

PPAR γ Gene Expression Changes in Patients with Coronary Artery Disease

Atena Ramezani¹
Mahmood Djalali²

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 (PPAR γ) are a class of ligand-dependent nuclear receptors, which act as transcription factors. In fact, the increased activity of PPAR γ , 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 PPAR γ 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 PPAR γ 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 PPAR γ in the groups receiving omega-3 fatty acids with or without vitamin E increased in patients with coronary artery disease.

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

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

تغییرات بیان ژن PPAR γ در بیماران با اختلال عروق کرونر قلبآتنا رضانی^۱محمود جلالی^۲

چکیده

سابقه و هدف: گیرنده‌های فعال کننده تکثیر پروکسیزوم‌ها (PPAR γ) گروهی از گیرنده‌های هسته‌ای وابسته به لیگاند هستند که به عنوان عوامل نسخه برداری عمل می‌کنند. در واقع افزایش فعالیت PPAR γ 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 می‌باشد. 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 PPAR γ 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 PPAR γ 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 $p=0/029$ و $p=0/038$). هم چنین بین سه گروه مورد مطالعه تفاوت آماری معنی داری مشاهده گردید ($p=0/027$).

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 PPAR γ در این بیماران گردید.

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

مقدمه

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 (۳-۵). درصد کل مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی عروقی

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

Email: ramezaniatena@yahoo.com

مؤلف مسئول: آتنا رضانی- ساری، کیومتر ۱۸ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاه پیامبر اعظم (ص)، دانشکده بهداشت

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

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 در جوامع مختلف سال ۲۰۳۰ میلادی، بیماری‌های قلبی و عروقی باشد (۴-۶).

در ایران بیماری‌های قلبی و عروقی، اولین و شایع‌ترین 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 ایکوزاپنتانویک اسید (EPA) و دکوزاهگزانویک اسید (DHA)، با افزایش دادن سطح HDL-C، غلظت آدیپوکین‌ها و سیتوکین‌های ضد التهابی، کاهش دادن غلظت تری گلیسرید، LDL های کم چگالی، غلظت پروتئین التهابی سیتوکین و پروتئین C واکنشگر، سبب کاهش عوارض در بیماران مبتلا به قلبی عروقی می‌شود (۱۲،۱۱،۵،۴). گیرنده‌های فعال‌کننده پرولیپراسیون پروکسیزوم (Peroxisome proliferator-activated receptors یا PPAR) عوامل نسخه برداری هسته‌ای وابسته به لیگاند هستند که اثرات متعدد بیولوژیکی و فیزیولوژیکی در هومئوستاز گلوکز، لیپیدها، التهاب و ترمیم زخم و در بیماری‌های سرطان، دیابت، آترواسکلروز و چاقی دارند (۱۳). سه ایزوفرم PPAR در انسان شناخته شده است که توسط ژن‌های متعدد از جمله PPAR β ، PPAR α و PPAR γ کد می‌شوند. PPAR ها با گیرنده رتینوئیک اسید، هتروداایمر تشکیل می‌دهند و با المان‌های پاسخی خاصی در نواحی پروموتور 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 PPAR ها همولوژی ساختمانی زیادی دارند، اما به نظر می‌رسد هر ایزوفرم، عملکرد فیزیولوژیکی خاصی دارد و از نظر وابستگی به لیگاند، بیان و ظهور و فعالیت‌های مختلف متابولیک متفاوت هستند (۹). PPAR γ سبب افزایش فعالیت سلول‌های بتای پانکراس و افزایش حساسیت به اعمال متابولیک انسولین می‌شود (۹). هورمون آدیپونکتین که از آدیپوسایتوکین‌های مترشح 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 (۱۶-۱۸،۵،۴). بررسی‌ها نشان داده است افزایش فعالیت PPAR γ 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 PPAR γ را گزارش کردند و در نهایت به وجود عناصر پاسخ دهنده‌ی PPAR γ در ناحیه‌ی پروموتور ژن آدیپونکتین اشاره کردند (۲۱).

