

PPARγ Forward: GAA TTA GAT GAC AGC GAC TTG
PPARγ Reverse: GCT TGT AGC AGG TTG TCT TG
β-actin Forward: CCTGGCACCCAGCACAATGAAG
β-actin Reverse: CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAG

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های جمع‌آوری شده پس از کنترل به نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ منتقل گردید. برای توصیف داده‌ها از میانگین و خطای معیار (SEM) استفاده گردید. با استفاده از آزمون Kolmongorov-Smirnov نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی گردید. مقایسه نتایج به صورت قبل و بعد در داخل گروه‌ها با استفاده از آزمون آماری t زوج صورت پذیرفت و مقایسه متوسط اختلاف‌های ایجاد شده در سه گروه نیز از آزمون ANOVA استفاده گردید. برای حذف اثر فاکتورهای مخدوش‌کننده از آزمون آماری ANCOVA استفاده شد. اطلاعات پرسشنامه‌های یادآمد خوراک با استفاده از نرم‌افزار تغذیه‌ای Nutritionist IV مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. Pvalue کم‌تر از ۰/۰۵ به عنوان معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته ها

۶۴ بیمار با اختلال عروق کرونر قلبی مطابق با معیارهای مطالعه، ابراز تمایل به همکاری با این تحقیق نمودند که به سه گروه دریافت کننده امگا ۳ و دریافت کننده توام n-3 و ویتامین E و گروه دریافت کننده دارونما تقسیم گردیدند. در اواسط پروژه، ۲ بیمار به منظور عمل قلب در بیمارستان بستری گردیدند و به این ترتیب ۶۲ نفر تا انتهای مطالعه باقی ماندند که بدین ترتیب ۲۰ نفر در گروه OP، ۲۲ نفر در گروه OE و ۲۰ نفر در گروه PP قرار گرفتند. در این مطالعه میانگین سن بیماران در گروه OP، ۱/۲۷ ± ۵۴/۶۸ سال، در گروه OE ۱/۶۲±۵۶/۳۰ سال و درگروه PP ۱/۳۳±۵۸/۵۰ سال بود. آزمون آماری اختلاف معنی‌داری بین سه گروه از لحاظ سن نشان نداد(p=۰/۱۶). سطح تحصیلات در گروه OP، ۳۱/۸ درصد کم‌تر از دیپلم، ۶۸/۲ درصد دیپلم و بالاتر، در گروه OE، ۵۰ درصد کم تر از دیپلم و ۵۰ درصد دیپلم و بالاتر و در گروه PP، ۴۰ درصد کم‌تر از دیپلم و ۶۰ درصد دیپلم و بالاتر حضور داشتند. آزمون کای اسکوئر اختلاف آماری معنی‌داری را از لحاظ سطح تحصیلات بین سه گروه نشان نداد (p=۰/۴۸). شغل در گروه OP، ۴۵/۵ درصد بازنشسته و بیکار و ۵۴/۵ درصد کارمند و شاغل، در گروه OE، ۳۰ درصد بازنشسته و بیکار و ۷۰ درصد کارمند و شاغل و در گروه PP، ۴۰ درصد بازنشسته و بیکار و ۶۰ درصد کارمند و شاغل بودند. آزمون کای اسکوئر تفاوت آماری معنی‌داری را از این نظر بین سه گروه نشان نداد

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

(p=۰/۵۸). مدت زمان تشخیص بیماری در گروه OP، ۳/۲۸±۰/۹۳ سال، در گروه OE، ۲/۶۶±۰/۸۸ سال و در گروه PP ۵/۲۹±۱/۳۹ سال بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت (p=۰/۲۲). یافته‌های تن سنجی شامل قد، وزن، نمایه توده بدنی (BMI)، دور کمر، دور باسن و نسبت آن‌ها (WHR) در جدول شماره ۱ بیان شده است.

همان‌طور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود، در مقایسه ابتدا و انتها، درون‌گروه‌ها و بین گروه‌ها، یافته‌های تن‌سنجی، در هیچ‌کدام از گروه‌های مورد بررسی تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید. مقایسه میانگین اختلافات ابتدا و انتهای مطالعه نیز در مورد هیچ یک از یافته‌های تن‌سنجی بین گروه‌های مورد بررسی معنی‌دار نبود. حتی با حذف اثر مخدوش‌کنندگی کالری دریافتی نیز هم‌چنان تفاوت بین گروه‌ها در انتهای مطالعه معنی‌دار نبود.

یافته های مربوط به دریافت غذایی

یافته‌های مربوط به انرژی، کربوهیدرات، چربی و پروتئین دریافتی براساس یادآمد ۲۴ ساعته که در ابتدا و انتهای مطالعه تکمیل گردید، براساس کیلو کالری مصرفی و درصد آن در جدول شماره ۲ ارائه شده است.

بر اساس جدول شماره ۲، دریافت انرژی و درشت‌مغذی‌ها و برخی نوترینت‌های موثر بر متغیرها در درون گروه‌ها در ابتدا و انتهای مطالعه تفاوت معنی داری نداشت. مقایسه اختلاف میانگین‌های ابتدا و انتهای مطالعه در مورد هیچ‌یک از یافته‌های دریافت انرژی و درشت مغذی‌ها بین سه گروه مورد بررسی معنی‌دار نبود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که شرکت‌کنندگان در هر سه گروه همان طور که از ایشان خواسته شده بود، رژیم غذایی خود را تغییر معنی‌داری نداده‌اند.

