مقاله پژوهشی

مجله دانشکده پزشکی اصفهان

سال بیست و هفتم/شماره ۹۷/شهریور ۱۳۸۸

اثر مکمل یاری اسیدهای چرب امگا-۳ بر تولید سیتوکین‌های التهابی در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی

یوسف شعبانی*، دکتر سید رضا راست منش**، دکتر سعید کاویانی***، دکتر احمدرضا جمشیدی****

* کارشناس ارشد علوم تغذیه، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

** استادیار گروه تغذیه‌ی انسانی، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

*** دانشیار گروه هماتولوژی، دانشکده‌ی پیراپزشکی، دانشگاه تربیت مدرس تهران، تهران، ایران.

**** دانشیار گروه روماتولوژی، مرکز تحقیقات روماتولوژی تهران، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۸۷/۵/۲

تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۰/۱۶

چکیده

مقدمه: افزایش مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ با افزایش الحاق آن‌ها به فسفولیپیدهای غشا و افزایش تولید متابولیت‌های پراکسید لیپید همراه می‌باشد. ارتباط بین عملکرد سلول‌های تک هسته‌ای، دریافت اسیدهای چرب امگا-۳ و مکمل یاری همزمان با آنتی‌اکسیدان در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید خیلی کم بررسی شده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر اسیدهای چرب امگا-۳ حاصل از مکمل‌های غذایی و مکمل یاری همزمان آن با ویتامین E بر تولید سیتوکین‌های التهابی توسط سلول‌های تک هسته‌ای در این بیماران انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه ۵۵ بیمار (۵۰ زن و ۵ مرد) با میانگین سنی (۱۱ ± ۴۷) در ۳ گروه در یک کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور مورد بررسی قرار گرفتند. گروه اول، دارونما (۲ گرم در روز روغن MCT به اضافه‌ی دارونمای ویتامین E)، گروه دوم، اسیدهای چرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) به اضافه‌ی دارونمای ویتامین E و گروه سوم، اسیدهای چرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) به اضافه‌ی ۱۰۰ IU ویتامین E دریافت کردند.

یافته‌ها: تولید TNF-α توسط سلول‌های تک هسته‌ای خون در محیط کشت سلولی به طور معنی‌داری در دو گروه "امگا-۳ به تنهایی" و "امگا-۳ توأم با ویتامین E" نسبت به گروه "دارونما" کاهش یافت. میزان MDA سرم به طور معنی‌داری فقط در گروه دریافت کننده‌ی مکمل"امگا-۳ توأم با ویتامین E" نسبت به دو گروه دیگر کاهش داشت.

نتیجه‌گیری: مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ توأم با ویتامین E علاوه بر کاهش تولید شاخص‌های التهابی توسط سلول‌های تک هسته‌ای خون منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپید در این بیماران نیز می‌گردد.

واژگان کلیدی: آرتریت روماتویید، سلول‌های تک هسته‌ای خون، اسید چرب امگا- ۳، ویتامین E

تعداد صفحات: ۱۳

تعداد جدول‌ها: ۳

تعداد نمودارها: –

تعداد منابع: ۴۸

آدرس نویسندهٔ مسئول: یوسف شعبانی، کارشناس ارشد علوم تغذیه، دانشکده‌ی علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران.

E-mail: shabani@irimc.org

www.mui.ac.ir

مقدمه

TNF-α و IL-6 دو واسطه‌ی التهابی با نقش‌های تنظیم‌کنندگی متعدد می‌باشند؛ TNF-α، نقشی مهم و حیاتی در پاسخ ایمنی دارد و مطالعات بالینی انجام شده در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید (۱) و بیماری کرون (۲) به کفایت درمانی داروهای آنتی‌بادی TNF-α پی برده‌اند. سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی انسان Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMC) که به طور معمول متشکل از مونوسیت‌ها (۱۵-۱۰٪) و لنفوسیت‌های B و T (۹۰-۸۵٪) هستند (۳)، یک منبع مهم سیتوکین‌های تنظیم کننده‌ی ایمنی در گردش خون و در بخش‌های ملتهب بدن به حساب می‌آیند. سنتز TNF-α و IL-6 توسط سلول‌های تک‌هسته‌ای خون به دنبال فعال شدن سیستم ایمنی افزایش می‌یابد. از این رو این سیتوکین‌ها، می‌توانند به عنوان نشانگرهای بالقوه‌ای برای ارزیابی اثرات عملکردی مداخلات ضدالتهابی به کار روند (۳).

