Archive of SID

بررسی اثرات رژیم غنی شده با اسید لینولئیک کونژوگه بر فاکتورهای اکسیدان آنتی اکسیدان رت‌های مبتلا به سرطان کولورکتال

نسرین بهشتی [۱](M.Sc)، سید حسین داودی [۲و۳](Ph.D)، زهرا کمال [۱](M.Sc)، مرتضی عبداللهی [۴](Ph.D)، مرجان عجمی [*۳](Ph.D)

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

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

۳- گروه تغذیه بالینی و رژیم‌درمانی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

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

چکیده

هدف: سرطان کولورکتال یک بیماری کشنده می‌باشد به‌طوری‌که سالانه ۱/۲ میلیون نفر به سرطان کولورکتال مبتلا می‌شوند. التهاب و اکسیدان‌ها از جمله عوامل افزایش‌دهنده خطر تشکیل تومور می‌باشند. استفاده از ترکیباتی از جمله اسید لینولئیک کونژوگه (Conjugated Linoleic Acid, CLA) می‌تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در رت‌های مبتلا به سرطان کولورکتال شود. هدف مطالعه حاضر، بررسی اثرات CLA بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و فاکتورهای اکسیدانی در رت‌های مبتلا به سرطان کولورکتال بود.

مواد و روش‌ها: ۱۶ سر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰ ـ ۲۵۸ گرم به‌طور تصادفی در ۲ گروه و ۸ تایی قرار گرفتند. برای ایجاد سرطان کولورکتال در همه گروه تحت تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین (۲۱ دوز هفته به مدت ۶ هفته) به میزان ۱۵mg/kg قرار گرفتند. در گروه کنترل هم‌زمان با شروع تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین، رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر به میزان ml/rat ۲ و در گروه دوم برای ارزیابی اثرات پیشگیرانه CLA هم‌زمان با تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین، گاواژ CLA به میزان mg/kg ۲۰۰ برای ۴ هفته انجام شد. در پایان هفته‌ها نمونه‌ها گرفته شده و نیاز جهت اندازه‌گیری بافتی مالون دی آلدهید (Malondialdehyde) و اندازه‌گیری عرمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide Dismutase) گلوتاتیون پراکسیداز (Glutation Peroxidase) پاراکسوناز (Paraxonase) و میلوپراکسیداز (Meyeloperoxidase) تهیه گردید.

یافته‌ها: در گروه دریافت‌کننده اسید لینولئیک کونژوگه، میزان مالون دی آلدهید و میلوپراکسیداز به طور معنی‌داری کاهش یافت (P<۰/۰۰۱). همچنین میزان فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گلوتاتیون پراکسیداز و پاراکسوناز افزایش معناداری پیدا کرد (P<۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: مصرف اسید لینولئیک کونژوگه باعث کاهش فاکتورهای اکسیدان و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در رت‌های مبتلا به سرطان کولورکتال می‌شود.

واژگان کلیدی: اسید لینولئیک کونژوگه، سرطان کولورکتال، مالون‌دی‌آلدهید، آنتی‌اکسیدان‌ها، موش صحرایی

مقدمه

سرطان کولورکتال یک بیماری کشنده و نسبتاً شایع در هر

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۲۶۷۱۹۲۹۴ Email: nutritionist80@gmail.com

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

www.SID.ir

Archive of SID

دو جنس می‌باشد. سالانه در جهان ۱/۲ میلیون نفر به سرطان کولورکتال مبتلا می‌شوند و ۶۰۸ هزار نفر در اثر این بیماری جان خود را از دست می‌دهند [۱]. در واقع سرطان کلورکتال ۹/۷ درصد کل سرطان‌ها را در جهان به خود اختصاص می‌دهد. این بیماری، سومین سرطان شایع در امریکا می‌باشد و در ایران سالانه ۵۰۰۰ نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند [۲]. آمارها نشان می‌دهند بروز بیماری در کشور ما در ۲۵ سال اخیر افزایش داشته است [۳]. سرطان کولورکتال در افراد مبتلا به کولیت, بیماری التهابی روده و کرون, شیوع بیش‌تری دارد [۴]. ۹۳/۸درصد افراد بالای ۵۰ سال مبتلا به سرطان کولورکتال را مردان شامل می‌شوند و تعداد مبتلایان در هر دو جنس بعد از ۸۰ سالگی کاهش می‌یابد [۵]. مطالعات نشان داده‌اند که مصرف رژیم غذایی مناسب و مصرف اسیدهای چرب غیر اشباع، در پیشگیری از بروز سرطان کولورکتال نقش موثری دارند [۶].

