Archive of SID

کومش- جلد ۱۸، شماره ۱ (پیاپی ۶۱)، پائیز ۱۳۹۵

# ارزیابی اثر رژیم غنی شده با لینولئیک اسید کونژوگه بر سطح سرمی ویفاتین ۱ تعیین اندازه تومورهای سرطان کولورکتال

زهرا کمال [۱](M.Sc Student)، مرجان عجمی [۲](Ph.D)، نسرین بهشتی [۱](M.Sc Student)، مرتضی عبداللهی [۲](Ph.D)، سید حسین داودی [۳و۴*](Ph.D)

۱- انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲- گروه تحقیقات سیاست‌گذاری تغذیه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی ،تهران، ایران

۳- مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

۴- دانشیارگروه تغذیه بالینی و رژیم درمانی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

## چکیده

سرطان کولورکتال سومین عامل مرگ ناشی از سرطان در جهان می‌باشد از سوی دیگر، ویفاتین، آدیپوکین تولید شده‌ای است که در بدخیمی‌ها سطح سرمی آن افزایش پیدا می‌کند. پیشنهاد شده است که مصرف لینولئیک اسید کونژوگه (Conjugated linoleic acid, CLA) موجب کاهش سطح سرمی ویفاتین می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی نقش محافظتی CLA در سرطان کولورکتال و بررسی ارتباط آن با سطح سرمی ویفاتین می‌باشد.

روش ها: ۱۶ موش نر نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم به دو گروه تقسیم شدند. برای ایجاد سرطان کولورکتال هر دو گروه تحت تزریق زیرجلدی دی‌متیل هیدرازین (۲۱ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم هفته به مدت ۶ هفته) و به میزان ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم قرار گرفتند. در هفته اول، گروه مداخله با تزریق روزانه، گاواژ آب (۲ میلی لیتر به ازای هر کیلوگرم) و گروه مداخله با تزریقروزانه، گاواژ CLA (۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم) دریافت کردند. بعد از شش هفته پس از کشتن حیوانات نمونه های خونی برای اندازه گیری میزان سرمی ویفاتین و نمونه های بافتی برای بررسی تعداد و اندازه تومورها جمع آوری شدند.

یافته‌ها: سطح ویفاتین سرمی در گروه دریافت کننده CLA به طور معنی داری کاهش یافت (P=۰/۰۰۱) در حالی که در گروه کنترل در مقابل گروه مورد مداخله، افزایش در شمگیری از تعداد تومور و همچنین سایز تومور در گروه مداخله نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی داشت (P=۰/۰۰۰). نمودارهای همبستگی اسپیرمن و پیرسون بیانگر همبستگی مثبت بین سطح سرمی ویفاتین با تعداد تومور (r=۰/۷۰۱ و P=۰/۰۰۱) و حاصل ضرب تعداد در سایز تومور (r=۰/۷۷۱ و P=۰/۰۰۰) بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان می دهد که CLA از طریق کاهش سطح سرمی ویفاتین باعث کاهش تعداد و اندازه تومورهای کولورکتال کاهش می‌یابد. از این رو، یکی از مکانیسم های ضد سرطانی لینولئیک اسید کونژوگه کاهش میزان ویفاتین سرمی است.

واژگان کلیدی: ویفاتین، لینولئیک اسید کونژوگه، سرطان کولورکتال

## مقدمه

سرطان کولورکتال سومین عامل مرگ و میر ناشی از سرطان در جهان و ایران است. بررسی‌های اخیر نشان می‌دهد که سالانه ۱/۲۳ میلیون نفر در سراسر جهان به این بیماری

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۸۱۱۵۲۸۴

Email: hdavoodi1345@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵/۵/۲



www.SID.ir

Archive of SID



مبتلا می‌شوند و شمار زیادی از افراد در اثر این بیماری جان خود را از دست می‌دهند [۳،۲،۱]. بروز این نوع سرطان در کشورهای در حال توسعه مخصوصاً در کشورهای آسیایی از جمله ایران، در طول دو دهه گذشته به طور چشمگیری افزایش پیدا کرده است [۵،۴،۸،۷،۶]. با بررسی مطالعات مختلف در می‌یابیم که یکی از ترکیباتی که ممکن است در پیشگیری از رشد و پیشرفت سرطان کولورکتال مؤثر باشد، CLA است [۱۲-۹] CLA از اسیدهای چرب امگا ۶ است که در اثر بیوهیدروژناسیون ناقص لینولئیک اسید، توسط باکتری‌های روده نشخوارکنندگان به‌وجود می‌آید و به طور طبیعی در مواد غذایی یافت می‌شود؛ اما عمده‌ترین منابع آن محصولات لبنی و فراورده‌های غذایی تهیه شده از گوشت حیوانات نشخوارکننده است. مطالعات نشان داده‌اند که CLA با استفاده از مسیرهای مختلف، می‌تواند خطر ابتلا به سرطان کولورکتال و هم‌چنین بدخیمی و پیشرفت آن را کاهش دهد [۲۳-۱۳]. به نظر می‌رسد علاوه بر مسیرهای یافت شده، به علت این‌که CLA دارای خواص ضدالتهابی می‌باشد [۲۵،۲۴]، می‌تواند با کاهش فاکتور پیش‌التهابی مانند ویسفاتین، از پیشرفت سرطان کولورکتال و بدخیمی پیشگیری کند.