یافته های مربوط به دریافت غذایی امگا-۳، امگا-۶ و اسیدهای چرب اشباع

دریافت غذایی امگا-۳، امگا-۶ و اسیدهای چرب اشباع بیماران براساس یادآمد ۲۴ ساعته در جدول شماره ۳ آورده شده است.

جدول شماره ۱: مشخصات آماری یافته های تن سنجی بیماران دریافت کننده امگا-۳، گروه توام *n-3* و ویتامین *E* و گروه دارونما، قبل و بعد از دو ماه مکمل یاری

		گروه امگا-۳ (n=۲۲)	گروه توام n-3 و ویتامین E (n= ۲۰)	گروه دارونما (n= ۲۰)	سطح معنی داری #	p [1]
قد (cm)	پیش	۱۶۸/۲۷ ±۱/۰۱	۱۶۹/۹۸ ±۱/۲۱	۱۶۷/۵۷±۱/۵۶	۰/۴۰	–
وزن (kg)	پیش	۷۹/۰۹±۲/۰۸	۷۷/۴۷±۲/۳۲	۷۷/۲۸±۲/۶۱	۰/۸۲	
	پس	۷۹/۲۴±۲/۰۹	۷۷/۶۶ ±۲/۳۰	۷۷/۲۵±۲/۵۶	۰/۸۰	
	اختلاف	۰/۱۴۵±۰/۳۰۶	۰/۱۹۵ ±۰/۳۲۴	-۰/۳۵±۰/۲۴۸	۰/۸۵	۰/۴۹
	سطح معنی داری §	۰/۶۴	۰/۵۵	۰/۸۸		
نمایه توده بدنی (BMI) Kg/m²	پیش	۲۷/۹۷±۰/۷۶	۲۶/۸۰ ±۰/۷۲	۲۷/۴۷±۰/۸۱	۰/۵۵	
	پس	۲۸/۰۱±۰/۷۴	۲۶/۸۵±۰/۶۸	۲۷ /۴۶±۰/۷۹	۰/۵۳	
	اختلاف	۰/۰۳۹±۰/۱۱۳	۰/۰۵۳ ±۰/۱۰۹	- ۰/۰۱۴±۰/۰۸۸	۰/۸۹	۰/۳۹
	سطح معنی داری §	۰/۷۳	۰/۶۳	۰/۸۶		
دور کمر (cm)	پیش	۹۷/۶۴±۱/۹۶	۹۵/۰۵ ±۱/۶۱	۹۷/۳۵±۱/۸۴	۰/۵۵	
	پس	۹۷/۹۵±۱/۹۵	۹۴/۹۲±۱/۴۵	۹۷/۸۰±۱/۸۶	۰/۴۱	
	اختلاف	۰/۳۱۸±۰/۴۱۲	- ۰/۱۲۵ ±۰/۵۶۶	۰/۴۵۰±۰/۳۸۰	۰/۶۵	۰/۴۸
	سطح معنی داری §	۰/۴۵	۰/۸۲	۰/۲۵		
دور باسن (cm)	پیش	۱۰۱/۷۳±۱/۳۸	۹۹/۶۵±۱/۱۸	۹۹/۹۵±۱/۲۲	۰/۴۵	
	پس	۱۰۱/۹۱±۱/۲۸۴	۱۰۰/۱۲±۱/۲۵	۱۰۰/۳۰±۱/۲۲	۰/۵۳	
	اختلاف	۰/۱۸۱±۰/۴۰۸	۰/۴۷۵ ±۰/۵۶۶	۰/۳۵۰±۰/۳۵۷	۰/۸۹	۰/۴۸
	سطح معنی داری §	۰/۶۶	۰/۴۱	۰/۳۴		
نسبت دور کمر به دور باسن (WHR)	پیش	۰/۹۵±۰/۰۱	۰/۹۵±۰/۰۱	۰/۹۷±۰/۰۱	۰/۴۳	
	پس	۰/۹۶±۰/۰۱	۰/۹۵±۰/۰۱	۰/۹۷±۰/۰۱	۰/۲۱	
	اختلاف	۰/۰۰۱±۰/۰۰۴	-۰/۰۰۵ ±۰/۰۰۵	۰/۰۰۱±۰/۰۰۳	۰/۴۴	۰/۲۶
	سطح معنی داری §	۰/۷۸	۰/۳۲	۰/۶۴		

*: خطای معیار±میانگین #: آزمون ANOVA §: آزمون تی زوج

[1] p: تطبیق داده شده برای انرژی دریافتی (Kcal/day) با آزمون آماری ANCOVA

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

جدول شماره ۲: مشخصات آماری دریافت های غذایی بیماران دریافت کننده n-3، گروه توام n-3 و ویتامین E و گروه دارونما، قبل و بعد از دو ماه مکمل یاری