اسیدهای چرب امگا-۳، به ویژه ایکوزاپنتانوییک اسید (Eicosapentaenoic Acid) (EPA;20:5n-3) و دوکوزاهگزانوییک اسید (Docosahexaenoic Acid) (DHA; 22:6n-3)، به طور معمول در غلظت‌های پایین در پلاسما و فسفولیپیدهای غشای سلول‌ها یافت می‌شوند (۳). اسیدهای چرب EPA و DHA که در تنظیم عملکرد سلولی نقش دارند، به عنوان ماده‌ی اولیه برای سنتز ایکوزانوییدها استفاده شده، به پراکسیدهای لیپید تبدیل می‌شوند (۵-۴). استفاده از اسیدهای چرب امگا-۳ برای درمان بیماری‌های التهابی گوناگون از جمله آرتریت روماتویید به طور گسترده‌ای بررسی شده است. مطالعات نشان می‌دهند که اسیدهای چرب امگا-۳ نیز از طریق کاهش تولید ایکوزانوییدهای امگا-۶ و سیتوکین‌های التهابی (TNF، IL-6 و IL-1β) اثرات ضدالتهابی خود را اعمال می‌کنند (۶). در دو کارآزمایی بزرگ بالینی، مکمل روغن ماهی بعد از ۱۲ هفته توانست بهبودی قابل توجهی را در تعداد مفاصل حساس به درد، مدت خشکی صبحگاهی مفاصل و غلظت C-Reactive Protein (CRP) ایجاد نماید (۸-۷). یک مطالعه در افراد سالم نشان داد که مکمل یاری با روغن ماهی باعث کاهش تولید TNF-α و IL-6 در سلول‌های تک‌هسته‌ای خون محیطی در محیط in vitro می‌گردد. به طور کلی، اثرات مفید مکمل رژیمی امگا-۳ در بعضی مدل‌های حیوانی بیماری‌های التهابی و در مطالعات بالینی بیماران آرتریت روماتویید اثبات شده است ولی با این وجود، همچنان مواردی از تناقض در این زمینه وجود دارد (۹-۸).

همان‌طور که می‌دانیم مکمل یاری با روغن ماهی (منبع غنی EPA و DHA) منجر به افزایش الحاق EPA و DHA به فسفولیپیدهای پلاسما و PBMC (۱۱-۱۰) و افزایش تولید پراکسیدهای لیپید می‌گردد (۱۳-۱۲). گزارش‌های متناقضی در مورد اثرات این تغییرات بر عملکرد PBMC وجود دارد (۳). به طوری‌که بعضی مطالعات مهار تولید TNF-α و IL-1 را نشان داده‌اند (۱۴-۱۳)، ولی سایر مطالعات نتوانسته‌اند این ادعا را اثبات کنند (۱۵، ۱۰). یکی از علل احتمالی این تناقض‌ها در درمان با مکمل‌های روغن ماهی، افزایش اکسیداسیون اسیدهای‌چرب غیراشباع، در اثر کاهش دریافت آنتی‌اکسیدان‌ها به ویژه کاهش دریافت ویتامین E در این بیماران است (۱۶). از سویی دیگر در این بیماران تولید گونه‌های واکنش پذیر اکسیژن در لنفوسیت‌ها و سلول‌های اندوتلیال موجود در مفاصل ملتهب بسیار زیاد می‌باشد که علاوه بر تشدید فرآیند

www.mui.ac.ir

تحلیل مفاصل ملتهب می‌تواند منجر بـه تحریـک تولیـد سیتوکین‌های التهابی گردد (۱۷).