ویسفاتینیک آدیپوکاین ۲۵ کیلودالتونی مترشحه از بافت چربی است که با نام‌های فسفوریبوزیل ترانسفراز، نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز (Nicotinamide phosphoribosyl transferase, NAMPT) و فاکتور تقویت‌کننده سلول‌های B (PBEF pre B-cell enhancing factor,) شناخته می‌شود [۲۶]. نتایج حاصل از مطالعات مختلف نشان دادند که سطوح سرمی ویسفاتین در بسیاری از بدخیمی‌ها افزایش یافته، که به همین علت بقای سلول‌های سرطانی و در نتیجه التهاب و متاستاز نیز افزایش می‌یابد [۳۵-۲۷]. در حالی‌که هنوز به طور دقیق و کامل مشخص نشده است که ویسفاتین از طریق چه مکانیسم‌هایی باعث افزایش بدخیمی و بقای سلول‌های سرطانی می‌شود، اما نتایج بعضی مطالعات تا کنون سه مکانیسم برای آن مطرح کرده‌اند که یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌ها، تأمین مداوم NAD به عنوان سوخت غالب سلول‌های سرطانی است [۳۷،۳۶،۳۵]. مطالعات نشان می‌دهند که سطح سرمی ویسفاتین شناساگر شدت سرطان کولورکتال در مراحل اولیه و پیشرفته بیماری است، به همین منظور با اندازه‌گیری سطح سرمی آن به عنوانیک بیومارکر، می‌توان میزان بدخیمی و درجه سرطان را تشخیص داد [۳۹،۳۸،۳۴،۳۳،۲۸،۲۷].

از آن‌جائی‌که در بروز سرطان، بسترهای التهابی مؤثر هستند [۴۲،۴۱،۴۰] و فاکتورهای التهابی همانند ویسفاتین به عنوان یک فاکتور تازه شناخته شده، می‌توانند در بروز بدخیمی و پیش‌روی آن اثرگذار باشند. [۴۳،۲۷-۳۵]، لذا در این مطالعه ازیک ماده ضدالتهابی همانند CLA، جهت پیشگیری و کنترل سرطان کولورکتال استفاده شد. از این رو با توجه به افزایش سطح سرمی ویسفاتین در سرطان کولورکتال و به دنبال آن افزایش میزان بدخیمی و پیشروی سرطان، احتمال می‌رود که یکی از ترکیباتی که بتواند با استفاده از خاصیت ضدالتهابی خود، باعث کاهش سطح سرمی ویسفاتین و در نتیجه کاهش تعداد تومور و اندازه آن در سرطان کولورکتال شود، CLA باشد؛ بنابراین این مطالعه طرح‌ریزی شد تا به بررسی اثر رژیم غنی شده با CLA بر سطح سرمی ویسفاتین در رت‌های مبتلا به سرطان کولورکتال بپردازد.

## مواد و روش‌ها

۱۶رت نر با نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران تهیه و در حرارت بین ۲۵-۲۲ درجه سانتی‌گراد در آزمایشگاه نگهداری شدند. سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، برای نگهداری این حیوانات رعایت گردید. به خاطر خوگیری با شرایط محیط رت‌ها به مدتیک هفته در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند، به گونه‌ای که در عین دسترسی آزاد به آب و غذا با شرایط آزمایشگاه سازش پیدا کنند.

تمام مراحل نگهداری، فرایندهای جراحی و بی‌هوشی حیوانات طبق موارد ذکر شده در آیین‌نامه اخلاقی نحوه



www.SID.ir

Archive of SID



برخورد با حیوانات آزمایشگاهی مصوبه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی که بر اساس آیین‌نامه برخورد با حیوانات آزمایشگاهی تنظیم شده بود، انجام گردید. در پایان آزمایش، حیوانات تحت بی‌هوشی و بدون درد با گیوتین کشته شدند و نمونه‌های مورد نیاز از آن‌ها تهیه گردید.

مواد ۲/۱دی‌متیل هیدرازین‌کلراید (CAS 306-37-6) با درصد خلوص ۹۸٪ خریداری شده از شرکت "Santa Cruz Biotechnology"؛ CLA ترکیبی از ایزومرهای cis-9,trans-11 و trans-10,cis-12) خریداری شده از شرکت Perennial Life sciences Pvt. Ltd.، Delhi، India؛ کیت ویسفاتین الایزا برای رت، خریداری شده از شرکت Zellbio-German, Germany، ZB-0471-R9648 (Assay range: 5ng/ml-2000ng/ml, sensitivity: 2.5ng/ml)؛ گزیلوکائین (۱۰mg/kg) به همراه کتامین (۵۰mg/kg) جهت بیهوش کردن رت‌ها. ۱۶رت نر در۲ گروه ۸ تایی کنترل و مورد مداخله، به صورت تصادفی قرار گرفتند. هر دو گروه در طول مدت مطالعه، رژیم غذایی استاندارد دریافت کردند.

رژیم استاندارد شامل ۴۶٪ کربوهیدرات، ۲۰٪ پروتئین، ۱۶٪ چربی، ۱۶٪ فیبر می‌باشد.

روش انجام کار ۱. برای ایجاد سرطان کولورکتال، تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین در هر دو گروه، به میزان ۱۵mg/kg هفته‌ای ۲ بار و به مدت ۶ هفته انجام شد [۴۴].

۲. در گروه کنترل، همزمان با شروع تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین، گاواژ آب مقطر به میزان ۰/۵ میلی‌لیتر بازای هر رت ۲۵۰ گرمی، به صورت روزانه، در ۴ هفته آغازین پژوهش انجام شد، تا شرایط برای هر دو گروه کنترل و مورد مداخله یکسان باشد.

۳. در گروه مورد مداخله، برای ارزیابی اثرات درمانی CLA، همزمان با تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین، گاواژ CLA به میزان ۲۰۰mg/kg، به صورت روزانه، در ۴ هفته آغازین پژوهش انجام شد [۴۵].

۴. نمونه‌های بافت و سرم رت‌ها، پس از ۶ هفته جمع‌آوری شد. به این ترتیب که حیوانات ابتدا تحت بی‌هوشی با تزریق داخل صفاقی گزیلوکائین (۱۰mg/kg) به همراه کتامین (۵۰mg/kg) قرار گرفتند و سپس بدون درد توسط گیوتین کشته شدند و نمونه‌های مورد نیاز جهت اندازه‌گیری ویسفاتین، اندازه تومور و تعداد تومور تهیه شدند.

۵. قسمتی از بافت کلون برای ارزیابی ماکروسکوپیک تعداد تومور، همچنین سایز تومور بر روی یخ جدا شد.