در مطالعه انجام شده در rat های چاق که با ۳۵۰ میلی گرم 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 PPAR γ اشاره کردند که در حقیقت غیرمرتبط با فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی ویتامین E می‌باشد (۲۲). PPAR γ نقش مهمی را در افزایش حساسیت به انسولین و فعالیت پروموتور آدیپونکتین انسانی (حاوی یک PPRE) بازی می‌کند (۲۳). القای PPAR γ با واسطه ویتامین E می‌تواند مقدار در دسترس PPAR γ را برای باند شدن به PPRE

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

مواد و روش‌ها

بیماران

این تحقیق یک مطالعه کارآزمایی بالینی تصادفی شاهددار و دو سوکور بود که بر روی ۶۲ مرد ۴۵-۶۵ 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 PPAR γ از جمله تیازولیدین دیون (TZDs) و فیبرات‌ها و داروهای بلوکه کننده 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 شرکت کنندگانی 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 تأیید قرار گرفت و هم‌چنین در مرکز کارآزمایی بالینی ایران با شماره IRCT2013080514273N1 ثبت گردید.

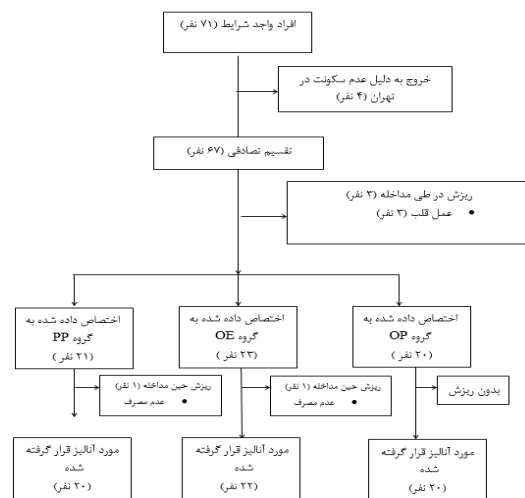
بیماران مذکور پس از تکمیل برگه رضایت نامه کتبی وارد مطالعه شدند. اهداف و روش کار برای مردان شرکت کننده در این مطالعه توضیح داده شد. تاریخچه پزشکی، آزمایشات بیوشیمیایی و وضعیت آنتروپومتریک آنان سنجیده شد و براساس مطابقت با معیارهای ورود، وارد مطالعه شدند. بیماران به روش Randomized Permuted Block به سه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

- گروه اول، دریافت کننده 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، دریافت کننده 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 دریافت کننده 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

مداخله نیز یادآمد خوراک ۲۴ ساعته، فرم ثبت نمایه‌های تن سنجی و پرسشنامه فعالیت فیزیکی IPAQ تکمیل گردید (۵،۴). نمونه‌های خون گرفته شده از بیماران در ابتدا و انتهای مداخله جمع‌آوری گردید و PPAR γ اندازه‌گیری گردید.



تصویر شماره ۱: دیاگرام بیماران مطالعه

اندازه‌گیری‌های تن سنجی

قد، وزن، دور کمر و دور باسن بیماران پیش و پس از مداخله در حالت ناشتا تعیین گردید. برای توزین از ترازوی دیجیتالی کفه‌ای seca مدل 803 Clara با دقت ۰/۰۱ گرم استفاده شد. قد با استفاده از قدسنج دیواری seca (stadiometer) بدون کفش با حساسیت ۰/۱ cm (seca, Germany) اندازه‌گیری شد. دور کمر و دور باسن با استفاده از متر نواری seca مدل ۲۰۱ و طبق استانداردهای سازمان جهانی بهداشت اندازه‌گیری شدند و میانگین دو اندازه‌گیری وارد گردید. نمایه توده بدنی (BMI) افراد نیز با استفاده از فرمول مربوطه $BMI = \frac{weight(kg)}{height(m)^2}$ به دست آمد. نسبت WHR با تقسیم دور کمر به دور باسن محاسبه گردید.