		گروه n-3 (n=۲۲)	گروه توام n-3 و ویتامین E (n=۲۰)	گروه دارونما (n=۲۰)	سطح معنی داری#
انرژی دریافتی(Kcal)	پیش	۱۵۰۶/۲۴±۱۲۵/۱۶	۱۹۰۰/۳۳±۱۶۱/۳۷	۱۶۳۳/۱۲±۱۴۲/۹۴	۰/۱۴
	پس	۱۶۴۷/۱۸±۱۵۰/۴۱	۱۸۹۰/۲۹±۱۳۵/۳۱	۱۵۲۲/۲۱±۷۶/۵۳	۰/۱۳
	اختلاف	۱۴/۱۹±۱۵/۸۱	-۸/۸۷±۱۸/۶۰	- ۱۱/۰۴±۱۴/۵۲	۰/۵۴
	سطح معنی داری §	۰/۳۷	۰/۴۵	۰/۹۶	
کربوهیدرات دریافتی (گرم)	پیش	۲۳۰/۸۶±۱۸/۴۸	۳۱۶/۳۶±۳۶/۰۳	۲۶۴/۷۰±۲۶/۱۷	۰/۰۹
	پس	۲۶۰/۳۷±۲۵/۶۹	۲۸۴/۷۳±۲۰/۴۰	۲۲۲/۵۰±۱۶/۰۲	۰/۱۳
	اختلاف	۲۹/۵۱±۲۷/۹۰	-۳۱/۶۳±۳۵/۴۱	- ۴۲/۱۸±۲۸/۲۵	۰/۲۰
	سطح معنی داری §	۰/۳۰	۰/۱۵	۰/۳۸	
پروتئین دریافتی (گرم)	پیش	۵۶/۲۳±۵/۶۷	۶۴/۸۴±۴/۹۴	۶۷/۱۳±۷/۹۳	۰/۴۲
	پس	۵۴/۶۲±۴/۵۶	۵۸/۴۶±۴/۲۹	۵۳/۰۱±۵/۰۷	۰/۷۰
	اختلاف	-۱/۶۰±۷/۶۲	-۶/۳۷±۵/۲۹	- ۱۴/۱۲±۸/۶۳	۰/۴۸
	سطح معنی داری §	۰/۸۳	۰/۱۱	۰/۲۴	
چربی دریافتی (گرم)	پیش	۴۲/۸۴±۶/۷۵	۴۵/۹۶±۲/۷۳	۳۷/۳۶±۴/۳۳	۰/۴۹
	پس	۴۶/۹۲±۵/۵۷	۵۵/۳۷±۵/۸۰	۳۸/۰۸±۳/۹۱	۰/۰۷
	اختلاف	۴/۰۷±۴/۸۲	۹/۴۰±۶/۱۶	۰/۷۱۴±۶/۱۴	۰/۵۶
	سطح معنی داری §	۰/۴۰	۰/۹۰	۰/۱۴	
روی (میلی گرم)	پیش	۵/۹۱±۰/۶۹۷	۶/۱۲ ±۰/۴۴۲	۵/۴۵±۰/۵۶۸	۰/۷۱
	پس	۵/۳۸±۰/۵۶۰	۵/۹۹±۰/۶۹۱	۳/۸۰۸±۳/۹۱	۰/۴۷
	اختلاف	-۰/۵۳۶±۰/۹۷۱	-۰/۱۳۴±۰/۷۰۸	- ۰/۴۹۱±۰/۶۸۹	۰/۹۳
	سطح معنی داری §	۰/۵۸	۰/۸۵	۰/۴۸	
ویتامین E (میلی گرم)	پیش	۳/۴۱±۰/۸۰۹	۲/۸۰±۰/۳۳۵	۲/۶۴±۰/۶۶۸	۰/۶۷
	پس	۳/۵۹±۰/۹۱۴	۳/۶۵±۱/۰۳	۳/۰۰±۰/۵۸۲	۰/۸۴
	اختلاف	۰/۱۸۰±۱/۳۸	۰/۸۵۵ ±۱/۰۹	۰/۳۵۴±۰/۷۷۱	۰/۹۰
	سطح معنی داری §	۰/۸۹	۰/۴۴	۰/۶۵	
سلنیم (میلی گرم)	پیش	۰/۰۶۲±۰/۰۰۸	۰/۰۶۷±۰/۰۰۶	۰/۰۶۸±۰/۰۰۸	۰/۶۷
	پس	۰/۰۵۵±۰/۰۰۸	۰/۰۶۳±۰/۰۱۰	۰/۰۶۲±۰/۰۰۷	۰/۸۴
	اختلاف	-۰/۰۰۷±۰/۰۱۲	-۰/۰۰۴±۰/۰۱۲	- ۰/۰۰۵±۰/۰۱۱	۰/۹۸
	سطح معنی داری §	۰/۵۴	۰/۷۳	۰/۶۳	
فولات (میکروگرم)	پیش	۱۹۳/۶۹±۲۱/۸۶	۲۵۲/۸۶±۲۹/۷۸	۱۷۹/۴۸ ±۲۴/۵۷	۰/۱۱
	پس	۲۰۳/۲۰±۲۲/۵۳	۲۴۰/۳۷±۴۱/۱۰	۱۵۹/۳۴±۱۹/۱۱	۰/۱۵
	اختلاف	۹/۵۱±۳۳/۱۹	-۱۲/۴۸±۵۲/۱۹	- ۲۰/۱۳±۳۰/۱۳	۰/۸۵
	سطح معنی داری §	۰/۷۷	۰/۸۱	۰/۵۱	
ویتامین C (میلی گرم)	پیش	۸۴/۲۳±۱/۲۶	۹۶/۹۲ ±۲/۳۵	۹۳/۱۰±۱/۵۷	۰/۸۷
	پس	۱۱۱/۵۳±۱۷/۷۸	۱۱۴/۵۶±۲۱/۱۵	۸۱/۵۲±۱۴/۳۵	۰/۳۷
	اختلاف	۲۷/۲۹۰±۲۲/۴۶	۱۷/۶۳±۲۱/۰۶	- ۱۱/۵۷±۱۲/۱۷	۰/۳۴
	سطح معنی داری §	۰/۲۳	۰/۴۱	۰/۳۵	