۶. جهت تهیه سرم حیوان، نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده، در سانتریفیوژ با دور ۱۲۰۰۰ RPM و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس سرم‌ها در فریزر ۴۰-، تا جمع‌آوری تمام نمونه‌ها، نگهداری شدند.

۷. برای اندازه‌گیری مقدار ویسفاتین جمع‌آوری شده از سرم حیوان، از روش الایزا استفاده شد؛ به این صورت که مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از سرم به هر چاهک پلیت الایزا اضافه شد و پس از شستشو و خارج کردن مواد باند نشده، کونژوگه که همان آنزیم پراکسیداز می‌باشد به چاهک اضافه و مجدداً محلول شستشو داده شد. بعد از آن سوبسترای TMB اضافه و محلول به مدت ۱۵ دقیقه نگه‌داری شد. سپس از محلول استاپ جهت توقف واکنش‌ها استفاده شد. سپس مقدار غلظت از روی جذب نوری نمونه‌ها و مقایسه با نمودار استاندارد با استفاده از یک دستگاه اسپکتروفتومتر، محاسبه گردید.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها تمامی آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار spss17 انجام شد.

جهت ارزیابی نرمال بودن ویسفاتین سرمی، تعداد تومور و سایز تومور، از تست Shapiro-Wilk استفاده شد و جهت ارزیابی پارامتریک همان داده‌ها از آزمون T استفاده شد. جهت ارزیابی‌های ناپارامتریک حاصل‌ضرب تعداد تومور در سایز تومور، از آزمون Mann-Whithney استفاده شد. جهت ارزیابی همبستگی بین سطح سرمی ویسفاتین و سایز تومور و همچنین سطح سرمی ویسفاتین و حاصل‌ضرب سایز تومور در تعداد تومور، از تست‌های پیرسون و اسپیرمن استفاده شد. در



www.SID.ir

Archive of SID



تمام آنالیزها میزان P<۰/۰۵ به عنوان تفاوت معنی‌دار تلقی شد.

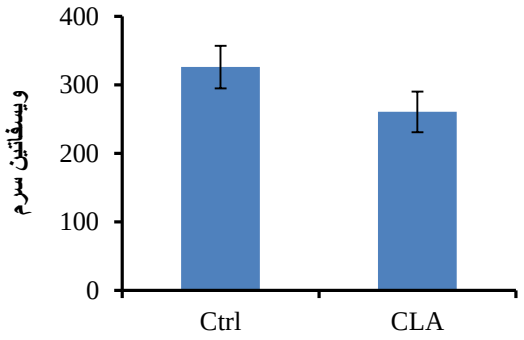
## نتایج

میانگین ویسفاتین سرم در گروه دریافت‌کننده CLA، برابر ۳۱/۲±۲۶۰/۳۹۹۷ نانوگرم بر میلی‌لیتر است، درحالی‌که این میزان برای گروه کنترل، برابر ۲۹/۷۳±۳۲۵/۹۰۷۳ نانوگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. با توجه به میزان P-value می‌توان اظهار کرد که این میزان از لحاظ آماری معنی‌دار است (p=۰/۰۰۱) و سطح ویسفاتین سرمی در گروه مورد مداخله در مقایسه با گروه کنترل، کاهش چشمگیری پیدا کرده است (شکل ۱).

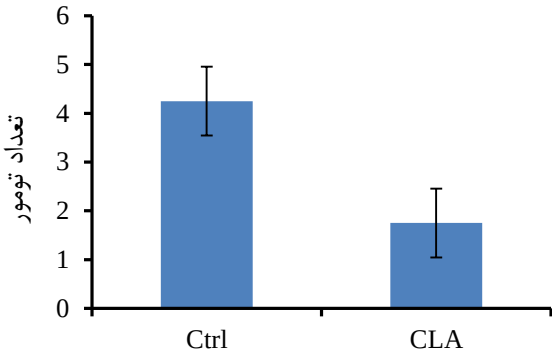
میانگین تعداد تومور در هر دو گروه کنترل و مداخله‌ای به ترتیب برابر ۰/۷۰۷±۴/۲۵ و ۰/۷۰۷±۱/۷۵ است؛ که این میزان از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (p=۰/۰۰۰). با توجه به این مقادیر می‌توان اظهار کرد که تعداد تومور در گروه مورد مداخله در مقایسه با گروه کنترل، کاهش یافته است (شکل ۲).

میانگین‌های مربوط به اندازه تومور در هر دو گروه کنترل و مداخله‌ای، به ترتیب برابر ۰/۸۳±۳/۸۹۷۵ و ۰/۷۴±۱/۴۴ میلی‌متر مکعب می‌باشد، که با توجه به P-value می‌توان اظهار داشت که این میزان از لحاظ آماری معنی‌دار است (p=۰/۰۰۰). مقادیر گویای این مطلب است که اندازه تومورها در گروه مورد مداخله نسبت به گروه کنترل، کاهش یافته است (شکل ۳).

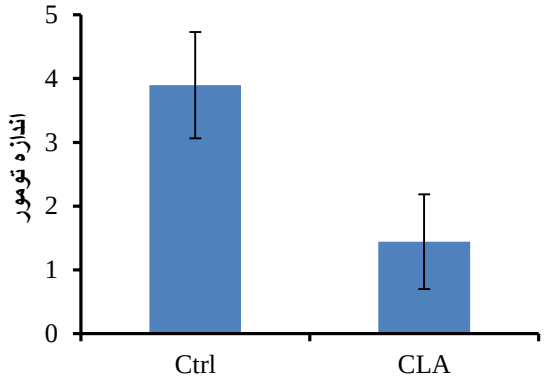
همبستگی بین سطح سرمی ویسفاتین با تعداد تومور (شکل A4) و همچنین همبستگی بین سطح سرمی ویسفاتین با حاصل‌ضرب تعداد تومور در اندازه تومور (شکل B4)، در تمام رت‌ها بدون تفکیک گروه‌ها، در این مطالعه بررسی شد. میزان r، جهت بررسی همبستگی بین دو فاکتور ویسفاتین و تعداد تومور (r=۰/۷۰۱ و p=۰/۰۰۱) و همچنین بین دو فاکتور ویسفاتین و حاصل‌ضرب تعداد تومور در اندازه تومور (r=۰/۷۷۱ و p=۰/۰۰۰) ارزیابی شد. ضریب همبستگی (r) و نزدیک بودن مقدار آن به عدد یک، نشان می‌دهد که بین سطح سرمی ویسفاتین و تعداد تومور و همچنین حاصل‌ضرب تعداد تومور در سایز تومور، همبستگی مستقیمی برقرار است. این بدان معناست که هر چقدر سطح سرمی ویسفاتین افزایش یابد، اندازه تومور و تعداد آن‌ها، به همان نسبت افزایش پیدا می‌کند (شکل A4 و B4).