مکمل اسید چرب امگا ۳ و دارونما

کپسول اسید چرب امگا ۳، ویتامین E و هم چنین پلاسبوی آن‌ها از شرکت دارویی- بهداشتی مینو در

شکل ژلاتینی (soft gel) تهیه گردید. هر کپسول n-3 حاوی ۱۸۰ میلی گرم EPA و ۱۲۰ میلی گرم DHA بود. هر کپسول ویتامین E حاوی ۴۰۰ واحد بین‌المللی (International Unit) ویتامین E بود. دارونماها از پارافین خوراکی تهیه گردید و از لحاظ رنگ و اندازه تفاوتی با مکمل‌ها نداشتند.

جمع‌آوری نمونه خون

حدود ۸ml نمونه خون وریدی- پیش و پس از مداخله- در شرایط استریل از ورید بازویی بیمار پس از ۱۲-۱۴ ساعت ناشتا در آزمایشگاه تحقیقات سلولی مولکولی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران گرفته شد و به داخل سرنگ در لوله‌های در پیچ دار استریل حاوی هپارین (به میزان ۴ میکرولیتر به 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 فالتکون ورتکس گردید. سپس روی لوله‌های حاوی فایکول، به‌طوری‌که خون با فایکول مخلوط نشود، از مخلوط خون و PBS اولیه، اضافه گردید و با شتاب ۲۵۰۰ rpm به مدت ۲ دقیقه سانتریفیوژ شد. PBMC در لوله، به صورت لایه ابری شکل از سایر لایه‌های خون جدا گشت و به درون فالتکون استریل دیگری انتقال یافت. بعد از شستشو با بافر PBS با شتاب ۱۶۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. در نهایت رسوب تولید شده از آن به میکروتیوب RNAase free انتقال یافت (۵،۴).

جداسازی RNA و سنتز cDNA

RNA از سلول‌های PBMC با استفاده از کیت Rneasy plus mini kit شرکت Qiagen استخراج گردید. سپس cDNA توسط کیت Quantitect reverse transcriptase شرکت Qiagen از RNA ساخته شد و تا انجام تست

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 آمریکا انجام گرفت. از سایر گرین (SYBR Green) به عنوان رنگ باند شونده بین ۲ رشته DNA استفاده گردید. واکنش های PCR در حجم ۲۰ μ l با غلظت ۰/۵ μ l از هر پرایمر، ۷ μ l SYBR Green Power PCR Master Mix (2X) (شامل DNA پلیمرز، بافر، dNTPs و سایر گرین) از شرکت Applied Biosystems و ۲ μ l نمونه cDNA انجام گردید. برای محاسبه بیان ژن از فرمول $2^{-\Delta\Delta CT}$ استفاده شده است:

$$2^{-[(CT \text{ } \beta\text{-actin after} - CT \text{ } \beta\text{-actin before}) - (CT \text{ } \Delta\Delta 2 \text{ after} - CT \text{ } \Delta\Delta 2 \text{ before})]}$$

روش طراحی پرایمر

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

PPAR γ Forward: GAA TTA GAT GAC AGC GAC TTG
PPAR γ Reverse: GCT TGT AGC AGG TTG TCT TG
 β -actin Forward: CCTGGCACCCAGCACAATGAAG
 β -actin Reverse: CTAAGTCATAGTCCGCTAGAAG

تجزیه و تحلیل آماری

داده های جمع آوری شده پس از کنترل به نرم افزار SPSS نسخه ۱۸ منتقل گردید. برای توصیف داده ها از میانگین و خطای معیار (SEM) استفاده گردید. با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov نرمال بودن توزیع داده ها بررسی گردید. مقایسه نتایج به صورت قبل و بعد در داخل گروه ها با استفاده از آزمون آماری t زوج صورت پذیرفت و مقایسه متوسط اختلاف های

ایجاد شده در سه گروه نیز از آزمون ANOVA استفاده گردید. برای حذف اثر فاکتورهای مخدوش کننده از آزمون آماری ANCOVA استفاده شد. اطلاعات پرسشنامه های یاد آمد خوراک با استفاده از نرم افزار تغذیه ای Nutritionist IV مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. Pvalue کم تر از ۰/۰۵ به عنوان معنی داری 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 $\pm$ ۵۴/۶۸ سال، در گروه OE ۱/۶۲ $\pm$ ۵۶/۳۰ سال و در گروه PP ۱/۳۳ $\pm$ ۵۸/۵۰ سال بود. آزمون آماری اختلاف معنی داری بین سه گروه از لحاظ سن نشان نداد ($p=0/16$). سطح تحصیلات در گروه OP، ۳۱/۸ درصد کم تر 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 کم تر از دیپلم و ۶۰ درصد دیپلم و بالاتر حضور داشتند. آزمون کای اسکور اختلاف آماری معنی داری را از لحاظ سطح تحصیلات بین سه گروه نشان نداد ($p=0/48$). 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 اسکور تفاوت آماری معنی داری را از این نظر بین سه گروه نشان نداد