با توجه به اکسیداسیون بالا در ایـن بیمـاران و از آن جایی که تا کنون مطالعه‌ای در مورد اثر اسیدهای چـرب امگا-۳ بر تولید سیتوکین‌های التهابی توسـط PBMC در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید انجـام نشـده اسـت، این مطالعه در نظر داشت اثر اسیدهای‌چرب امگـا-۳ بـه تنهایی و توأم با ویتـامین E را بـر تولیـد شـاخص‌هـای التهــابی توســط PBMC و نیــز میــزان اکسیداســیون اســیدهای چــرب را در بیمــاران مبــتلا بــه آرتریــت روماتویید مورد بررسی قرار دهد.

روش‌ها

بیماران: بعد از ارزیابی بالینی، ۶۹ بیمار مبتلا به آرتریت روماتویید فعال (۶۲ زن و ۷ مرد) با میانگین سنی ۱۱ ± ۴۷ بر اساس معیارهای انجمن روماتولوژی آمریکا (ACR) (۱۸) انتخاب شدند. پروتوکل مطالعه به وسیله‌ی کمیته‌ی اخلاق انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور بررسی و تأیید شد.

طراحی مطالعه: مطالعه به صورت کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور در مدت پنج ماه انجام گرفت. از بیماران مراجعه کننده به مرکز تحقیقات روماتولوژی تهران که فاقد معیارهای خروج از مطالعه (۱۹) و دارای معیارهای ACR بودند، پس از توضیح کامل اهداف، در صورت تمایل به شرکت در مطالعه، رضایت‌نامه‌ی کتبی گرفته شد. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: وجود بدشکلی‌های استخوانی، وجود بیماری‌های شدید هم‌زمان مثل بیماری‌های متابولیک و گوارشی، قرار گرفتن در گروه عملکردی بر اساس معیارهای ACR، نوسان دوز دارو در طول مطالعه، دریافت مکمل ویتامین E یا مکمل اسیدهای چرب امگا-۳، عدم تحمل گوارشی و عفونت شدید.

بیماران واجد شرایط، بعد از انتخاب بر اساس معیارهای سن، جنس، داروهای مصرفی و طول مدت بیماری به طور تصادفی، بلوک‌بندی شدند. بیماران به طور تصادفی بر مبنای بلوک‌بندی صورت گرفته، در یکی از سه گروه مداخله جای گرفتند. فردی به غیر از پژوهشگر، بسته‌های حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ را کدگذاری کرد (A، B و C). توزیع بسته‌های حاوی مکمل بر اساس کدگذاری انجام شد و آنالیز داده‌ها توسط فرد دیگری صورت گرفت. نحوه‌ی ارایه‌ی مکمل در گروه‌ها به این صورت بود که به گروه اول، روزانه ۲ گرم روغن Medium Chain Triglycerides (MCT) به صورت ۲ کپسول، به عنوان دارونما، به اضافه‌ی دارونمای ویتامین E، به گروه دوم، روزانه ۱/۲ گرم اسید چرب امگا-۳ (۲ کپسول) و دارونمای ویتامین E و به گروه سوم، روزانه ۱/۲ گرم اسید چرب امگا-۳ (۲ کپسول) به همراه یک قرص جویدنی IU ۱۰۰ ویتامین E داده شد. در طول مدت مداخله، که ۳ ماه بود، به بیماران توصیه شد که رژیم معمول و فعالیت بدنی خود را حفظ و از نوسان دوز داروهای مصرفی، بدون اطلاع محقق خودداری کنند. دریافت غذایی با استفاده از روش یادآمد خوراک ۲۴ ساعته‌ی ۳ روزه و بسامد خوراک ارزیابیشد. داده‌های مربوط به دریافت غذایی با نرم‌افزار N4 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای بررسی میزان فعالیت بدنی بیماران، از نسخه‌ی کوتاه فارسی (۲۰) پرسش‌نامه‌ی بین‌المللی فعالیت بدنی (۲۱) استفاده شد. هر کپسول، حاوی ۱۰۰۰ میلی‌گرم روغن ماهی بود که در این میان ۳۶۰ میلی‌گرم EPA و ۲۴۰ میلی‌گرم DHA در آن وجود داشت و بقیه به

www.mui.ac.ir

صورت آلفا لینولییک بود. همچنین ۴ واحد بین‌المللی ویتامین E، ژلاتین، گلیسیرین و آب تصفیه شده نیز به مقدار بسیار کم از اجزای کپسول‌ها بود. هر کپسول دارونمای امگا-۳ شامل ۱ گرم روغن MCT و هر قرص دارونمای ویتامین E فقط شامل ماده‌ی پرکننده‌ی قرص ویتامین E بود. کپسول و دارونمای امگا-۳ از شرکت Viva کانادا و ویتامین E و دارونمای آن از شرکت دارو پخش ایران تهیه شد.