شکل ۱. مقایسه میانگین سطح سرمی ویسفاتین در دو گروه کنترل و مورد مداخله




شکل ۲. مقایسه میانگین تعداد تومور در هر دو گروه کنترل و مورد مداخله



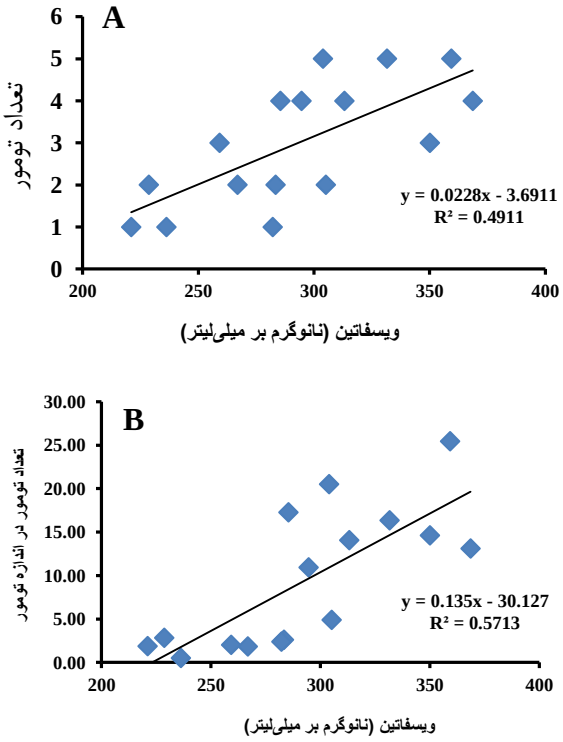

شکل ۱. مقایسه اندازه تومور در هر دو گروه کنترل و مورد مداخله



www.SID.ir

Archive of SID






شکل ۲. A: بررسی همبستگی بین سطح سرمی ویسفاتین و تعداد تومور و B: بررسی همبستگی بین سطح سرمی ویسفاتین و حداقل تعداد تومور در اندازه تومور

## بحث و نتیجه‌گیری

امروزه التهاب به عنوان شاخص سرطان مطرح است و شواهد روزافزونی در حال انتشار هستند که التهاب مزمن را با افزایش خطر سرطان مرتبط می‌دانند [۴۲،۴۱،۴۰]. برخی از آسیب‌های التهابی مختص به بافت، به عنوان پیش‌سازهای ایجاد سرطان در آن بافت مورد توجه هستند؛ به عنوان مثال می‌توان گاستریت را برای سرطان معده، بیماری‌های التهابی روده را برای سرطان کولون و پانکراتیت را برای سرطان پانکراس نام برد [۴۷،۴۶]. در برخی سرطان‌ها شرایط التهابی مقدم بر تغییرات بیماری است در حالی که در برخی دیگر تغییرات بیماری مقدم بر ریزمحیط التهابی هستند [۴۱]. از این‌رو تغییرات بیماری بعد از وقوع التهاب می‌توانند شروع شده یا بدتر شوند و افزایش میزان مارکرهای التهابی می‌توانند علت یا معلول سرطان باشند [۴۲،۴۱]. در هر دو سناریو، ریزمحیط التهابی باعث بدتر شدن تومور می‌شود زیرا شرایط کنترل‌نشده‌ی التهابی، باعث عدم ثبات ژنتیکی و پیشبرد سلول به سمت تکثیر، بقا، رگ‌زایی و متاستاز مرتبط با سرطان خواهد شد [۴۸،۴۲،۴۰]. ویسفاتین نیز به عنوانیک فاکتور مهم پیش‌التهابی، از طریق مسیرهای مختلف، نقش مهمی در ایجاد بدخیمی و متاستاز سرطان دارد [۳۵-۲۷،۴۳]. از این رو می‌توان اظهار داشت که فاکتورهای ضدالتهابی می‌توانند باعث کاهش ریزمحیط‌های التهابی و به‌دنبال آن، پیشگیری و کنترل سرطان شوند [۴۹]. CLA به عنوان یک ترکیب ضد التهابی مؤثر، می‌تواند از طریق مکانیسم‌های مختلف، باعث کنترل و پیشگیری از بدخیمی سرطان کولورکتال شود [۲۳-۱۴]. به‌نظر می‌رسد از آن‌جائی‌که فاکتورهای التهابی افزایش یافته در سرطان کولورکتال، خود، زمینه‌ساز پیشروی و بدخیمی این نوع سرطان است [۴۹]، لذا می‌توان با کاهش سطح سرمی ویسفاتین، به عنوان یک فاکتور پیش‌التهابی مؤثر در بدخیمی سرطان، از پیش‌روی و متاستاز جلوگیری نمود. در نتیجه در این مطالعه برای نخستین بار، پیشنهاد شد که از CLA جهت کنترل و کاهش ویسفاتین سرمی استفاده شود.

نتایج این مطالعه نشان دادند که با مصرف CLA، می‌توان به طور چشمگیری سطح سرمی ویسفاتین را در گروه مورد مداخله، نسبت به گروه کنترل کاهش داد (شکل ۱). در این مطالعه مشاهده شد که به‌دنبال کاهش ویسفاتین سرم، سایز تومور و همچنین تعداد تومور در گروه دریافت‌کننده CLA به میزان قابل توجهی در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (اشکال ۲ و ۳).