التهاب، خطر تشکیل تومور را افزایش می‌دهد [۷]. Conjugated linoleic acid CLA در بیماری‌های التهابی نقش پیشگیری‌کننده دارد و باعث بهبود التهاب روده و مانع ایجاد مواد سرطان‌زا می‌گردد [۱۳-۸]. مطالعات اپیدمیولوژی و آزمایشگاهی نشان می‌دهند که تغذیه و شیوه زندگی نیز نقش بسیار مهمی در ایجاد این بیماری دارند، به طوری که بسیاری از مواد مغذی و مکمل‌های غذایی باعث کاهش سرعت پیشرفت بیماری شده و باعث بهبود کیفیت زندگی می‌گردد [۱۴]. مصرف اسیدهای چرب غیر اشباع، از جمله CLA، باعث کاهش پاسخ‌های التهابی از طریق مکانیسم‌های مختلف می‌شود. این مکانیسم‌ها عبارتند از کنترل مسیر سنتز ایکوزانوئیدها [۱۵]، افزایش فعالیت PPARγ,Peroxisome proliferator-activated receptor γ [۱۶] و ماکروفاژها که نقش موثری در کنترل فرایندهای التهابی ایفا می‌کنند [۱۹-۱۷]. در پاسخ به رژیم غذایی حاوی اسید لینولئیک کونژوگه بیان PPAR γ در بافت چربی افزایش می‌یابد [۲۴-۲۰]. هم‌چنین این اسید چرب با اثر بر مسیرهای آپوپتوز باعث کاهش خطر گسترش سرطان کولورکتال می‌شود [۲۸-۲۴]. مصرف CLA باعث سرکوب التهاب مزمن احشا و کاهش التهاب القاکننده سرطان کولورکتال می‌شود [۲۹]. استرس اکسیداتیو یکی دیگر از ریسک فاکتورهای سرطان کولورکتال می‌باشد. به این دلیل که روده محل تولید مواد اکسیدان توسط فاگوسیت‌ها می‌باشد و این خطر در افراد مبتلا به بیماری گوارشی بیش‌تر است و می‌توانند منجر به تولید اکسیدان‌ها و افزایش شیوع سرطان شوند [۳۰]. آنزیم پاراکسوناز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد و از محافظ‌های اصلی لیپوپروتئین‌ها در برابر ترکیبات اکسیدکننده می‌باشد و دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی است. فعالیت و سطح پاراکسوناز در بسیاری از بیماری‌های التهابی ناشی از استرس اکسیداتیو و در سرطان کولورکتال کاهش می‌یابد [۳۱]. پاراکسوناز در اثر فعل و انفعال با کوآنزیم Q10 منجر به کاهش رهایی رادیکال سوپر اکسید (O_2^-) در غشا میتوکندریایی می‌شود, بدین صورت باعث مقاومت در برابر آپوپتوز می‌گردد [۳۲]. میلوپراکسیداز آنزیم اکسیدان اندروژن می‌باشد که در التهاب و استرس اکسیداتیو نقش دارد. میلوپراکسیداز منشاء تولید Reactive, Oxygen Species ROS در التهاب است و با اکسیدکردن آپولیپوپروتئین ,A1 باعث آسیب به عمل‌کرد محافظتی HDL می‌شود هم‌چنین افزایش این آنزیم می‌تواند باعث بدخیمی و بروز سرطان کلورکتال گردد [۳۳].

هدف از این مطالعه بررسی اثرات دریافت اسید لینولئیک کونژوگه بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و سطح فاکتور اکسیدان در رت‌های مبتلا به سرطان کولورکتال می‌باشد.

مواد و روش‌ها

طراحی مورد مطالعه نمونه‌های مورد مطالعه رت‌های سفید صحرایی نر نژاد ویستار با وزن ۳۰۰ - ۲۵۵ گرم بوده که 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

www.SID.ir

Archive of SID

حیوانات رعایت گردید. به خاطر خوگیری با شرایط محیط رت‌ها برای یک هفته در آزمایشگاه قرار دادیم به گونه‌ای که در عین دسترسی آزاد به آب و غذا با شرایط آزمایشگاه سازش یابند. تمام مراحل نگهداری، فرایندهای جراحی و بی‌هوشی حیوانات طبق موارد ذکر شده در آیین‌نامه اخلاقی نحوه برخورد با حیوانات آزمایشگاهی مصوبه دانشگاه که بر اساس آیین‌نامه بر خورد با حیوانات آزمایشگاهی تنظیم شده بود، انجام گردید. در پایان آزمایش حیوانات تحت بی‌هوشی قرار گرفته و بدون درد با گیوتین کشته شدند و نمونه‌های مورد نیاز از آن‌ها تهیه گردید.

مواد به منظور القاء سرطان کولورکتال در رت‌ها، دی متیل هیدرازین با درصد خلوص ۹۸درصد از شرکت "Santa Cruz Biotechnology" و به منظور گاواژ لینولئیک اسید کنژوگه (ترکیبی از ایزومرهای cis-9, trans-11 و trans-10,cis-12) از شرکت Perennial Life sciences Pvt. Ltd خریداری شدند.