($p=0/58$). مدت زمان تشخیص بیماری در گروه OP، $3/28 \pm 0/93$ سال، در گروه OE، $2/66 \pm 0/88$ سال و در گروه PP $5/29 \pm 1/39$ سال بود که از نظر آماری تفاوت معنی داری نداشت ($p=0/22$). 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، درون گروه‌ها و بین گروه‌ها، یافته‌های تن سنجی، در هیچ کدام از گروه‌های مورد بررسی تفاوت معنی داری مشاهده نگردید. مقایسه میانگین اختلافات ابتدا و انتهای مطالعه نیز در مورد هیچ یک از یافته‌های تن سنجی بین گروه‌های مورد بررسی معنی دار نبود. حتی با حذف اثر مخدوش کنندگی کالری دریافتی نیز هم‌چنان تفاوت بین گروه‌ها در انتهای مطالعه معنی دار نبود.

یافته‌های 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 درشت مغذی‌ها 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 هیچ یک از یافته‌های دریافت انرژی و درشت مغذی‌ها بین سه گروه مورد بررسی معنی دار نبود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که شرکت کنندگان در هر سه گروه همان‌طور که از ایشان خواسته شده بود، رژیم غذایی خود را تغییر معنی داری نداده‌اند.

یافته‌های 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 یافته‌های تن سنجی بیماران دریافت کننده امگا-۳، گروه توام ۳-ن و ویتامین E و گروه دارونما، قبل و بعد از دو ماه مکمل یاری

		گروه دارونما (n=20)	گروه توام ۳-ن و ویتامین E (n=20)	گروه امگا-۳ (n=22)		
قد (cm)	پیش	۱۶۷/۵۷±۱/۵۶	۱۶۹/۹۸±۱/۲۱	۱۶۸/۲۷±۱/۰۱	پیش	
وزن (kg)	پیش	۷۷/۲۸±۲/۶۱	۷۷/۴۷±۲/۳۲	۷۹/۰۹±۲/۰۸	پیش	
	پس	۷۷/۲۵±۲/۵۶	۷۷/۶۶±۲/۳۰	۷۹/۲۴±۲/۰۹	پس	
	اختلاف	-۰/۳۵±۰/۲۴۸	۰/۱۹۵±۰/۳۲۴	۰/۱۴۵±۰/۳۰۶	اختلاف	
	سطح معنی داری §	۰/۸۸	۰/۵۵	۰/۶۴		
نمایه توده بدنی (BMI) Kg/m ²	پیش	۲۷/۴۷±۰/۸۱	۲۶/۸۰±۰/۷۲	۲۷/۹۷±۰/۷۶	پیش	
	پس	۲۷/۴۶±۰/۷۹	۲۶/۸۵±۰/۶۸	۲۸/۰۱±۰/۷۴	پس	
	اختلاف	-۰/۰۱۴±۰/۰۸۸	۰/۰۵۳±۰/۱۰۹	۰/۰۳۹±۰/۱۱۳	اختلاف	
	سطح معنی داری §	۰/۸۶	۰/۶۳	۰/۷۳		
دور کمر (cm)	پیش	۹۷/۳۵±۱/۸۴	۹۵/۰۵±۱/۶۱	۹۷/۶۴±۱/۹۶	پیش	
	پس	۹۷/۸۰±۱/۸۶	۹۴/۹۲±۱/۴۵	۹۷/۹۵±۱/۹۵	پس	
	اختلاف	۰/۴۵±۰/۳۸۰	-۰/۱۲۵±۰/۵۶۶	۰/۳۱۸±۰/۴۱۲	اختلاف	
	سطح معنی داری §	۰/۲۵	۰/۸۲	۰/۴۵		
دور باسن (cm)	پیش	۹۹/۹۵±۱/۲۲	۹۹/۶۵±۱/۱۸	۱۰۱/۷۳±۱/۳۸	پیش	
	پس	۱۰۰/۳۰±۱/۲۲	۱۰۰/۱۲±۱/۲۵	۱۰۱/۹۱±۱/۲۸۴	پس	
	اختلاف	۰/۳۵±۰/۳۵۷	۰/۴۷۵±۰/۵۶۶	۰/۱۸۱±۰/۴۰۸	اختلاف	
	سطح معنی داری §	۰/۳۴	۰/۴۱	۰/۶۶		
نسبت دور کمر به دور باسن (WHR)	پیش	۰/۹۷±۰/۰۱	۰/۹۵±۰/۰۱	۰/۹۵±۰/۰۱	پیش	
	پس	۰/۹۷±۰/۰۱	۰/۹۵±۰/۰۱	۰/۹۶±۰/۰۱	پس	
	اختلاف	۰/۰۰۱±۰/۰۰۳	-۰/۰۰۵±۰/۰۰۵	۰/۰۰۱±۰/۰۰۴	اختلاف	
	سطح معنی داری §	۰/۶۴	۰/۳۲	۰/۷۸		