نتایج مطالعات جدید نشان داده‌اند که سطح سرمی ویسفاتین در سرطان‌هایی که نسبت به درمان مقاومند بالاتر رفته، به طوری‌که هر چقدر شدت و درجه پیشروی سرطان بیش‌تر باشد، سطح سرمی این آدیپوسایتوکین نیز بیش‌تر می‌شود. با اندازه‌گیری سطح سرمی ویسفاتین می‌توان پیشروی سرطان کولورکتال را از نظر درجه تهاجم بیماری، تشخیص داد [۵۰،۳۴،۳۳،۲۸،۲۷]. علی‌رغم مطالعات انجام شده در



www.SID.ir

Archive of SID



جهت شناختن مسیرهایی که ویسفاتین با استفاده از آن‌ها، باعث تحریک متاستاز و بدخیمی می‌شود؛ اما تا کنون تمام این عوامل و مسیرها به طور کامل مشخص نشده است. در حال حاضر پژوهشگران، تنها چند دلیل برای این امر مطرح کرده‌اند: ۱- تأمین مداوم سوخت مورد نیاز سلول‌های سرطانی مانند نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید و در نتیجه فراهم‌سازی انرژی جهت افزایش تکثیر؛ ۲- افزایش طول عمر و بقای سلول‌های سرطانی از طریق دخالت در سیکل سلولی ۳- افزایش بیان ژن SDF1 در سلول‌های سرطانی کولون [۳۷،۳۶،۳۵].

مطالعه حاضر نشان داد که به دنبال افزایش سطح ویسفاتین سرم در گروه کنترل نسبت به گروه مورد مداخله، تعداد و اندازه تومورها افزایش یافت؛ بدین صورت که هر چقدر سطح ویسفاتین سرمی افزایش می‌یافت، به همان نسبت تعداد تومور افزایش یافته و اندازه تومورها نیز بزرگ‌تر شده بود؛ در صورتی که با مقایسه سطح سرمی ویسفاتین در گروه دریافت‌کننده CLA نسبت به گروه کنترل، به‌دلیل کاهش مقدار ویسفاتین سرمی توسط CLA، به عنوان یک مسیر جدید، علاوه بر این‌که تعداد تومورها به میزان قابل توجهی کاهش یافته بود، اندازه تومورها نیز در گروه مورد مداخله نسبت به گروه کنترل، به صورت چشمگیری کاهش یافته بود (اشکال ۱ و ۲).

هم‌چنین نتایج همبستگی بین تعداد و اندازه تومور با سطح سرمی ویسفاتین، نشان‌دهنده وجود یک رابطه مستقیم بین آن‌ها می‌باشد؛ این بدان معناست که با افزایش ویسفاتین سرم، به همان نسبت تعداد تومورها افزایش یافته و سایز تومور نیز بزرگ‌تر می‌شود (اشکال 4 A و 4 B).

از سوی دیگر، مطالعات مختلف نشان داده‌اند که یکی از مواد مغذی که نقش محافظتی در سرطان‌ها از جمله در سرطان کولورکتال دارد، CLA می‌باشد [۱۲،۱۱،۱۰،۹].

نتایج مطالعات پیشین نشان داده‌اند که CLA با استفاده از مسیرهایی مانند تغییر متابولیسم آراشیدونیک اسید در غشای سلول‌های سرطانی و در نتیجه کاهش تولید ایکوزانوئیدهایی مانند PGE2 و TXB2، هم‌چنین فعال کردن PPARγ و در نتیجه افزایش القای آپوپتوز، تحریک تجمع پروتئین‌های سرکوبگر تومور از جمله P21، P27 و P53 و در نتیجه جلوگیری از رشد و کاهش تعداد و قطر تومور و نیز بهبود التهاب در روده التهابی، از پیشروی و بدخیمی سرطان کولورکتال، پیشگیری می‌کند [۲۳-۱۴].

مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مصرف خوراکی ایزومرهای مختلف CLA، مخصوصاً اشکال طبیعی و نه سنتتیک آن، باعث کنترل و پیشگیری از رشد و پیشروی و بدخیمی سرطان‌ها از جمله سرطان کولورکتال می‌شوند [۲۲،۲۱،۲۰،۱۷]. هم‌چنین در این مطالعه نقش محافظتی CLA و مکانیسم درگیر در پیشگیری از رشد و پیشرفت سرطان کولورکتال مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج مطالعات نشان‌دهنده این مطلب است که سطح سرمی ویسفاتین تحت تأثیر اسیدهای چربی مانند امگا ۳ قرار نمی‌گیرد؛ در حالی‌که نتایج مطالعه حاضر نشان داد که اسید چربی مانند CLA که از خانواده اسیدهای چرب امگا ۶ است، می‌تواند سطح سرمی ویسفاتین را کاهش دهد [۵۲،۵۱].

نتایج این مطالعه نشان داد که CLA، با کنترل و کاهش ویسفاتین سرمی، از طریق اثرات ضد التهابی خود، به عنوان یک مسیر جدید و تازه مانع از پیشروی و بدخیمی تومور شده و در نهایت با کاهش تعداد و کاهش قطر و اندازه تومور، می‌تواند اثرات درمانی نیز داشته باشد.

بنابراین می‌توان CLA را به عنوان یک ترکیب با اثرات ضد سرطانی و درمانی در نظر گرفت؛ که البته در این راستا به انجام مطالعات دقیق مولکولی در جهت تعیین دقیق مکانیسم‌های عمل‌کرد ضد سرطانی این ترکیب و نیز در صورت امکان، انجام مطالعات انسانی جهت تعیین اثربخشی CLA نیاز است.