هم‌چنین کیت مالون‌دی‌آلدهید از شرکت "NWLSS, Vancouver, WA, USA" و کیت گلوتاتیون پراکسیداز از شرکت "Glutathione Peroxidase Assay Kit (Colorimetric) (ab102530)" و کیت سوپر اکسید دیسموتاز از شرکت "ab65354, CB40FL; Abcam Plc, Cambridge, UK" و کیت آنتی‌بادی میلوپراکسیداز (orb11073) از شرکت Biorbyt و کیت آنتی‌بادی پاراکسوناز (orb6771) از شرکت Biorbyt خریداری شدند.

روش کار ۱۶رت به طور تصادفی در ۲ گروه ۸ تایی قرارگرفتند. به منظور خوگیری با محیط، رت‌ها را به مدت ۱ هفته در قفس‌های مربوطه در محیط آزمایشگاه قرار دادیم. برای ایجاد سرطان کولورکتال تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین به میزان ۱۵ mg/kg هفته‌ای ۲ بار و به مدت ۶ [۳۳] هفته انجام شد. درگروه اول هم‌زمان با شروع تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین، رژیم استاندارد همراه با گاواژ آب مقطر به میزان ml/rat ۰/۵ در ۳۰ روز آغازین پژوهش انجام شد تا شرایط برای هر دو گروه کنترل و مورد مداخله یکسان باشد. در گروه دوم به منظور بررسی اثرات پیشگیری‌کننده CLAهم‌زمان با تزریق دی متیل هیدرازین، رژیم استاندارد همراه با گاواژCLA به میزان ۲۰۰ mg/kg به مدت ۳۰ روز [۳۴] انجام شد.

رژیم استاندارد شامل کربوهیدرت (۴۶ درصد)، پروتئین (۲۰ درصد)، چربی (۱۶ درصد) و فیبر (۱۶ درصد) بود.

سپس نمونه‌های بافت و سرم پس از ۶ هفته جمع‌آوری گردید به این ترتیب که حیوانات تحت بی‌هوشی با تزریق داخل صفاقی (IP) گزیلوکائین (mg/kg10) همراه با کتامین (mg/kg50) قرار گرفتند و بدون درد توسط گیوتین کشته شدند و نمونه‌های مورد نیاز جهت اندازه‌گیری بافتی مالون دی آلدهید (malondialdehyde) و اندازه‌گیری سرمی سوپر اکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutation peroxidase)، پاراکسوناز (Paraxonase) و میلوپراکسیداز (Meyeloperoxidase) از آن‌ها تهیه گردید.

۱- برای ایجاد سرطان کولورکتال تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین به میزان ۱۵ mg/kg هفته‌ای ۲ بار و به مدت ۶ هفته انجام شد.

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

۳- در گروه دوم برای ارزیابی اثرات پیشگیرانه CLA، هم‌زمان با تزریق زیر جلدی دی متیل هیدرازین، گاواژ CLA به میزان ۲۰۰ mg/kg در ۴ هفته آغازین پژوهش انجام شد.

۴- جمع‌آوری نمونه‌های بافت و سرم پس از ۶ هفته صورت گرفت، به این ترتیب که حیوانات ابتدا تحت بی‌هوشی با تزریق داخل صفاقی گزیلوکائین (۱۰ mg/kg) به همراه کتامین (۵۰ mg/kg) قرار گرفتند و سپس بدون درد توسط گیوتین کشته شدند.

۵- نمونه‌های مورد نیاز جهت اندازه‌گیری بافتی مالون دی آلدهید (malondialdehyde) از بافت روده تهیه شد.

www.SID.ir

Archive of SID

۶- برای اندازه‌گیری سرمی مقدار فاکتورهای سوپر اکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase)، گلوتاتیون پراکسیداز (Glutation peroxidase)، پاراکسوناز (Paraxonase) و میلوپراکسیداز (Meyeloperoxidase) نمونه‌های خون از رت‌ها تهیه شد.

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

آنالیز بیوشیمیایی سطح MDA به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدی استفاده می‌شود که نشان‌دهنده میزان آسیب ناشی از عمل‌کرد رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. MDAدر بافت برداشته شده تومور اندازه‌گیری شد. پراکسیداسیون لیپیدی توسط ارزیابی سطح MDA با استفاده از Colorimetric Assay Kitمورد ارزیابی قرار گرفت. سطح سرمی سوپراکسید دیسموتاز(SOD) و گلوتاتیون پراکسیداز، به عنوان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که بافت را در برابر آسیب ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن reactive oxygen species (ROS)محافظت می‌کند، به همراه گلوتاتیون پراکسیداز (GPx)با روشKit Colorimetric Assay اندازه‌گیری شدند. سطح آنزیمParaxonase که دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد و آنزیمmyeloperoxidase که از نوتروفیل‌ها آزاد می‌شود و اثرات پیش‌التهابی دارد به روش ELISAاندازه‌گیری شدند. 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 شد 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 و در نهایت مقدار غلظت از روی جذب نوری نمونه‌ها و مقایسه با نمودار استاندارد با استفاده از یک دستگاه اسپکتروفتومتر، محاسبه گردید.