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

p¹ : تطبیق داده شده برای انرژی دریافتی (Kcal/day) با آزمون آماری ANCOVA

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=22)	گروه توام n-3 و ویتامین E (n=20)	گروه دارونما (n=20)	سطح معنی داری #
انرژی دریافتی (Kcal)	پیش	۱۵۰۶/۲۴±۱۲۵/۱۶	۱۹۰۰/۳۳±۱۶۱/۳۷
پس	۱۶۴۷/۱۸±۱۵۰/۴۱	۱۸۹۰/۲۹±۱۳۵/۳۱	۱۵۲۲/۲۱±۷۶/۵۳
اختلاف	۱۴/۱۹±۱۵/۸۱	-۸/۸۷±۱۸/۶۰	-۱۱/۰۴±۱۴/۵۲
سطح معنی داری §	۰/۳۷	۰/۴۵	۰/۹۶
کربوهیدرات دریافتی (گرم)	پیش	۲۳۰/۸۶±۱۸/۴۸	۳۱۶/۳۶±۳۶/۰۳
پس	۲۶۰/۳۷±۲۵/۶۹	۲۸۴/۷۳±۲۰/۴۰	۲۲۲/۵۰±۱۶/۰۲
اختلاف	۲۹/۵۱±۲۷/۹۰	-۳۱/۶۳±۳۵/۴۱	-۴۲/۱۸±۲۸/۲۵
سطح معنی داری §	۰/۳۰	۰/۱۵	۰/۳۸
پروتئین دریافتی (گرم)	پیش	۵۶/۲۳±۵/۶۷	۶۴/۸۴±۴/۹۴
پس	۵۴/۶۲±۴/۵۶	۵۸/۴۶±۴/۲۹	۵۳/۰۱±۵/۰۷
اختلاف	-۱/۶۰±۷/۶۲	-۶/۳۷±۵/۲۹	-۱۴/۱۲±۸/۶۳
سطح معنی داری §	۰/۸۳	۰/۱۱	۰/۲۴
چربی دریافتی (گرم)	پیش	۴۲/۸۴±۶/۷۵	۴۵/۹۶±۲/۷۳
پس	۴۶/۹۲±۵/۵۷	۵۵/۳۷±۵/۸۰	۳۸/۰۸±۳/۹۱
اختلاف	۴/۰۷±۴/۸۲	۹/۴۰±۶/۱۶	۰/۷۱±۶/۱۴
سطح معنی داری §	۰/۴۰	۰/۹۰	۰/۱۴
روی (میلی گرم)	پیش	۵/۹۱±۰/۶۹۷	۶/۱۲±۰/۴۴۲
پس	۵/۳۸±۰/۵۶۰	۵/۹۹±۰/۶۹۱	۳/۸۰±۳/۹۱
اختلاف	-۰/۵۳±۰/۹۷۱	-۰/۱۳±۰/۷۰۸	-۰/۴۹±۰/۶۸۹
سطح معنی داری §	۰/۵۸	۰/۸۵	۰/۴۸
ویتامین E (میلی گرم)	پیش	۳/۴۱±۰/۸۰۹	۲/۸۰±۰/۳۳۵
پس	۳/۵۹±۰/۹۱۴	۳/۶۵±۱/۰۳	۳/۰۰±۰/۵۸۲