با توجه به نتایج به‌دست آمده از این پژوهش، می‌توان بیان کرد که مصرف لینولئیک اسید کونژوگه باعث کاهش سطح



www.SID.ir

Archive of SID



سرمی ویسفاتین در گروه مورد مداخله نسبت به گروه کنترل، می‌شود. به دنبال کاهش ویسفاتین سرم، تعداد تومورهای کولورکتال، هم‌چنین اندازه تومورها در ناحیه کولورکتال در گروه مورد مداخله نسبت به گروه کنترل، کاهش چشمگیری می‌یابد.

در نتیجه می‌توان اظهار کرد که با کنترل ویسفاتین سرمی و سرکوب آن به عنوان یک عامل کلیدی در درمان سرطان، می‌توان یک راه‌کار تازه برای درمان سرطان کولورکتال ارائه داد. با استناد به نتایج این مطالعه، می‌توان بیان کرد که مصرف روزانه CLA، به علت کنترل و مهار ویسفاتین، می‌تواند به طور مؤثری، باعث کنترل و جلوگیری از پیشروی سرطان کولورکتال شود.

مزیت مطالعه

پیشنهاد مسیر جدیدی که CLA با استفاده از آن، باعث کنترل و پیشگیری از سرطان کولورکتال می‌شود. مسیر جدیدی که در این مطالعه به آن پرداخته شد؛ بررسی اثر ضدالتهابی CLA بر ویسفاتین سرمی و به‌دنبال آن کاهش سطح این آدیپوکاین به عنوانیک فاکتور پیش‌التهابی مهم در بروز سرطان کولورکتال می‌باشد. هم‌چنین علاوه بر فواید و مزایای مصرف خوراکی CLA، به دلیل بی‌خطر و غیر هجومی بودن این نوع روش درمان، می‌توان جهت کنترل سرطان کولورکتال، به راحتی در نمونه‌های انسانی مورد استفاده قرار بگیرد.

محدودیت مطالعه

یکی از محدودیت‌های اساسی که در مطالعات حیوانی وجود دارد، استفاده از داده‌های به‌دست آمده در این مطالعات و تعمیم نتایج برای انسان‌ها می باشد. زیرا تفاوت‌های بیولوژیکی بین گونه‌ها و حتی افراد یک گونه می‌تواند نتایج مختلفی را در شرایط یکسان به‌وجود آورد. سرطان کولورکتالیک بیماری پیش‌رونده است که پیاده‌سازی آن در مدل‌های حیوانی به‌راحتی صورت نمی‌گیرد، به همین منظور به منظور کوتاه‌سازی روند ابتلا به سرطان کولورکتال، از روش‌های مختلف از جمله تزریق زیر جلدی دی‌متیل‌هیدرازین در محیط آزمایشگاهی استفاده می‌شود. اما این مدل‌ها اغلب یک شبیه‌سازی کامل به حساب نمی‌آیند و نتایج برگرفته از این مطالعات را نمی‌توان به صورت مستقیم به سرطان کولورکتال، در نمونه‌های انسانی تعمیم داد. مطالعه حاضر با هدف تعیین مسیری جدید، جهت کاهش ویسفاتین سرمی توسط CLA، به منظور کنترل و پیشگیری از سرطان کولورکتال طرح‌ریزی شده بود و فقط بخش کوچکی از پاتولوژی پیچیده درگیر در این بیماری را مورد ارزیابی قرار داد. لازم به ذکر است که برای تعمیم نتایج به جوامع انسانی، بهتر است که این مطالعات در حجم‌های وسیع‌تر و گسترده‌تر صورت بگیرد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مرکز تحقیقات سرطان بخاطر حمایتهای مالی از طرح و همچنین از مدیریت دانشگاه ایران به دلیل همکاری صمیمانه در جهت استفاده از آزمایشگاه های این مرکز، کمال تشکر و سپاسگزاری را دارند.

## منابع

[1] Dolatkhah R, Somi MH, Kermani IA, Ghojazadeh M, Jafarabadi MA, Farassati F, Dastgiri S. Increased colorectal cancer incidence in Iran: a systematic review and meta-analysis. BMC Public Health 2015; 15: 997.

[2] Yazdizadeh B, Jarrahi AM, Mortazavi H, Mohagheghi MA, Tahmasebi S, Nahvijo A. Time trends in the occurrence of major GI cancers in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2005; 6: 130-134.

[3] Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J. Jemal A Global cancer statistics, 2012. CA Cancer J Clin 2015; 65: 87.

[4] Dolatkhah R, Somi MH, Bonyadi MJ, Asvadi Kermani I, Farassati F, Dastgiri S. Colorectal cancer in iran: molecular epidemiology and screening strategies. J Cancer Epidemiol 2015; 2015: 64302.

[5] Malekzadeh R, Bishehsari F, Mahdavinia M, Ansari R. Epidemiology and molecular genetics of colorectal cancer in Iran: A Review. Arch Iranian Med 2009; 12: 161-169.

[6] Rezaianzadeh A, Safarpour AR, Marzban M, Mohagheg A. A systematic review over the incidence of colorectal cancer in Iran. Ann Colorectal Res 2015; 3: e25724.

[7] Yazdizadeh B, Jarrahi AM, Mortazavi H, Mohagheghi MA, Tahmasebi S, Nahvijo A. Time trends in



www.SID.ir

Archive of SID



conjugated linoleic acid on young athletic males. J Pak Med Assoc 2016; 66: 280-284.

[25] Bassaganya-Riera J, Hontecillas R, Beitz DC. Colonic anti-inflammatory mechanisms of conjugated linoleic acid. Clin Nutr 2002; 21: 451-459.

[26] Ghaemmaghami S, Mohaddes SM, Hedayati M, Gorgian Mohammadi M, et al. Resistin and visfatin expression in HCT-116 colorectal cancer cell line. IJMCM Summer 2013; 2. (Persian).

[27] Nakajima TE, Yamada Y, Hamano T, Furuta K, Matsuda T, Fujita S, et al. Adipocytokines as new promising markers of colorectal tumors: adiponectin for colorectal adenoma, and resistin and visfatin for colorectal cancer. Cancer Sci 2010; 101: 1286-1291.