*: خطای معیار±میانگین #: آزمون ANOVA §: آزمون تی زوج

جدول شماره ۳: مشخصات آماری n-3 و n-6 رژیمی در دریافت کننده n-3، گروه توام n-3 و ویتامین E و گروه دارونما، قبل و بعد از دو ماه مکمل یاری

		گروه n-3 (n=۲۲)	گروه توام n-3 و ویتامین E (n=۲۰)	گروه دارونما (n=۲۰)	سطح معنی داری#
n-3 (گرم)	پیش	۰/۱۶±۰/۰۸	۰/۱۲±۰/۰۴	۰/۱۱± ۰/۰۶	۰/۶۶
	پس	۰/۱۹±۰/۰۱	۰/۱۷±۰/۰۲	۰/۱۴±۰/۰۵	۰/۳۲
	اختلاف	۰/۰۳ ±۰/۰۴	۰/۰۵±۰/۰۱	۰/۰۳±۰/۰۳	۰/۷۸
	سطح معنی داری §	۰/۲۵	۰/۴۱	۰/۲۷	
امگا-۶ (گرم)	پیش	۱۲/۶۵±۱/۱۲	۱۲/۰۲±۱/۸۷	۱۱/۰۶±۱/۶۳	۰/۱۴
	پس	۱۴/۵۵±۱/۴۱	۱۵/۱۰±۱/۹۸	۱۳/۰۸±۱/۶۹	۰/۱۱
	اختلاف	۱/۹±۱/۵۸	۳/۰۸±۱/۷	۲/۰۲±۱/۷۳	۰/۸۶
	سطح معنی داری §	۰/۲۸	۰/۲۲	۰/۲۵	
اسیدهای چرب اشباع (گرم)	پیش	۱۰/۵۰±۲/۴۳	۱۱/۰۸ ±۰/۸۳۱	۹/۳۷±۱/۱۷	۰/۷۷
	پس	۹/۸۸±۰/۸۸۸	۹/۲۰±۰/۸۵۷	۹/۲۲±۱/۰۹	۰/۸۴
	اختلاف	-۰/۷۰۲±۲/۴۲	-۱/۸۸±۱/۴۱	- ۰/۱۴۹±۱/۱۳	۰/۸۲
	سطح معنی داری §	۰/۷۷	۰/۱۹	۰/۹۳	

*: خطای معیار±میانگین؛ #: آزمون ANOVA؛ §: آزمون تی زوج

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

توزیع n-3 و n-6 رژیمی پس از تبدیل لگاریتمی، نرمال گردید و p-value براساس تبدیل لگاریتمی در جدول گذاشته شد. میزان دریافت n-3، امگا ۶ و اسیدهای چرب اشباع در ابتدا و انتهای مطالعه بین گروه‌ها و درون گروه‌ها تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری نداشت. مقایسه اختلاف میانگین های ابتدا و انتهای مطالعه نیز در مورد یافته‌های دریافت غذایی n-3، امگا ۶ و اسیدهای چرب اشباع در سه گروه مورد بررسی معنی دار نبود.

یافته های مربوط به بیان ژن PPARγ

جدول شماره ۴ نشان می‌دهد که در گروه OP در انتها نسبت به ابتدای مطالعه افزایش معنی‌داری در بیان ژن PPARγ مشاهده شد، هم چنین در گروه OE نیز در انتها نسبت به ابتدای مطالعه، بیان ژن PPARγ افزایش نشان داد. هم‌چنین در انتهای مطالعه بین سه گروه تفاوت آماری معنی‌داری از نظر بیان ژن دیده شده است و اختلاف تغییرات نیز در انتهای مطالعه بین ۳ گروه مورد بررسی در مورد ژن PPARγ معنی‌دار بوده است. هم‌چنین با توجه به جدول مربوطه، حتی با حذف اثر مخدوش‌گر متغیرهای توده چربی و بدون چربی، آدیپونکتین و کراتینین و hsCRP سرم، هم‌چنان اختلاف آماری بین سه گروه مورد مطالعه از نظر آماری معنی‌دار بود. به‌طور کلی قابل ذکر است که تغییرات CT (ΔCT) هر چه کوچک‌تر باشد، نشانه افزایش بیان ژن می‌باشد.