اختلاف	۰/۱۸±۱/۳۸	۰/۸۵±۱/۰۹	۰/۳۵±۰/۷۷۱
سطح معنی داری §	۰/۸۹	۰/۴۴	۰/۶۵
سلنیم (میلی گرم)	پیش	۰/۰۶±۰/۰۰۸	۰/۰۶±۰/۰۰۸
پس	۰/۰۵±۰/۰۰۸	۰/۰۶±۰/۰۱۰	۰/۰۶±۰/۰۰۷
اختلاف	-۰/۰۰۷±۰/۰۱۲	-۰/۰۰۴±۰/۰۱۲	-۰/۰۰۵±۰/۰۱۱
سطح معنی داری §	۰/۵۴	۰/۷۳	۰/۶۳
فولات (میکروگرم)	پیش	۱۹۳/۶۹±۲۱/۸۶	۲۵۲/۸۶±۲۹/۷۸
پس	۲۰۳/۲۰±۲۲/۵۳	۲۴۰/۳۷±۴۱/۱۰	۱۵۹/۳۴±۱۹/۱۱
اختلاف	۹/۵۱±۳۳/۱۹	-۱۲/۴۸±۵۲/۱۹	-۲۰/۱۳±۳۰/۱۳
سطح معنی داری §	۰/۷۷	۰/۸۱	۰/۵۱
ویتامین C (میلی گرم)	پیش	۸۴/۲۳±۱/۲۶	۹۶/۹۲±۲/۳۵
پس	۱۱۱/۵۳±۱۷/۷۸	۱۱۴/۵۶±۲۱/۱۵	۸۱/۵۲±۱۴/۳۵
اختلاف	۲۷/۲۹±۲۲/۴۶	۱۷/۶۳±۲۱/۰۶	-۱۱/۵۷±۱۲/۱۷
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 رژیم 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=22)	گروه توام n-3 و ویتامین E (n=20)	گروه دارونما (n=20)	سطح معنی داری #
n-3 (گرم)	پیش	۰/۱۶±۰/۰۸	۰/۱۱±۰/۰۶
پس	۰/۱۹±۰/۰۱	۰/۱۴±۰/۰۵	۰/۳۲
اختلاف	۰/۰۳±۰/۰۴	۰/۰۳±۰/۰۳	۰/۷۸
سطح معنی داری §	۰/۲۵	۰/۴۱	۰/۲۷
امگا-۶ (گرم)	پیش	۱۲/۶۵±۱/۱۲	۱۱/۰۶±۱/۶۳
پس	۱۴/۵۵±۱/۴۱	۱۵/۱۰±۱/۹۸	۱۳/۰۸±۱/۶۹
اختلاف	۱/۹±۱/۵۸	۳/۰۸±۱/۷	۲/۰۲±۱/۷۳
سطح معنی داری §	۰/۲۸	۰/۲۲	۰/۲۵
اسیدهای چرب اشباع (گرم)	پیش	۱۰/۵۰±۲/۴۳	۹/۳۷±۱/۱۷
پس	۹/۸۸±۰/۸۸۸	۹/۲۰±۰/۸۵۷	۹/۲۲±۱/۰۹
اختلاف	-۰/۷۰±۲/۴۲	-۱/۸۸±۱/۴۱	-۰/۱۴±۱/۱۳
سطح معنی داری §	۰/۷۷	۰/۱۹	۰/۹۳