ارزیابی آزمایشگاهی: شاخص بیوشیمیایی ESR و شاخص اکسیداسیون اسیدهای چرب، مالون-D- آلدئید (MDA) ارزیابی شدند. نمونه‌های خون، بعد از خون‌گیری در لوله‌های هپارینه (۱۵ IU/CC) ریخته و در دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ g سانتریفوژ شدند. پلاسمای حاصل به منظور به حداقل رساندن ضریب تغییرات بین آزمایش روی تمام نمونه‌ها تا روز انجام آنالیز نهایی در فریزر ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. میزان ESR به روش دستی و با استفاده از زمان‌سنج و غلظت MDA پلاسما توسط کیت تجاری شرکت CayMan آمریکا به روش رنگ‌سنجی اندازه‌گیری شد (۲۲، ۱۶). ضریب تغییرات Intra-assay و Inter-assay برای MDA به ترتیب ۵/۵ و ۵/۹ درصد بود.

ارزیابی کشت سلولی: نمونه‌های خون محیطی (۱۵ میلی‌لیتر) به دست آمده از بیماران به لوله‌های فالکون هپارینه (۱۵ واحد در میلی‌لیتر) با حجم ۵۰ سی‌سی منتقل گردید. در مرحله‌ی بعد، نمونه‌های خون با محلول شستشوی Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) (مارک GIBCO) با نسبت ۱ به ۱ به حجم رسانده شد. نمونه‌های به حجم رسانده شده در ۴ قسمت مساوی در محیط Ficoll-1077 (مارک Amersham) با دور g ۴۰۰ به مدت ۲۵ دقیقه سانتریفوژ شد. بعد از سانتریفوژ و جداسازی PBMC، بار دیگر سلول‌های مجزا شده با محلول HBSS به منظور شستشوی مجدد به مدت ۵ دقیقه با دور g ۳۰۰ سانتریفوژ شد. در این مرحله، PBMC جدا شده به محیط کشت Roswell Park Memorial Institute، (RPMI-1640) (مارک GIBCO) که حاوی ۲ میلی‌مول در لیتر L-Gln، ۱۰ درصد Fetal Bovine Serum (FBS) (مارک GIBCO) و لیپوپلی‌ساکارید (LPS) E.coli (B5: ۰۵۵) با غلظت ۱۵-۱۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر می‌باشد، با حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر منتقل گردید. پس از شمارش سلول به روش لام نئوبار و مشخص شدن تعداد سلول در حجم ۲۰ میکرولیتر، حجمی از محلول RPMI دارای ۵×۱۰^{۶} سلول برداشته و پس از به حجم رساندن به میزان ۱۰ سی‌سی، به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷° C در اتمسفر با ۵٪ Co_2 و ۹۵٪ هوا در پلیت‌های ۲۴ خانه‌ای کشت داده شد. سپس سلول‌های کشت داده شده به مدت ۵ دقیقه با دور g ۲۰۰۰ سانتریفوژ و مایع فوقانی جدا گردید و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نهایی و اندازه‌گیری سیتوکین‌ها نگهداری شد (۱۱). غلظت TNF-α و IL-6 مایع فوقانی حاصل از کشت سلولی با روش Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) و با استفاده از کیت تجاری شرکت Diaclone فرانسه اندازه‌گیری شد (۲۲، ۱۶). ضریب تغییرات Intra-assay و Inter-assay برای TNF-α به‌ترتیب ۳/۹ و ۹ درصد و برای IL-6 به ترتیب ۴/۲ و ۷/۷ درصد بود.