Colorimetric Assay Kit در این روش از تیوباربیتوریک اسید برای تشخیص استفاده می‌شود. در واقع در اثر واکنش تیوباربیتوریک اسید با ماده مورد ارزیابی یک رنگی تولید می‌شود که قابل ارزیابی و سنجش می‌باشد.

آنالیز آماری داده‌ها تمامی آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار spss17 انجام شد. ارزیابی نرمال بودن فاکتورهای میلوپراکسیداز، پاراکسوناز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و مالون دی آلدهید به دلیل این‌که تعداد نمونه‌ها از ۳۰ عدد کم‌تر بود، از تست شپیرو- ویلک استفاده شد. برای بررسی همگنی واریانس‌های همان داده‌ها از آزمون لون استفاده شد. برای ارزیابی پارامتریک فاکتورهای پاراکسوناز، گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و مالون دی آلدهید از آزمون پارامتریک T استفاده شد و برای ارزیابی ناپارامتریک فاکتور میلوپراکسیداز از آزمون ناپارامتریک من- ویتنی استفاده شد. در تمام آنالیزها میزان P<۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری تلقی شد.

نتایج

مقایسه میانگین میزان مالون دی آلدئید در گروه مداخله و کنترل

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دو گروه مداخله و کنترل

سطح شاخص پراکسیدان مالون‌دی‌آلدهید در دو گروه مداخله و کنترل در پایان مطالعه با هم مقایسه شد. میانگین سطح فاکتور MDA در گروه کنترل برابر با ۱۶۵/۱۴±۱۵/۸۷ (U/M) و در گروه مداخله برابر با ۱۲۱/۵۴±۱۷/۷۵ (U/M)می‌باشد که در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنادار داشت (P<۰/۰۰۱) (جدول۱).

سطح فاکتور سوپر اکسید دیسموتاز در هر دو گروه کنترل و مداخله در پایان مطالعه ارزیابی گردید. میانگین سطح سوپر اکسید دیسموتاز در گروه کنترل برابر با ۶۸/۰۰±۷/۵۱ (U/ml) و در گروه مداخله برابر با ۱۲۳ /۳۲±۱۷/۷۵ (U/ml)بود. نتایج افزایش قابل توجه سطح سوپر اکسید دیسموتاز در گروه مداخله نسبت به گروه

www.SID.ir

Archive of SID

کنترل را نشان داد که بیان‌کننده نقش موثر CLA در افزایش فاکتورهای آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (P<۰/۰۰۱) (جدول۱).

سطح فاکتور گلوتاتیون پراکسیداز در هر دو گروه کنترل و مداخله در پایان مطالعه ارزیابی گردید. میانگین سطح این فاکتور در گروه کنترل برابر با (U/mg) ۳/۷۴ ±۱۱/۹۲ و در گروه مداخله برابر با (U/mg) ۳/۰۱ ± ۲۳/۰۴ بود. نتایج حاکی ازآن است که سطح گلوتاتیون پراکسیداز در گروه مداخله افزایش چشمگیری نسبت به گروه کنترل داشت، بنابراین CLA اثر مفیدی در افزایش فعالیت آنزی‌های آنتی‌اکسیدانی دارد (P<۰/۰۰۱) (جدول۱).

مقایسه میانگین فاکتورهای میلوپراکسیداز و پاراکسوناز در گروه کنترل و مداخله سطح شاخص اکسیدان میلوپراکسیداز در هر دو گروه کنترل و مداخله در پایان مطالعه ارزیابی گردید. میانگین سطح میلوپراکسیداز در گروه کنترل برابر با (ng/ml)۱۴۷/۸۴±۵۵۹/۰۵ و در گروه مداخله برابر با (ng/ml)۱۵/۷۷±۱۰۸/۳۲ می‌باشد. بنابراین سطح میلوپراکسیداز در گروه مداخله نسبت به گروه کنترل کاهش چشمگیری داشت، که بیان‌کننده نقش قابل ملاحظه اسید لینولئیک کونژوگه در کاهش شاخص اکسیدان می‌باشد (P<۰/۰۰۱) (جدول۲).

سطح فاکتور پاراکسوناز در دو گروه مداخله و کنترل در پایان مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت. میانگین سطح این فاکتور در گروه کنترل برابر با (mUI/mg Pr) ۰/۱۵±۱/۱۷ و در گروه مداخله برابر با (mUI/mg Pr) ۰/۳۱±۱/۷۱ می‌باشد. نتایج بیان‌کننده افزایش سطح فاکتور پاراکسوناز در گروه مداخله در مقایسه با گروه کنترل می‌باشد. یافته‌ها نشان می‌دهند مصرف اسید لینولئیک کونژوگه نقش حائز اهمیتی در افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در موش‌های صحرایی مبتلا به سرطان کولورکتال دارد (P<۰/۰۰۱) (جدول۲).