بحث

مداخله، بیان ژن *PPARγ* در سلول‌های تک هسته‌ای خون مردان مبتلا به بیماری عروق کرونر قلب در گروه *OP* و گروه *OE* در انتهای مطالعه نسبت به ابتدای مطالعه افزایش نشان داد. هم‌چنین این تفاوت از نظر آماری نیز بین سه گروه مورد بررسی، معنی‌دار بود. (تصویر شماره ۱ و ۲). در واقع این تحقیق نشان داد که مصرف اسید چرب *n-3* به تنهایی و همین طور مصرف توام اسید چرب *n-3* و ویتامین *E* در مدت دو ماه نسبت به گروه کنترل، سبب افزایش بیان ژن *PPARγ* شده است. این یافته همسو با یافته‌ی *Calder* در سال ۲۰۱۲ بوده است؛ زیرا این محقق اشاره کرد اسیدهای چرب *n-3* از جمله *EPA* و *DHA* می توانند احتمالاً با تبدیل شدن به ایکوزائیدهای مختلف و دیگر متابولیت‌های تولید شده ناشی از آن مانند *Resolvin* ها سبب فعال سازی *PPARγ* گردند و سپس با هترودایمر تشکیل دادن *PPARγ* با *RXR* بر *PPRE* اثر بگذارند و از این طریق نقش بالقوه‌ی ضد التهابی و افزایش آدیپونکتین را سبب شود(۲۴) که در مطالعه ی ما نیز چنین نتیجه ای حاصل شد. در حقیقت گفته می شود یک بخش ۲ کیلوبایت در پروموتر آدیپونکتین انسان، دارای ویژگی‌های مختص چربی و *Cis-element* هایی برای چندین فاکتور رونویسی آدیپوژنیک از جمله *CCAAT enhancer Binding Protein* و *SREBP* و *PPARγ* می‌باشد که *PPARγ* با تحریک پروموتر آدیپونکتین، سبب افزایش

جدول شماره ۴: مشخصات آماری ΔCT ژن PPARγ و میزان تغییرات بیان ژن PPARγ در بیماران دریافت کننده n-3، گروه توام n-3 و ویتامین E و گروه دارونما، قبل و بعد از دو ماه مداخله

		گروه n-3 (n=۲۲)	گروه توام n-3 و ویتامین E (n=۲۰)	گروه دارونما (n=۲۰)	سطح معنی داری#	p¹	p²	p³
ΔCT ژن PPARγ	پیش	۱۷/۲۶±۰/۵۴۴	۱۶/۷۰±۰/۴۰۸	۱۶/۶۹±۰/۲۷۱	۰/۱۸			
	پس	۱۵/۷۷±۰/۳۳۷	۱۳/۶۲±۱/۴۲	۱۵/۰۷±۰/۶۱۳	۰/۲۲			
	اختلاف	-۱/۴۹±۰/۶۳۷	-۳/۰۸±۱/۳۸	-۰/۹۷۵±۰/۶۳۲	۰/۰۲۷	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸
	سطح معنی داری §	۰/۰۲۹	۰/۰۳۸	۰/۰۱۳				

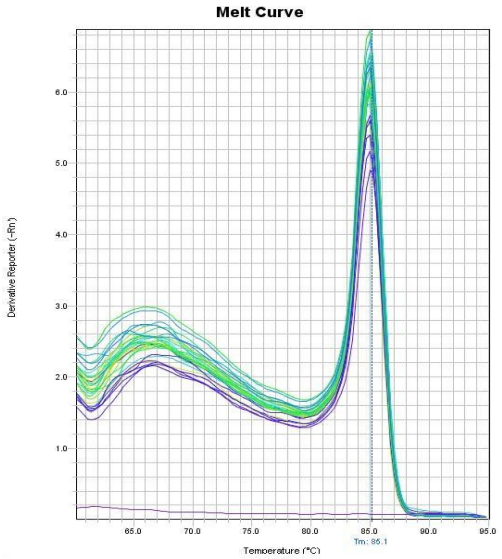
*: خطای معیار±میانگین؛ #: آزمون ANOVA؛ §: آزمون تی زوج

[1] p تطبیق داده شده برای آدیپونکتین با آزمون آماری ANCOVA

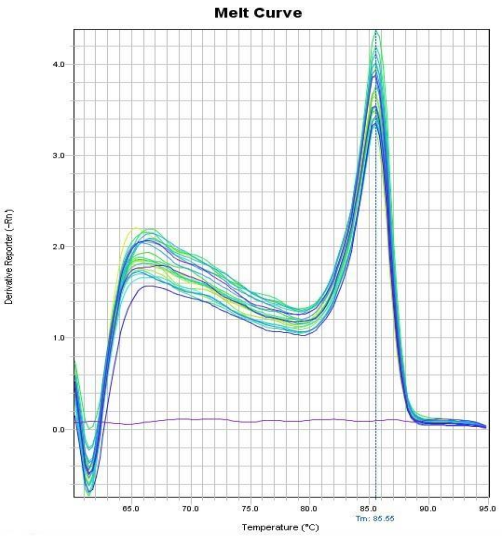
[2] p تطبیق داده شده برای آدیپونکتین، hsCRP و کراتینین سرم با آزمون آماری ANCOVA

[3] p تطبیق داده شده برای بافت چربی و بدون چربی و آدیپونکتین سرم و BMI با آزمون آماری ANCOVA