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

بحث

مداخله، بیان ژن PPAR γ 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 همین‌طور مصرف توام اسید چرب n-3 و ویتامین E در مدت دو ماه نسبت به گروه کنترل، سبب افزایش بیان ژن PPAR γ 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 می‌توانند احتمالاً با تبدیل شدن به ایکوزانیدهای مختلف و دیگر متابولیت‌های تولید شده ناشی از آن مانند Resolvin ها سبب فعال سازی PPAR γ گردند و سپس با هتروداایمر تشکیل دادن PPAR γ با RXR بر PPRe اثر بگذارند و از این طریق نقش بالقوه‌ی ضد التهابی و افزایش آدیپونکتین را سبب شود (۲۴) که در مطالعه‌ی ما نیز چنین نتیجه‌ای حاصل شد. در حقیقت گفته می‌شود یک بخش ۲ کیلو بایت در پروموتور آدیپونکتین انسان، دارای ویژگی‌های مختص چربی و Cis-element هایی برای چندین فاکتور رونویسی آدیپوژنیک از جمله CCAAT enhancer Binding Protein و SREBP و PPAR γ می‌باشد که PPAR γ با تحریک پروموتور آدیپونکتین، سبب افزایش

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 میانگین‌های ابتدا و انتهای مطالعه نیز در مورد یافته‌های دریافت غذایی n-3، امگا ۶ و اسیدهای چرب اشباع در سه گروه مورد بررسی معنی‌دار نبود.

یافته‌های مربوط به بیان ژن PPAR γ

جدول شماره ۴ نشان می‌دهد که در گروه OP در انتها نسبت به ابتدای مطالعه افزایش معنی‌داری در بیان ژن PPAR γ مشاهده شد، هم‌چنین در گروه OE نیز در انتها نسبت به ابتدای مطالعه، بیان ژن PPAR γ 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 PPAR γ 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 (Δ CT) هر چه کوچک‌تر باشد، نشانه افزایش بیان ژن می‌باشد.

جدول شماره ۴: مشخصات آماری Δ CT ژن PPAR γ و میزان تغییرات بیان ژن PPAR γ در بیماران دریافت‌کننده 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 معنی‌داری #	p ^۱	p ^۲	p ^۳
پیش	۱۶/۷۰±۰/۴۰۸	۱۶/۶۹±۰/۲۷۱	۰/۱۸			
پس	۱۵/۷۷±۰/۳۳۷	۱۵/۰۷±۰/۶۱۳	۰/۲۲			
اختلاف	-۱/۴۹±۰/۶۳۷	-۰/۹۷±۰/۶۳۲	۰/۰۲۷	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۰۸
سطح معنی‌داری §	۰/۰۲۹	۰/۰۳۸	۰/۰۱۳			

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

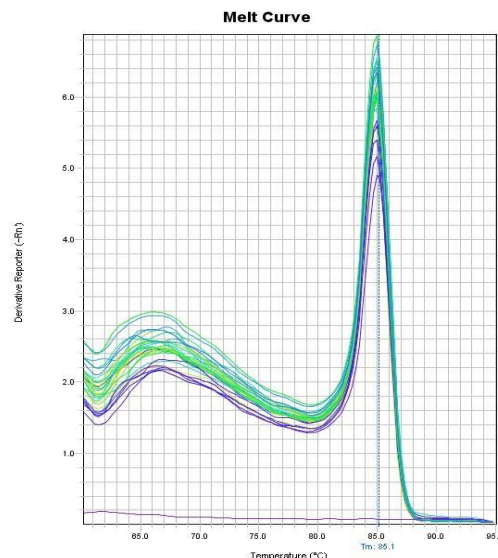
p^۱ تطبیق داده شده برای آدیپونکتین با آزمون آماری ANCOVA

p^۲ تطبیق داده شده برای آدیپونکتین، hsCRP و کراتینین سرم با آزمون آماری ANCOVA

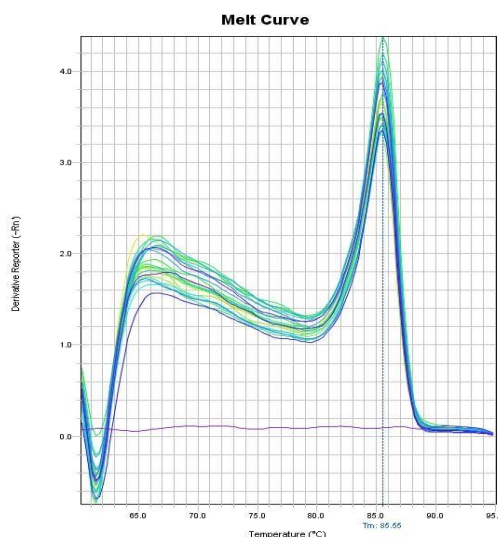
p^۳ تطبیق داده شده برای بافت چربی و بدون چربی و آدیپونکتین سرم و BMI با آزمون آماری ANCOVA