جدول ۱. بررسی میانگین میزان مالون دی‌آلدئید در بافت روده و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سرم در گروه مداخله و کنترل

گروه / شاخص	مداخله (Mean ± SD)	کنترل (Mean ± SD)	واحد	P value
MDA	۱۲۱/۵۴±۱۷/۷۵	۱۶۵/۱۴±۱۵/۸۷	U/M	P<0.001
SOD	۱۲۳ /۳۲±۱۷/۷۵	۶۸/۰۰ ±۷/۵۱	U/ml	P<0.001
GPx	۲۳/۰۴±۳/۰۱	۱۱/۹۲±۳/۷۴	U/mg	P<0.001

* GPx: Glutatione peroxidase، * SOD: Superoxide dismutase و * MDA: Malondialdehyde

جدول ۲. بررسی میانگین میزان فاکتورهای میلوپراکسیداز و پاراکسوناز سرم در گروه کنترل و مداخله

گروه / شاخص	مداخله (Mean ± SD)	کنترل (Mean ± SD)	واحد	P value
MPO	۱۰۸/۳۲±۱۵/۷۷	۵۵۹/۰۵±۱۴۷/۸۴	ng/ml	P<0.001
PON	۱/۷۱±۰/۳۱	۱/۱۷±۰/۱۵	mUI/mg Pr	P<0.001

MPO : Myeloperoxidase و PON: Paraxonase

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر جهت بررسی اثر مصرف لینولئیک اسید کونژوگه بر کاهش سطح فاکتورهای پراکسیدانی و افزایش سطح فاکتورهای آنتی اکسیدانی طرح‌ریزی شد.

نتایج این مطالعه نشان داد که با مصرف اسید لینولئیک کونژوگه می‌توان به طور چشمگیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز را در گروه مداخله، نسبت به گروه کنترل افزایش داد (جدول۱). همچنین در اثر مصرف اسید لینولئیک کونژوگه سطح شاخص

www.SID.ir

Archive of SID

پراکسیدان مالون‌دی‌آلدهید بافت روده در گروه مداخله، نسبت به گروه کنترل کاهش قابل توجهی پیدا کرد (جدول۱). از جمله فاکتورهای دیگر که در این مطالعه مورد ارزیابی قرار گرفت، میزان سرمی میلوپراکسیداز و پاراکسوناز می‌باشند. در اثر مصرف اسید لینولئیک کونژوگه میزان میلوپراکسیداز سرم به عنوان شاخص اکسیدان، کاهش و میزان فعالیت پاراکسوناز سرم افزایش قابل ملاحظه‌ای در گروه مداخله نسبت به گروه کنترل داشت (جدول۲).

برخی از مطالعات اخیر اظهار داشتند که استرس اکسیداتیو یکی از ریسک فاکتورهای سرطان کولورکتال می‌باشد و می‌تواند منجر به تولید اکسیدان‌ها و افزایش شیوع سرطان و تحریک متاستاز و بدخیمی شود (۳۸-۳۵).

برخی شواهد حاکی از این امر می‌باشند که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و محصولات پراکسیدانی در طی پیشرفت سرطان کلورکتال دستخوش تغییر می‌شوند. افزایش میزان محصولات پراکسیدان و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برخی مطالعات مشاهده شده است [۳۹].

میلوپراکسیداز و پاراکسوناز آنزیم‌های مرتبط با HDL هستند و نسبت آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. میلوپراکسیداز در طول التهاب منبع ROS می‌باشد و می‌تواند HDL را اکسید کند [۳۰] اما اثرگذاری پاراکسوناز برعکس میلوپراکسیداز می‌باشد و نقش محافظتی برای آن دارد، همچنین این فاکتور در اثر فعل و انفعال با کوآنزیم Q10منجر به کاهش رهایی O^{-}_{2} در غشا میتوکندریایی می‌شود, بدین صورت باعث مقاومت در برابر آپوپتوز می‌شود [۳۱]. پاراکسوناز همچنین دارای اثرات آنتی اکسیدانی می‌باشد [۳۰و۴۰]، یک مطالعه کوهورت نشان داده است که سطح HDL با خطر سرطان کولورکتال ارتباط معکوس دارد. بنابراین از آنجایی که سطح پاراکسوناز با بیماری‌های قلبی و دیابت مرتبط می‌باشد و با توجه به اثرات آنتی‌اکسیدانی آن، شاید بتواند به عنوان یک فاکتور مهم در بیماری‌های مزمن و سرطان نقش ایفا کند.

نتایج مطالعات نشان داده‌اند که اسید لینولئیک کنژوگه از طریق مکانیسم‌های مختلف مانند تغییر متابولیسم آراشیدونیک اسید در غشای سلول‌های سرطانی و در نتیجه کاهش تولید ایکوزانوئیدهایی مانند PGE2 و TXB2، همچنین افزایش فعالیت PPARγ، ماکروفاژها، T سل‌ها و در نتیجه افزایش القای آپوپتوز، تحریک تجمع پروتئین‌های سرکوبگر تومور از جمله P53، P27 و P21 می‌تواند بر کاهش خطر گسترش سرطان کولورکتال اثر گذار باشد. بنابراین می‌توان از اسید لینولئیک کونژوگه به عنوان یکی از عوامل اثرگذار در کاهش عوامل پراکسیدانی نام برد [۱۷ و ۱۸].