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016



تصویر شماره ۱: منحنی ذوب ژن βactin



تصویر شماره ۲: منحنی ذوب ژن PPARγ

بیان و ترشح این پروتئین می‌گردد(۲۵). بررسی‌های آزمایشگاهی در این زمینه نشان داده است که کاهش سطح آدیپونکتین در بیماران قلبی و عروقی می‌تواند توانایی آدیپونکتین را در جلوگیری از فرایندهای التهابی کاهش دهد(۲۷،۲۶). از آن‌جایی که بررسی‌های مختلف نشان دادند تحریک بیان و ترشح آدیپونکتین با واسطه افزایش بیان *PPARγ* می‌باشد، در مطالعه حاضر با هدف تاثیر، استفاده از اسید چرب *n-3* و ویتامین *E* بر بیان *PPARγ* و به دنبال آن تحریک بیان و ترشح آدیپونکتین در سلول‌های *PBMC* انجام گردید(۲۸). *Tsai* و همکارانش در مطالعه‌ای بیان ژن آدیپونکتین را در سلول‌های تک هسته‌ای خون مورد ارزیابی قرار دادند و بر نقش سیگار بر کاهش بیان ژن آدیپونکتین در سلول‌های تک هسته‌ای خون اشاره داشتند(۲۸). از طرفی *Tyagi* و همکارانش در سال ۲۰۱۱، اثرات برخی عوامل را در تحریک ژن *PPARγ* در خون مورد ارزیابی قرار دادند که البته از نمونه‌های خوک استفاده شد(۲۹). در حقیقت با فرض وجود این ژن در سلول‌های تک هسته‌ای خون، این تحقیق طراحی شد.

از طرفی α و γ توکوفرول سبب افزایش بیان آدیپونکتین می‌گردند که این تاثیر ویتامین E بر سطح آدیپونکتین، را غیر وابسته به ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی آن می‌دانند و Landrier و همکارانش نشان دادند توکوفرول بیان آدیپونکتین را مستقیماً از طریق تنظیم ژنی کنترل می‌کند(۳۰،۲۳). PPARγ نقش مهمی را در افزایش حساسیت به انسولین و فعالیت پروموتر آدیپونکتین انسانی (حاوی یک PPRE) بازی می‌کند(۲۳). القای PPARγ با واسطه‌ی ویتامین E می‌تواند مقدار در دسترس PPARγ را برای باند شدن به PPRE در ناحیه پروموتر آدیپونکتین افزایش دهد. علاوه بر این، فعالیت PPARγ برای رونویسی ژن آدیپونکتین لازم است و ویتامین E، علاوه بر افزایش سطح PPARγ در دسترس برای باند شدن، در فعالیت وابسته به لیگاند PPARγ برای رونویسی ژن‌های هدف مرتبط با PPARγ از جمله آدیپونکتین نیز نقش دارد(۲۳). البته تاثیرات توام ویتامین E و اسید چرب امگا ۳ مورد بررسی قرار نگرفته بود. نکته مورد توجه دیگر این است که بیان و ترشح آدیپونکتین و احتمالاً PPARγ، با افزایش التهاب و دوز و مدت زمان افزایش عوامل التهابی از جمله TNF-*α*، کاهش می‌یابد(۲۵) که می‌تواند مرتبط با تغییرات پروموتر ژن آدیپونکتین و یا اثرات ممانعت‌کنندگی بر بیان ژن PPARγ در بافت بدن باشد. در این حالت می‌توان انتظار داشت حتی با وجود بیان فراوان ژن

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

آدیپونکتین در شرایط عادی، در شرایط التهاب‌های مزمن و بالا بودن سطح TNF-α، بیان این ژن و ژن PPARγ تحت تاثیر قرار نگیرند و افزایش نیابند. بنابراین می‌توان گفت افزایش تولید TNF-α می‌تواند تا حدی مسئول کاهش تولید آدیپونکتین در افراد چاق باشد و اثرات TNF-α بر تولید و ترشح آدیپونکتین می‌تواند نقش ضد PPARγ آن را نشان دهد(۲۵).

در تحقیق حاضر، مصرف هشت هفته اسید چرب n-3 به تنهایی، و توام اسید چرب n-3 و ویتامین E با این دوز، نسبت به گروه کنترل توانسته است بیان ژن PPARγ را تحت تاثیر قرار دهد. در مطالعه‌ای دیگر، Neschen و همکارانش نشان دادند مصرف روغن ماهی برای مدت دو هفته می‌تواند هم سبب افزایش بیان mRNA آدیپونکتین در اپیدیمیال و هم افزایش ترشح آن در گردش خون نمونه‌های حیوانی موش گردد و این افزایش را به تاثیر اسیدهای چرب ω3 موجود در روغن ماهی از طریق افزایش فعالیت مسیر PPARγ نسبت دادند(۳۱). در حالی که Itoh و همکارانش چنین تاثیری را مشاهده نکردند(۱۸). البته این نتایج متناقض می‌تواند احتمالاً به دلیل اختلافات بالقوه اثرات ضد التهابی بین EPA و روغن ماهی در این دو مطالعه و یا دوز تجویزی آن باشد.