[28] Chen M, Wang Y, Li Y, Zhao L, Ye S, Wang S, et al. Association of plasma visfatin with risk of colorectal cancer: An observational study of Chinese patients. Asia Pac J Clin Oncol 2016; 12: e65-74.

[29] Huang WS, Chen CN, Sze CI, Teng CC. Visfatin induces stromal cell-derived factor-1 expression by beta1 integrin signaling in colorectal cancer cells. J Cell Physiol 2013; 228: 1017-1024.

[30] Fazeli MS, Dashti H, Akbarzadeh S, Assadi M, Aminian A, Keramati MR, et al. Circulating levels of novel adipocytokines in patients with colorectal cancer. Cytokine 2013; 62: 81-85.

[31] Buldak RJ, Gowarzewski M, Buldak L, Skonieczna M, et al, viability and oxidative response of human colorectal HCT-116 cancer cells treated with visfatin/ENAMPT in vitro. J Phys Pharmacol 2015; 66: 557-566.

[32] Frezza EE, Wachtel MS, Chiriva-Internati M. Influence of obesity on the risk of developing colon cancer. Gut 2006; 55: 285-291.

[33] Lu GW, Wang QJ, Xia MM, Qian J. Elevated plasma visfatin levels correlate with poor prognosis of gastric cancer patients. Peptides 2014; 58: 60-64.

[34] Neubauer K, Misa IB, Diakowska D, Kapturkiewicz B, Gamian A, Krzystek-Korpacka M. Nampt/PBEF/visfatin upregulation in colorectal tumors, mirrored in normal tissue and whole blood of colorectal cancer patients, is associated with metastasis, hypoxia, IL1beta, and anemia. BioMed Res Int 2015; 2015: 523930.

[35] Lv X, Zhang L, Zhu Y, Said HM, Shi J, Xu G. Regulative effect of nampt on tumor progression and cell viability in human colorectal cancer. J Cancer 2015; 6: 849-858.

[36] Pilz S, Mangge H, Obermayer-Pietsch B, Marz W. Visfatin/pre-B-cell colony-enhancing factor: A protein with various suggested functions. J Endocrinol Invest 2007; 30: 138-144.

[37] Huang WS, Chen CN, Sze CI, Teng CC. Visfatin induces stromal cell-derived factor-1 expression by beta1 integrin signaling in colorectal cancer cells. J Cell Physiol 2013; 228: 1017-1024.

[38] Pittelli M, Cavone L, Lapucci A, Oteri C, Felici R, Niccolai E, et al. Nicotinamidephospho- ribosyltransferase (NAMPT) activity is essential for survival of resting lymphocytes. Immunol Cell Biol 2014; 92: 191-199.

[39] Imai SI. Nicotinamidephosphoribosyltransferase (Nampt): a link between NAD biology, metabolism, and diseases. Curr Pharm Des 2009; 15: 20-28.

[40] Aggarwal BB, Gehlot P. Inflammation and cancer: how friendly is the relationship for cancer patients? Curr Opin Pharmacol 2009; 9: 351-369.

[41] Dep Prete A, Allavena P, Santoro G, Fumarulo R, Corsi MM, Mantovani A. Molecular pathways in cancer-related inflammation. Biochem Med 2011; 21: 264-275.

the occurrence of major GI cancers in Iran. Asian Pac J Cancer Prev 2005; 6: 130-134.

[8] Safaee A, Moghimi-Dehkordi B, Fatemi SR, Pourhoseingholi MA, Vahedi M, Pourhoseingholi A, et al. Frequency of colorectal cancer in healthy individual's relatives: A cross-sectional population-based study, Koomesh 2011; 12: 129-133. (Persian).

[9] Norat T, Riboli E. Dairy products and colorectal cancer, A review of possible mechanisms and epidemiological evidence. Eur J Clin Nutr 2003; 57: 1-17.

[10] Larsson SC, Bergkvist L, Wolk A. High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort. Am J Clin Nutr 2005; 82: 894-900.

[11] Clement Ip, Sou Fei Chin, Joseph A, Scimeca, Michael W, Pariza. Mammary cancer prevention by conjugated dienoic derivative of linoleic acid. Cancer Res 1991; 6118-6124.

[12] Cho E, Smith-Warner SA, Spiegelman D, Beeson WL, van den Brandt PA, Colditz GA, et al. Dairy foods, calcium, and colorectal cancer: a pooled analysis of 10 cohort studies. J Natl Cancer Inst 2004; 96: 1015-1022.

[13] Chouinard PY, Corneau L, Butler WR, Chilliard Y, Drackley JK, Bauman DE. Effect of dietary lipid source on conjugated linoleic acid concentrations in milk fat. J Dairy Sci 2001; 84: 680-690.

[14] Kelley NS, Hubbard NE, Erickson KL, Conjugated linoleic acid isomers and cancer. J Nutr 2007; 137: 2599-2607.

[15] Park HS, Ryu JH, Ha YL, Park JH. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA. Br J Nutr 2007; 86: 549.

[16] Wahle KW, Heys SD, Rotondo D. Conjugated linoleic acids: are they beneficial or detrimental to health? Prog Lipid Res 2004; 43: 553-587.

[17] Palombo JD, Ganguly A, Bistrian BR, Menard MP. The antiproliferative effects of biologically active isomers of conjugated linoleic acid on human colorectal and prostatic cancer cells. Cancer Lett 2002; 177: 163-172.

[18] Evans NP, Misyak SA, Schmelz EM, Guri AJ, Hontecillas R, Bassaganya-Riera J. Conjugated linoleic acid ameliorates inflammation-induced colorectal cancer in mice through activation of PPARgamma. J Nutr 2010; 140: 515-521.

[19] Kim KH, Park HS. Dietary supplementation of conjugated linoleic acid reduces colon tumor incidence in DMH-treated rats by increasing apoptosis with modulation of biomarkers. Nutrition 2003; 19: 772-777.