از طرفی باید در نظر داشت که منابع غذایی غنی از اسید لینولئیک کونژوگه منابع حیوانی مانند شیر، کره و گوشت قرمز هستند که براساس مطالعات اپیدمیولوژیک جزء ریسک فاکتورهای سرطان کلورکتال محسوب می‌شوند [۳۹].

۲ فرضیه در این مورد وجود دارد. ۱) گوشت غنی از اسیدهای چرب اشباع و آهن می‌باشد که می‌تواند به عنوان ریسک فاکتور سرطان کولورکتال باشد اما در مقابل حاوی ریز مغذی‌های مفید دیگر مانند CLA و کلسیم می‌باشد که نقش بازدارنده از سرطان کولورکتال ایفا می‌کند. ۲) واحد و میزان مصرف مواد غذایی از اهمیت ویژه برخوردار است و مصرف بالای این مواد غذایی احتمالا می‌تواند اثر منفی داشته باشند. یک مطالعه کوهورت نشان داد که مصرف روزانه ۲ سرو‌ینگ لبنیات پرچرب, باعث کاهش ۱۳٪ سرطان کولورکتال گردید [۴۱]. بنابراین CLA می‌تواند به عنوان یک فاکتور اندوژن تعدیل کننده عمل کند.

از جمله محدودیت‌های مطالعه گاواژ رت‌ها می‌باشد که نیازمند توجه و دقت بسیار است تا در طول مطالعه هیچ یک از رت‌ها جان خود را از دست ندهند. همچنین دیگر محدودیت اساسی که در مطالعات حیوانی وجود دارد، استفاده از داده‌های بدست 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

www.SID.ir

Archive of SID

یکسان بوجود آورد. سرطان کولورکتال یک بیماری پیشرونده است که پیاده‌سازی آن در مدل‌های حیوانی به‌راحتی صورت نمی‌گیرد، بنابراین به منظور کوتاه سازی روند ابتلا به سرطان کولورکتال، از روش‌های مختلف از جمله تزریق زیر جلدی دی‌متیل‌هیدرازین در محیط‌آزمایشگاهی استفاده می‌شود. اما این مدل‌ها اغلب یک شبیه سازی کامل به حساب نمی‌آیند و نتایج برگرفته از این مطالعات را نمی‌توان به صورت مستقیم به سرطان کولورکتال، در نمونه های انسانی تعمیم داد. همچنین به دلیل القا سرطان کولورکتال، سیستم ایمنی رت‌ها ضعیف می‌شود بنابراین حفظ و نگهداری رت‌ها در محیط تمیز و عاری از آلودگی به منظور پیشگیری از ابتلا به عفونت از اهمیت ویژه برخوردار است. به طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که مصرف اسید لینولئیک کونژوگه در مبتلایان به سرطان کولورکتال می‌تواند باعث کاهش قابل ملاحظه فاکتورهای اکسیدان، پرواکسیدن و افزایش فاکتورهای آنتی اکسیدانی شود. البته در این راستا انجام مطالعات بیشتر در حجم‌های وسیع‌تر و مطالعات انسانی جهت تعیین اثر بخشی لینولئیک اسید کونژوگه لازم است.

تشکر و قدردانی

نویسندگان، این مقاله از مرکز تحقیقات سرطان دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به خاطر حمایت های مالی از این طرح تشکر و قدرانی می نمایند

منابع

[1] Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C et al. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer 2010; 127: 2893-2917.

[2] Roya Dolatkhah, Mohammad Hossein Somi, Mortaza Jabbarpour Bonyadi, Iraj Asvadi Kermani, et al. Colorectal cancer in Iran: molecular epidemiology and screening strategies. J Cancer Epidemiol 2015; 2015: 643020.

[3] Spunt S, Furman W, La Quaglia M, Bondy M, Goldberg R. Cancerepidemiology in older adolescents and young adults 15 to 29 years ofage. In: SEER AYA monograph. Bethesda (MD): National Cancer Institute; 2008. p. 123–33.

[4] Joanna Kocot1, A–F, Małgorzata Kiełczykowska1, C, E, Wojciech Dabrowski2, G et al .Total Antioxidant Status Value and Superoxide Dismutase Activity in Human Colorectal Cancer Tissue Depending on the Stage of the Disease: A Pilot Study. Adv Clin Exp Med 2013, 22, 431–437.

[5] Crumb DJ, Conjugated Linoleic Acid (CLA)-An Overview. 2011 Sep-Oct; 4 (3). 12-18. Zidi I, Mestiri S, Bartegi A, Amor NB. TNF-alpha and its inhibitors in cancer. Med Oncol 2010; 27: 185-198.