آنالیز آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SPSS (version 13; SPSS Inc., Chicago, IL) انجام

www.mui.ac.ir

شد. برای مقایسه‌ی متغیرهای کمی سن، طول مدت بیماری و تعداد داروهای مصرفی از آنالیز واریانس و برای متغیر کیفی جنس از آزمون دقیق فیشر استفاده شد. برای بررسی نرمال بودن توزیع میانگین متغیرها از منحنی هیستوگرام و آزمون کولموگراف- اسمیرنوف و برای بررسی فرض یکسان بودن واریانس گروه‌ها از آزمون لونز استفاده شد. به دلیل عدم توزیع نرمال میانگین میزان SR از تبدیل لگاریتمی استفاده شد. برای مقایسه‌ی تغییرات بین سه گروه از آنالیز واریانس و زمانی که تفاوت، معنی‌دار بود، برای مقایسه های دو به دو، از آزمون توکی استفاده شد. در مورد متغیرهای کمی دارای توزیع غیرنرمال، از آزمون‌های فریدمن و کروسکال‌والیس و برای مقایسه بین گروه‌ها از روش بن‌فرونی، به منظور تعدیل مقایسه‌های متعدد استفاده شد. سطح معنی‌دار بودن $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد و مقادیر به صورت انحراف معیار ± میانگین ارایه شدند.

یافته‌ها

۵۵ بیمار مطالعه را با موفقیت (بدون تغییر یا نوسان دوز داروهای مصرفی) به پایان رساندند. ۱۴ بیمار مطالعه را کامل نکردند (۸ بیمار در گروه "دارونما"، ۴ بیمار در گروه "امگا-۳ به تنهایی"، ۲ بیمار در گروه "امگا-۳ توأم با ویتامین E"). دلایل حذف بیماران از مطالعه در جدول ۱ آورده شده است. هیچ‌گونه تفاوت عمده‌ای بین بیمارانی که مطالعه را به پایان رساندند، با آن‌هایی که از مطالعه حذف شدند، وجود نداشت.

نگاهی به ویژگی‌های بیماران در شروع مطالعه نشان می‌دهد که اختلاف آماری معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت، عوامل مداخله‌گر نظیر تعداد داروهای مصرفی در هر ۳ گروه کنترل شده بود و اختلاف آماری قابل توجهی بین آن‌ها وجود نداشت (جدول ۲). همچنین، اختلاف آماری معنی‌داری در فعالیت بدنی (داده‌ها نشان داده نشده است) و دریافت مواد مغذی بین گروه‌ها و همچنین داخل گروه‌ها در طول مطالعه مشاهده نشد. مکمل یاری با اسیدهای‌چرب امگا-۳ تولید TNF-α توسط سلول‌های تک‌هسته‌ای خون را در محیط کشت در دو گروه "امگا-۳ تنها" و "امگا-۳ توأم با ویتامین E" نسبت به گروه "دارونما" به طور معنی‌داری کاهش داد. با این وجود تفاوت آماری معنی‌داری در بین دو گروه "امگا-۳ به‌تنهایی" و "امگا-۳ توأم با ویتامین E" در طول مطالعه مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۱. دلایل حذف بیماران از مطالعه

علل حذف	G1* (n = ۱۴)	G2 (n = ۲۰)	G3 (n = ۲۱)
عدم تحمل گوارشی	۲	۱	۱
علل پزشکی غیرمرتبط با مطالعه	۲	۱	۱
افزیش دوز دارو	۳	۱	۰
پذیرش بد	۱	۱	۰

*G1: دارونما (روغن MCT و دارونمای ویتامین E)، G2: اسیدچرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) و دارونمای ویتامین E، G3: اسیدچرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) و ۱۰۰ واحد بین المللی ویتامین E.