توانایی PPARγ و آگونیست‌های آن برای افزایش بیان mRNA آدیپونکتین ممکن است هم به فعالیت مستقیم پروموتر و هم به اثرات ممانعت‌کنندگی TNF-α و واسطه‌های آن برای بیان mRNA و ترشح آدیپونکتین نسبت داده شود(۲۵). در واقع پیشنهاد شده است اسیدهای چرب n-3 سبب عدم بهم خوردن تنظیم سیستم آدیپوسیتوکین‌ها می‌شود و نشان داده شد روغن ماهی می‌تواند سبب افزایش بیان mRNA آدیپونکتین و ترشح آن در مدل جوندگان می‌گردد. افزایش بیان آدیپونکتین احتمالاً با واسطه PPARγ می‌باشد. در مطالعه‌ای توسط Itoh و همکارانش در سال ۲۰۰۷ نشان داده شد که EPA در محیط کشت و در نمونه‌های حیوانی توانسته سطح آدیپونکتین را بدون تاثیر از PPARγ و از طریق کاهش بیان TNF-α در ماکروفاژها افزایش دهد، اما در زمینه اثرات n-3 در نمونه‌های انسانی در این زمینه گزارشی وجود ندارد(۱۸). اما در مطالعه ما، مصرف توام اسید چرب n-3 و ویتامین E با تاثیر بر بیان ژن PPARγ و بیان ژن آدیپونکتین در سلول‌های تک هسته‌ای خون (PBMC) بیماران توانسته است سطح سرمی آدیپونکتین را افزایش دهد. بررسی‌ها نشان دادند که افزایش بیان PPARγ و به دنبال آن افزایش بیان و ترشح آدیپونکتین، می‌تواند سبب فرایندهای ضد التهابی و کاهش بیان ژن‌های التهابی و هم چنین سبب فعالیت‌های ضد اتروژنیک می‌گردد. افزایش فعالیت PPARγ می‌تواند منجر به متوقف شدن رونویسی چندین ژن التهابی و کاهش عوارض آترواسکلروز گردد(۳۲). در تحقیق ما، بیان ژن PPARγ، در مدت ۲ ماه مداخله، توسط دوز مشخص اسید چرب n-3 و توام آن با ویتامین E، در سلول‌های تک هسته‌ای خون تحت تاثیر قرار گرفت و افزایش یافت. در دو مقاله دیگر از همین طرح تحقیقاتی که در سال ۲۰۱۵ به چاپ رساندیم، افزایش سطح پروتئین آدیپونکتین در خون، علیرغم عدم افزایش بیان ژن آدیپونکتین، مشاهده شد و اثرات ضد التهابی آن پدیدار گشت که البته این عدم بیان ژن آدیپونکتین با وجود افزایش بیان ژن PPARγ دلیل بر نفی تاثیر ژن PPARγ بر بیان ژن آدیپونکتین نمی‌باشد، بلکه می توان این عدم تاثیر را به میزان کم بیان ژن آدیپونکتین در سلول‌های تک هسته‌ای خون نسبت داد(۵،۴) که البته مطالعات بیش‌تری در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از مسئولین محترم مرکز تحقیقات قلب تهران و کلیه بیمارانی که در این تحقیق با ما همکاری کردند، کمال تشکر را داریم.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

References

1. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W Jr. Definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis: a report from the Committyy on Vascular Lesions of Council on Arteriosclerosis. Circulation 1995; 92(5): 1355-1374.
2. Thomas AC, Knapman PA, Krikler DM, Davies MJ. Community Study of the causes of "natural sudden death". BMJ 1988; 297(6661): 1453-1456.
3. World Health Organization (WHO). Cardiovascular Diseases (CVDs) FactSheet: World Health Organization; 2011 [cited 2011 september]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/en/index.html. Accessed May 2, 2015.
4. Ramezani A, Djazayeri A, Koohdani F, Nematipour E, Javanbakht MH, Keshavarz SA, et al. omega-3 fatty acids/vitamin e behave synergistically on adiponectin receptor-1 and adiponectin receptor-2 gene expressions in peripheral blood mononuclear cell of coronary artery disease patients. Current Topics In Nutraceutical Research 2015; 13(1): 23-35.
5. Ramezani A, Koohdani F, Djazayeri A, Nematipour E, Keshavarz SA, Saboor Yaraghi AA, et al. Effects of administration of omega-3 fatty acids with or without vitamin E supplementation on adiponectin gene expression in PBMCs and serum adiponectin and adipocyte fatty acid-binding protein levels in male patients with CAD. Anatol J Cardiol 2015; 15(12): 981-989.
6. Gaziano TA. Cardiovascular Disease in the Developing World and Its Cost-Effective Management. Circulation 2005; 112(23): 3547-3553.
7. Fakhrzadeh H, Larijani B, Bandarian F, Adibi H, Samavat T, Malekafzal H, et al. The relationship between ischemic heart disease and coronary risk factors in population aged over 25 in Qazvin: A population-based study. J Qazvin Univ Med Sci 2005; 9(2) :26-34.
8. Hadaegh F, Harati H, Ghanbarian A, Azizi F. Prevalence of coronary heart disease among Tehran adults: Tehran Lipid and Glucose Study. East Mediterr Health J 2009; 15(1): 157-166 (Persian).
9. Kooshki A, Movahedi A, Mohajeri N. Prevalence of cardiovascular risk factors related to diet in patients referring to Modarres hospital in Tehran in 1379. J Sabzevar Univ Med Sci 2002; 10(2): 17-22 (Persian).
10. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease. Arterioscl Throm Vas Biol 2003; 23(2): 151-152.
11. Lavie CJ, Milani RV, Mehra MR, Ventura HO. Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids and Cardiovascular Diseases. J Am Coll Cardiol 2009; 54(7): 585-594.
12. Makhoul Z, Kristal AR, Gulati R, Luick B, Bersamin A, Boyer B, et al. Associations of very high intakes of eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids with biomarkers of chronic disease risk among Yup'ik Eskimos. Am J Clin Nutr 2010; 91(3): 777-785.
13. Bahrami GH, Rahimi Z, Masoumi M. Comparison of Adipose Tissue Fatty Acids in CAD and Non-CAD Patients. Kerman Univ Med Sci 1999; 7(1): 1-6.
14. Seidelin KN, Myrup B, Fischer-Hansen B. n-3 fatty acids in adipose tissue and coronary artery disease are inversely related. Am J Clin Nutr 1992; 55(6): 1117-1119.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016