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 *PPAR γ* 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، ۳۳). *PPAR γ* نقش مهمی را در افزایش حساسیت به انسولین و فعالیت پروموتور آدیپونکتین انسانی (حاوی یک *PPRE*) بازی می‌کند (۲۳). القای *PPAR γ* با واسطه‌ی ویتامین E می‌تواند مقدار در دسترس *PPAR γ* را برای باند شدن به *PPRE* در ناحیه پروموتور آدیپونکتین افزایش دهد. علاوه بر این، فعالیت *PPAR γ* برای رونویسی ژن آدیپونکتین لازم است و ویتامین E، علاوه بر افزایش سطح *PPAR γ* در دسترس برای باند شدن، در فعالیت وابسته به لیگاند *PPAR γ* برای رونویسی ژن‌های هدف مرتبط با *PPAR γ* از جمله آدیپونکتین نیز نقش دارد (۲۳). البته تأثیرات 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 *PPAR γ* ، با افزایش التهاب و دوز و مدت زمان افزایش عوامل التهابی از جمله $\text{TNF-}\alpha$ ، کاهش می‌یابد (۲۵) که می‌تواند مرتبط با تغییرات پروموتور ژن آدیپونکتین و یا اثرات ممانعت‌کنندگی بر بیان ژن *PPAR γ* در بافت بدن باشد. در این حالت می‌توان انتظار داشت حتی با وجود بیان فراوان ژن



تصویر شماره ۱: منحنی ذوب ژن Bactin



تصویر شماره ۲: منحنی ذوب ژن PPAR γ

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 (۲۶، ۲۷). از آنجایی که بررسی‌های مختلف نشان دادند تحریک بیان و ترشح آدیپونکتین با واسطه افزایش بیان *PPAR γ* می‌باشد، در مطالعه حاضر با هدف تاثیر، استفاده از اسید چرب $n-3$ و ویتامین E بر بیان *PPAR γ* و به دنبال آن تحریک بیان و ترشح آدیپونکتین

آدیپونکتین در شرایط عادی، در شرایط التهاب‌های مزمن و بالا بودن سطح TNF- α ، بیان این ژن و ژن PPAR γ 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 PPAR γ 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 PPAR γ 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 اپیدیمال و هم افزایش ترشح آن در گردش خون نمونه‌های حیوانی موش گردد و این افزایش را به تاثیر اسیدهای چرب $\omega 3$ موجود در روغن ماهی از طریق افزایش فعالیت مسیر PPAR γ 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 PPAR γ و آگونیست‌های آن برای افزایش بیان mRNA آدیپونکتین ممکن است هم به فعالیت مستقیم پروموتور 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 آدیپوسیتوکی‌ها 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 PPAR γ 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 PPAR γ 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 PPAR γ 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 PPAR γ 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 PPAR γ می‌تواند منجر به متوقف شدن رونویسی چندین ژن التهابی و کاهش عوارض آترواسکلروز گردد (۳۲). در تحقیق ما، بیان ژن PPAR γ 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 PPAR γ دلیل بر نفی تاثیر ژن PPAR γ بر بیان ژن آدیپونکتین نمی‌باشد، بلکه می‌توان این عدم تاثیر را به میزان کم بیان ژن آدیپونکتین در سلول‌های تک هسته‌ای خون نسبت داد (۵۴)، 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.

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 Committty 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.

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. Antoniadis 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 Endocrinol Metab* 2012; 23(7): 351-363.
25. Maeda N, Takahashi M, Funahashi T, Kihara S, Nishizawa H, Kishida K. PPAR γ 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.