[20] Mandir N, Goodlad RA. Conjugated linoleic acids differentially alter polyp number and diameter in the Apc(min/+) mouse model of intestinal cancer. Cell Prolif 2008; 41: 279-291.

[21] Soel SM, Choi OS, Bang MH, Yoon Park JH, Kim WK. Influence of conjugated linoleic acid isomers on the metastasis of colon cancer cells in vitro and in vivo. J Nutr Biochem 2007; 18: 650-657.

[22] Guidong H, Xianfeng Zh, Yusheng C, Yan Ch. Antiproliferative effects of conjugated linoleic acid on human colon adenocarcinoma cell line Caco-2. Asia Pac J Clin Nutr 2007; 16: 432-436.

[23] Shiraishi R, Iwakiri R, Fujise T, Kuroki T, Kakimoto T, Takashima T, et al. Conjugated linoleic acid suppresses colon carcinogenesis in azoxymethane-pretreated rats with long-term feeding of diet containing beef tallow. J Gastroenterology 2010; 45: 625-635.

[24] Baghi AN, Mazani M, Nemati A, Amani M, Alamolhoda S, Mogadam RA. Anti-inflammatory effects of



www.SID.ir

Archive of SID



[42] Ono M. Molecular links between tumor angiogenesis and inflammation: inflammatory stimuli of macrophages and cancer cells as targets for therapeutic strategy. Cancer Sci 2008; 99: 1501-1506.

[43] Saghebjoo M, Dastigerdi S, Afzalpour ME, Hedayati M. Effects of aerobic and resistance training on plasma visfatin levels in overweight women. Koomesh 2012; 13: 225-232. (Persian).

[44] Park HS, Ryu JH, Ha YL, Park JH. Dietary conjugated linoleic acid (CLA) induces apoptosis of colonic mucosa in 1,2-dimethylhydrazine-treated rats: a possible mechanism of the anticarcinogenic effect by CLA. Br J Nutr 2007; 86: 549.

[45] Sanders S, Teachey M, Ptock A, Kraemer K, Hasselwander O, Henriksen EJ, Baumgard LH. Effects of specific conjugated linoleic acid isomers on growth characteristics in obese Zucker rats. Lipids 2004; 39: 537-543.

[46] Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. Nature 2002; 420: 860-867.

[47] Foltz CJ, Fox JG, Cahill R, Murphy JC, Yan L, Shames B, et al. Spontaneous inflammatory bowel disease in multiple mutant mouse lines: association with colonization by Helicobacter hepaticus. Helicobacter 1998; 3: 69-78.

[48] Kundu JK, Surh YJ. Inflammation: gearing the journey to cancer. Mutat Res 2008; 659: 15-30.

[49] Wang K, Karin M. Tumor-Elicited inflammation and colorectal cancer. Adv Cancer Res 2015; 128: 173-196.

[50] Shackelford RE, Mayhall K, Maxwell NM, Kandil E, Coppola D. Nicotinamide phosphoribosyltransferase in malignancy: a review. Genes Cancer 2013; 4: 447-456.

[51] Hajianfar H, Hosseinzadeh MJ, Bahonar A, Mohammad K, Askari GR, Entezari MH, et al. The effect of omega-3 on the serum visfatin concentration in patients with type II diabetes. J Res Med Sci 2011; 16: 490-495.

[52] Rafraf M, Mohammadi E, Asghari-jafarabadi M, Farzadi L. Omega-3 Fatty Acids Improve Glucose Metabolism without Effects on Obesity Values and Serum Visfatin Levels in Women with Polycystic Ovary Syndrome. J Am Coll Nutr 2012; 31: 361-368.



www.SID.ir

Archive of SID



# Effects of dietary conjugated linoleic acid on serum visfatin level and tumor number and size in rat model of colorectal cancer

Zahra kamal (M.Sc student)[1] Marjan Ajami (Ph.D)[2], Nasrin Beheshti (M.Sc student)[1], Morteza Abdollahi (Ph.D)[2], Sayed Hossein Davoodi (Ph.D)[*3,4]

*1- Dept. of Nutrition and Food Science, Nutrition and Food Technology Research Institute, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*2 – Dept. of Food and Nutrition Policy and Planning Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*3 - Cancer Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

*4 - Dept. of Nutrition Research, National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran*

(Received:; Accepted:)

***Introduction:*** Colorectal cancer is the third causes of cancer death in the world. Recent studies have shown that the serum levels of visfatin are increased during malignancies, suugesting a role for vistatin in pathogenegis of malignancies. It is suggested that conjugated linoleic acid, (CLA) can reduce the serum levels of vistatin. The aim of this syudy was to study the effects of dietary conjugated linoleic acid on serum visfatin level in rat model of colorectal cancer.

***Materials and Methods****:* Sixteen male Wistar rats, weighing 250-300 g were divided into two groups: control and experimental. Both groups were injected subcutaneously, with 1,2- Dimethyl Hydrazine at a dose of 15 mg/kg of body weight, twice per week for 6 weeks. The control group and experimental groups were gavaged with water (2 ml/kg) and CLA (200 mg/kg), respectively, for the first 4 weeks of study. After 6 weeks, the rats were killed and their blood and colorectal tissues were collected in order to analyze serum visfatin, tumor number and tumor size respectively by ELISA method, tumor numbering and macroscopic analysing.

***Results****:* Visfatin levels decreased dramatically in the experimental group than control group (P=0.001). Tumor number and tumor size increased considerably in the control group than experimental group (P = 0.000). There was a positive correlation between visfatin levels with tumor number (r =0.701, p = 0.001) and also between plasma visfatin with tumor number×tumor size (r=0.771, p=0.000).

***Conclusion****:* This study shows that dietary CLA by reducing serum visfatin can decrease the tumor number and tumor size in rat model of colorectal cancer. Thus, CLA suppresses colon carcinogenesis by a mechanim probably involving reduced serum visfatin.

**Keywords**: Visfatin, Conjugated linoleic Acid, Colorectal cancer

* Corresponding author. Tel: ++98 9128115284

hdavoodi1345@gmail.com



www.SID.ir