غلظت IL-6 حاصل از کشت سلول‌های تک‌هسته‌ای در پایان مطالعه در دو گروه "امگا-۳ به تنهایی" و "امگا-۳ توأم با ویتامین E" تغییر معنی‌داری پیدا نکرد ولی در گروه "دارونما" در پایان مطالعه نسبت به زمان شروع به طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < ۰/۰۰۵$). میانگین غلظت پلاسمایی MDA در گروه "امگا-۳ توأم با ویتامین E" کاهش معنی‌داری نسبت به دو گروه "دارونما" و "امگا- ۳ به‌تنهایی" ($P < ۰/۰۱$) بعد از ۱۲ هفته نشان داد. غلظت پلاسمایی MDA در گروه "امگا-۳ توأم با ویتامین E" در مقایسه با زمان پایه، به طور معنی‌داری، کاهش، ولی در دو گروه دیگر افزایش یافت ($P < ۰/۰۱$) (جدول ۳).

www.mui.ac.ir

جدول ۲. ویژگی‌های بیماران در زمان شروع مطالعه[†]

	G1* (n = ۱۴)	G2 (n = ۲۰)	G3 (n = ۲۱)	P[‡]
سن (سال)	۵۰ ± ۱۰	۴۷ ± ۱۰	۴۶ ± ۱۳	۰/۵۷۳
جنس (زن / مرد)	۲/۱۲	۲/۱۸	۱/۲۰	۰/۷۹۷
مدت بیماری (سال)	۱۰ ± ۵	۸ ± ۵	۶ ± ۴	۰/۱۰۱
داروها (تعداد)[**]				
DMARDs[×]	۹ ± ۱	۸ ± ۲	۸ ± ۱	۰/۰۹۶
متوترکسات	۵/۶ ± ۰/۷	۵ ± ۰/۹	۵ ± ۱/۲	۰/۰۸۲
هیدروکسی کلروکین	۱/۷ ± ۰/۵	۱/۶ ± ۰/۶	۱/۵ ± ۰/۶	۰/۹۰۵
سولفاسالازین	۰/۳ ± ۱/۲	۰/۸ ± ۰/۴	۰/۳ ± ۰/۹	۰/۴۹۶
پردنیزولون	۱/۷ ± ۰/۵	۱/۸ ± ۰/۵	۱/۸ ± ۰/۳	۰/۸۳۷
میزان دریافت آلفا لینولئیک اسید (میلی‌گرم در روز)	۱۲۹ ± ۲۷	۱۰۱ ± ۴۶	۱۱۴ ± ۶۰	۰/۱۲۹
میزان دریافت ویتامین E (میلی‌گرم در روز)	۲/۳ ± ۱/۲	۲/۶ ± ۱/۲	۲/۹ ± ۱/۲	۰/۲۹۵

[†] مقادیر بر حسب میانگین ± انحراف معیار یا تعداد بیماران هستند.

*G1: دارونما (روغن MCT و دارونمای ویتامین E)، G2: اسیدچرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) و دارونمای ویتامین E، G3: اسیدچرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) و ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E.

[‡] برای بررسی توزیع متغیرهای کمّی از آنالیز واریانس و برای متغیرهای کیفی از آزمون دقیق فیشر استفاده شد.

[**] در این مطالعه همه‌ی بیماران (۱۰۰ درصد) داروهای متوترکسات و پردنیزولون مصرف می‌کردند. درصد افراد مصرف‌کننده‌ی داروی هیدروکسی کلروکین در گروه‌های G1، G2 و G3 به‌ترتیب ۱۰۰٪، ۹۵٪ و ۹۵/۲۴٪ و داروی سولفاسالازین به ترتیب ۹۲/۸۶٪، ۹۵٪ و ۹۰/۴۸٪ بود (NS).

× Disease Modifying Antirheumatic Drugs

جدول ۳. شاخص‌های آزمایشگاهی مربوط به فعالیت بیماری در بیماران مورد بررسی[†]

	گروه	شروع	هفته‌ی ۱۲
TNF-α کشت سلولی	G1*	۱۱۷۳ ± ۲۱۵	۱۱۸۳ ± ۲۰۷[‡‡]
(پیکوگرم در میلی‌لیتر)	G2	۱۳۵۳ ± ۳۷۴	۸۰۳ ± ۲۶۳
	G3	۱۴۰۴ ± ۴۱۳	۶۶۷ ± ۲۰۹
IL-6 کشت سلولی	G1	۳۶۵ ± ۱۳	۳۷۰ ± ۱۲
(پیکوگرم در میلی‌لیتر)	G2	۳۶۳ ± ۱۳	۳۶۸ ± ۷
	G3	۳۶۴ ± ۱۵	۳۶۸ ± ۱۲
MDA (نانومول در میلی‌لیتر) [**]	G1	۴/۳ ± ۱/۷	۶ ± ۲[‡]
	G2	۳/۷ ± ۱/۲	۶/۴ ± ۳
	G3	۴/۹ ± ۱/۸	۲/۲ ± ۰/۸

[†] مقادیر بر حسب میانگین ± انحراف معیار یا تعداد بیماران هستند.