15. Rahimi Z, Masomali M, Bahrami G. Comparison of fatty acids from adipose tissue in coronary artery disease patients with healthy normal individuals. J Kerman Univ Med Sci 2000; 7(1): 1-6.
16. Antoniades C, Antonopoulos A, Tousoulis D, Stefanadis C. Adiponectin: from obesity to cardiovascular disease. Obes Rev 2009; 10(3): 269-279.
17. Han SH, Quon MJ, Kim J, Koh KK. Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. J Am Coll Cardiol 2007; 49(5): 531-538.
18. Itoh M, Suganami T, Satoh N, Tanimoto-Koyama K, Yuan X, Tanaka M, et al. Increased adiponectin secretion by highly purified eicosapentaenoic acid in rodent models of obesity and human obese subjects. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2007; 27(9): 1918-1925.
19. Aprahamian TR, Sam F. Adiponectin in Cardiovascular Inflammation and Obesity. Int J Inflam 2011; 2011: 376909.
20. Hopkins TA, Ouchi N, Shibata R, Walsh K. Adiponectin actions in the cardiovascular system. Cardiovasc Res 2007; 74(1): 11-18.
21. Iwaki M, Matsuda M, Maeda N, Funahashi T, Matsuzawa Y, Makishima M, et al. Induction of adiponectin, a fat-derived antidiabetic and antiatherogenic factor, by nuclear receptors. Diabetes 2003; 52(7): 1655-1663.
22. Shen XH, Tang QY, Huang J, Cai W. Vitamin E regulates adipocytokine expression in a rat model of dietary-induced obesity. Exp Biol Med (Maywood) 2010; 235(1): 47-51.
23. Gray B, Swick J, Ronnenberg AG. Vitamin E and adiponectin: proposed mechanism for vitamin E-induced improvement in insulin sensitivity. Nutr Rev 2011; 69(3): 155-161.
24. Wahli W, Michalik L. PPARs at the crossroads of lipid signaling and inflammation. Trends Endorinol Metab 2012; 23(7): 351-363.
25. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K. PPARg Ligands Increase Expression and Plasma Concentrations of Adiponectin, an Adipose-Derived Protein. Diabetes 2001; 50(9): 2094-2099.
26. Van Berendoncks AM, Conraads VM. Functional adiponectin resistance and exercise intolerance in heart failure. Curr Heart Fail Rep 2011; 8(2): 113-122.
27. Jin J, Peng D, Yuan S, Zhao S, Ning X, Wang S, et al. Serum adipocyte fatty acid binding proteins and adiponectin in patients with coronary artery disease: The significance of A-FABP/adiponectin ratio. Clin Chim Acta 2010; 411(21-22): 1761-1765.
28. Tsai JS, Guo FR, Chen SC, Lue BH, Chiu TY, Chen CY, et al. Smokers show reduced circulating adiponectin levels and adiponectin mRNA expression in peripheral blood mononuclear cells. Atherosclerosis 2011; 218(1): 168-173.
29. Tyagi S, Gupta P, Saini AS, Kaushal C, Sharma S. The peroxisome proliferator-activated receptor: A family of nuclear receptors role in various diseases. J Adv Pharm Technol Res 2011; 2(4): 236-240.
30. Landrier JF, Gouranton E, El Yazidi C, Malezet C, Balaguer P, Borel P, et al. Adiponectin expression is induced by vitamin E via a peroxisome proliferator-activated receptor γ-dependent mechanism. Endocrinology 2009; 150(12): 5318-5325.
31. Neschen S, Morino K, Rossbacher JC, Pongratz RL, Cline GW, Sono S, et al. Fish Oil Regulates Adiponectin Secretion by a Peroxisome Proliferator–Activated Receptor-

γ–Dependent Mechanism in Mice. Diabetes 2006; 55(4): 924-928.

32. Bao Y, Lu Z, Zhou M, Li H, Wang Y, Meifang Gao, et al. Serum Levels of Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Are Associated with the Severity of Coronary Artery Disease in Chinese Women. PLoS ONE 2011; 6(4): 1-7.

Downloaded from jmums.mazums.ac.ir at 14:25 IRST on Tuesday December 27th 2016