[6] Carter AB, Misyak SA, Hontecillas R, Bassaganya-Riera J. Dietary modulation of inflammation-induced colorectal cancer through PPARgamma. PPAR Res 2009; 2009; 498352.

[7] Park Y, Storkson JM, Albright KJ, Liu W, Pariza MW. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. Lipids 1999; 34: 235-241.

[8] Nagao K, Inoue N, Wang YM, Yanagita T. Conjugated linoleic acid enhances plasma adiponectin level and alleviates hyperinsulinemia and hypertension in Zucker diabetic fatty (fa/fa) rats. Biochem Biophys Res Commun 2003; 310: 562-566.

[9] Dai Y, Qiao L, Chan KW, Yang M, Ye J, Ma J, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma contributes to the inhibitory effects of Embelin on colon carcinogenesis. Cancer Res 2009; 69: 4776-4783.

[10] Takano S, Kubota T, Nishibori H, Hasegawa H, Ishii Y, Nitori N, et al. Pioglitazone, a ligand for peroxisome proliferator-activated receptor-gamma acts as an inhibitor of colon cancer liver metastasis. Anticancer Res 2008; 28: 3593-3599.

[11] Ogino S, Shima K, Baba Y, Nosho K, Irahara N, Kure S, et al. Colorectal cancer expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPARG, PPARgamma) is associated with good prognosis. Gastroenterology 2009; 136: 1242-1250.

[12] Pancione M, Forte N, Sabatino L, Tomaselli E, Parente D, Febbraro A, Colantuoni V. Reduced beta-catenin and peroxisome proliferatoractivated receptor-gamma expression levels are associated with colorectal cancer metastatic progression: correlation with tumor-associated macrophages, cyclooxygenase 2, and patient outcome. Hum Pathol 2009; 40: 714-725.

[13] Onsory KH, Mousavi M, Haji Mehdi Nouri Z, Vahabi Barzi N. Association between estrogen and progesterone receptors gene polymorphisms with prostate cancer. Koomesh 2016; 17: 455-463.

[14] Fujisawa T, Sugiyama M, Tomimoto A, Wada K, Endo H, Takahashi H, et al. Inhibition of peroxisome proliferator-activated receptor gamma promotes tumorigenesis through activation of the beta-catenin/T cell factor (TCF) pathway in the mouse intestine. J Pharmacol Sci 2008; 108: 535-544.

[15] Calder PC. Dietary fatty acids and the immune system. Nutr Rev 1998; 56: S70-83.

[16] Calder PC. Polyunsaturated fatty acids, inflammatory processes and inflammatory bowel diseases. Mol Nutr Food Res 2008; 52: 885-897.

[17] Tontonoz P, Nagy L, Alvarez JG, Thomazy VA, Evans RM. PPARgamma promotes monocyte/macrophage differentiation and uptake of oxidized LDL. Cell 1998; 93: 241-252.

[18] Thompson EA. PPARgamma physiology and pathology in gastrointestinal epithelial cells. Mol Cells 2007; 24: 167-176.

[19] Clark RB, Bishop-Bailey D, Estrada-Hernandez T, Hla T, Puddington L, Padula SJ. The nuclear receptor PPAR gamma and immunoregulation: PPAR gamma mediates inhibition of helper T cell responses. J Immunol 2000; 164: 1364-1371.

www.SID.ir

Archive of SID

endoplasmic reticulum. Free Radic Biol Med 2007; 43: 730-739.

[32] Wang H, Wang HS, Zhou BH, Li CL, Zhang F, Wang XF, et al. Epithelial-mesenchymal transition (EMT) induced by TNF-α requires AKT/GSK- 3β-mediated stabilization of snail in colorectal cancer. PloS One 2013; 8: e56664.

[33] 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: 549-555.

[34] 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.

[35] Francesca Maffeia, Cristina Angelonib, Marco Malagutib, Juan Manuel Zolezzi Moragaa, et al. Plasma antioxidant enzymes and clastogenic factors as possible biomarkers of colorectal cancer risk. Mutat Res 2011; 714: 88-92.

[36] Bulbuller N, Eren E, Ellidag HY, Oner OZ, Sezer C, et al. Diagnostic value of thiols, paraoxonase 1, arylesterase and oxidative balance in colorectal cancer in human. Neoplasma 2013; 60.419-424.

[37] Malinowska K, Mik M, Dziki Ł, Dziki A, Majsterek I. Evaluation of antioxidant defense in patients with colorectal carcinoma. Pol Przegl Chir 2015; 87: 357-361.

[38] Skrzydlewska E, Sulkowski S, Koda M, Zalewski B, et al. Lipid peroxidation and antioxidant status in colorectal cancer. World J Gastroenterol 2005; 11: 403-406.

[39] Kocot J, Kieczykowska M, Dabrowski W, Piłat J, Rudzki S, Musik I. Total antioxidant status value and superoxide dismutase activity in human colorectal cancer tissue depending on the stage of the disease: A Pilot Study. Adv Clin Exp Med 2013; 22: 431-437.