G1: دارونما (روغن MCT و دارونمای ویتامین E)، G2: اسیدچرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) و دارونمای ویتامین E، G3: اسیدچرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) و ۱۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E.

[‡‡] تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده شده: امگا-۳ تنها و امگا-۳ با VE در مقابل دارونما ($P < ۰/۰۱$).

[‡] تفاوت آماری معنی دار مشاهده شده: امگا-۳ با VE در مقابل دارونما و امگا-۳ تنها ($P < ۰/۰۱$).

[**] MDA: Malondialdehyde

www.mui.ac.ir

بحث

مصرف اسیدهای چرب امگا-۳ توأم با ویتامین E علاوه بر کاهش تولید TNF-α توسط سلول‌های تک‌هسته‌ای خون، باعث کاهش پراکسیداسیون اسیدهای چرب (MDA) در بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید گردید.

در مطالعه‌ی فعلی، شاخص‌های التهابی TNF-α و IL-6 حاصل از PBMC در محیط کشت اندازه‌گیری شدند. در بیماری‌های اتوایمیون تولید غیرطبیعی سیتوکین‌های پیش‌التهابی یا فقدان مهار عملکرد آن‌ها رخ می‌دهد و باعث ایجاد عدم تعادل در شبکه‌ی سیتوکین می‌شود (۲۳). سیتوکین‌های گوناگون و کموکین‌ها به عنوان واسطه‌های مهم التهاب و تخریب مفاصل در آرتریت روماتویید و سایر فرآیندهای التهابی محسوب می‌شوند (۲۴). تولید زیاد IL-6، IL-1β و TNF-α در بیماری‌زایی آرتریت روماتویید دخیل است. غشای مفصل شامل IL-1β و TNF-α و نیز گیرنده‌های TNF-α و IL-6 می‌باشد (۲۷-۲۵). افزایش فعالیت آنزیمی کلاژناز و ژلاتیناز در بافت‌ها و مایع مفصلی بیماران مبتلا به آرتریت روماتویید در بررسی‌های قبلی اثبات شده است و امروزه می‌دانیم که بیان این آنزیم‌ها در فیبروبلاست‌های مفصلی توسط IL-1β و TNF-α القاء می‌شود (۳۰-۲۸). بنابراین کاهش غلظت سرمی سیتوکین‌های التهابی در این بیماران می‌تواند در ارزیابی اثربخشی مداخلات انجام شده مؤثرتر باشد. مطالعات زیادی نشان می‌دهند که روغن ماهی در کاهش شاخص‌های التهابی مؤثر است (۳۱). در مطالعه‌ی حاضر، تولید TNF-α توسط PBMC به عنوان یک شاخص التهابی عمده، کاهش معنی‌داری در دو گروه "امگا-۳ تنها" و "امگا-۳ توأم با ویتامین E" نسبت به گروه "دارونما" نشان داد که مشابه با نتایج مطالعات قبلی بود (۳۲، ۱۶، ۱۴). به طوری که مطالعات دیگر کاهش تولید TNF-α را در حالت ex vivo در پی تحریک خون کامل یا PBMC در افراد سالم بعد از مکمل یاری با روغن ماهی (۳۳، ۱۴، ۱۳، ۱۱) یا بعد از مصرف رژیم غنی از ماهی (۳۴) نشان داده‌اند. با این وجود، همه‌ی مطالعات، اثر مهاری اسیدهای‌چرب امگا-۳ روغن ماهی بر تولید سیتوکین‌ها را نشان نداده‌اند. برای مثال، اثر مهاری روغن ماهی بر تولید سیتوکین در مقدار کم امگا-۳ (۰/۶۵ گرم در روز) در افراد سالم (۳۵) و در مکمل یاری ۱ ساله با مقدار زیاد روغن ماهی (۱۶) یا در افراد سالم و دیابتی دریافت‌کننده‌ی ۴-۲ گرم در روز اسیدهای چرب امگا-۳ (۳۶، ۱۰) مشاهده نشده است. یکی از راه حل‌های تفسیر نتایج مطالعات مختلف ممکن است از طریق مشاهدات مربوط به مطالعات بزرگی که ارتباط بین پلی‌مورفیسم در ژن‌های TNF-α، سطوح پایه‌ی سنتز TNF-α و اثرات روغن ماهی را بررسی کرده‌اند، فراهم شود. یک مطالعه در این زمینه، نشان داد که توانایی روغن ماهی برای کاهش تولید TNF-α تحت تأثیر تولید ذاتی و درونی TNF-α و پلی‌مورفیسم‌های رخ داده در ژن‌های TNF-α و لنفوتوکسین α است (۳۲). زمانی که اثرات مکمل روغن ماهی بر سنتز TNF-α بررسی شد، مهار تولید TNF-α در بیشترین ثلث تولید TNF-α پایه رخ داد و هیچ اثری در ثلث میانی و کمترین ثلث مشاهده نمی‌شد. در بیشترین ثلث تولید TNF-α پایه، میزان سرکوب سیتوکین به‌وسیله‌ی روغن ماهی با پلی‌مورفیسم در منطقه‌ی پروموتور TNF-α مرتبط بود (۳۲). این گزارش نشان می‌دهد که ژنوتیپ ممکن