[40] 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 Gastroenterol 2010; 45: 625-635.

[41] Larsson SC1, Bergkvist L, Wolk A. High-fat dairy food and conjugated linoleic acid intakes in relation to colorectal cancer incidence in the Swedish Mammography Cohort1. Am J Clin Nutr 2005; 82: 894-900.

[20] Hontecillas R, Wannemeulher MJ, Zimmerman DR, Hutto DL, WilsonJH, Ahn DU, Bassaganya-Riera J. Nutritional regulation of porcine bacterial-induced colitis by conjugated linoleic acid. J Nutr 2002; 132: 2019-2027.

[21] McNeel RL, Smith EO, Mersmann HJ. Isomers of conjugated linoleic acid modulate human preadipocyte differentiation. In Vitro Cell Dev Biol Anim 2003; 39: 375-382.

[22] Meadus WJ, MacInnis R, Dugan ME. Prolonged dietary treatment with conjugated linoleic acid stimulates porcine muscle peroxisome proliferator activated receptor gamma and glutamine-fructose aminotransferase gene expression in vivo. J Mol Endocrinol 2002; 28: 79-86.

[23] Kohno H, Suzuki R, Yasui Y, Hosokawa M, Miyashita K, Tanaka T. Pomegranate seed oil rich in conjugated linolenic acid suppresses chemically induced colon carcinogenesis in rats. Cancer Sci 2004; 95: 481-486.

[24] Bassaganya-Riera J, Reynolds K, Martino-Catt S, Cui Y, Hennighausen L, Gonzalez F, et al. Activation of PPAR gamma and delta by conjugated linoleic acid mediates protection from experimental inflammatory bowel disease. Gastroenterology 2004; 127: 777-791.

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

[26] Bassaganya-Riera J, Hontecillas R. CLA and n-3 PUFA differentially modulate clinical activity and colonic PPAR-responsive gene expression in a pig model of experimental IBD. Clin Nutr 2006; 25: 454-465.

[27] Serini S, Piccioni E, Merendino N, Calviello G. Dietary polyunsaturated fatty acids as inducers of apoptosis: implications for cancer. Apoptosis 2009; 14: 135-152.

[28] O'Shea M, Bassaganya-Riera J, Mohede IC. Immunomodulatory properties of conjugated linoleic acid. Am J Clin Nutr 2004; 79: S1199-1206.

[29] Joanna Kocot1 AF, Małgorzata Kiełczykowska1, CE, Wojciech Dabrowski2 G, et al. Total antioxidant Status value and superoxide dismutase activity in human colorectal cancer tissue depending on the stage of the disease: a pilot study. Adv Clin Exp Med 2013; 22: 431-437.

[30] Yilmaz N, Aydin O, Yegin A, Tiltak A, Eren E. Increased levels of total oxidant status and decreased activity of arylesterase in migraineurs. Clin Biochem 2011; 44: 832-837.

[31] Rothem L, Hartman C, Dahan A, Lachter J, Eliakim R, et al. Paraoxonases are associated with intestinal inflammatory diseases and intracellularly localized to the

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of dietary conjugated linoleic acid on oxidation markers and antioxidant defenses in rats with colorectal cancer

Nasrin Beheshti (M.Sc)[1], Hosseein Davoodi (Ph.D)[2,3], Zahra Kamal (M.Sc)[1], Morteza Abdollahi (Ph.D)[4], Marjan Ajami (Ph.D)[*3]

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

2 - National Nutrition and Food Technology Research Institute, Faculty of Nutrition Sciences and Food Technology, Cancer Research Center, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

3 – 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

4 – 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

(Received: 1 Feb 2016; Accepted: 23 Jul 2016)

Introduction*:* Colorectal cancer (CRC) is one of the most common types of cancer affecting 1.23 million individuals per year in the world. Recently, it is suggested that inflammation and oxidative stress play an importmat role in colorectal carcinogenesis. The aim of this syudy was to examine the effects of dietary conjugated linoleic acid (CLA) on **oxidation** markers and **antioxidant** defenses level in a 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. The serum levels of superoxide dismutase (SOD), glutation peroxidase (GPx), paraxonase (PON) and myeloperoxidase (MPO) and also malondialdehyde (MAD) level in the colorectal tissue were measured.

Results: Findings indicated that MAD and MPO levels significantly decreased in the experimental group in comparison than the control group ($P<0.001$). SOD, GPx and PON significantly increased in the experimental group than the control group ($P<0.001$).

Conclusion: our findings suggest that CLA is a powerful substance which decreases oxidation markers, and increases antioxidant defenses in colorectal cancer.

Keywords: Conjugated Linoleic Acid, Colorectal Cancer, Malondialdehyde, Antioxidants, Rats

* Corresponding author. Tel: +98 9126719294

nutritionist80@gmail.com

www.SID.ir