www.mui.ac.ir

است یک عامل مهم تعیین‌کننده‌ی اثرات روغن ماهی بر سنتز سیتوکین‌های التهابی باشد. در مطالعه‌ی حاضر، غلظت IL-6 تولیدی توسط PBMC تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نشان نداد. این مشاهده مشابه با نتایج بعضی مطالعات پیشین است (۳۸-۳۷). در مطالعه‌ای که به‌مدت ۱۲ هفته توسط Vega-lopez و همکاران در افراد سالم صورت گرفت، IL-6 حاصل از کشت سلول‌های PBMC تفاوت معنی‌داری در گروه‌ها نداشت (۳۷). از طرفی در مطالعه‌ای دیگر (۱۶)، مکمل یاری با اسیدهای چرب امگا-۳ به میزان ۱ گرم در روز در افراد سالم باعث کاهش IL-6 حاصل از کشت سلولی بعد از ۱۲ هفته شد.

نتایج مطالعه‌ی یاد شده، متفاوت از مطالعه‌ی ما بود. در مورد نتایج متناقض مشاهده شده بین مطالعات می‌توان به‌عوامل زیر اشاره کرد:

۱- تفاوت طول مدت مکمل یاری: همان طور که در مطالعات قبلی اشاره شده (۴۰-۳۹، ۶)، مکمل یاری طولانی مدت اثری بر سطوح سیتوکین‌ها ندارد و اثرات اسیدهای چرب امگا-۳ بر سطوح سیتوکین‌ها به طور معمول بعد از هفته‌ی ششم آشکار می‌شود و در مکمل یاری طولانی مدت ممکن است اثرات آن از بین برود.

۲- تفاوت دوز مورد استفاده‌ی اسیدهای چرب امگا-۳: یک مطالعه‌ی جامع (۱۶) نشان داد که مکمل یاری با اسیدهای چرب امگا-۳ منجر به کاهش معنی‌دار تولید IL-6 توسط PBMC، حتی در کمترین مقدار دوز مکمل یاری (۰/۳ گرم در روز) می‌شود. به نظر می‌رسد ارتباط بین دریافت اسیدهای چرب امگا-۳ و تولید سیتوکین یک ارتباط منفی ولی در عین حال وابسته به دوز U شکل باشد. بر این اساس، بیشترین اثر مهاری به هنگام دریافت ۱ گرم در روز رخ می‌دهد و با افزایش دریافت بیشتر از ۲ گرم این اثر مهاری کاهش می‌یابد (۱۶). تولید IL-6 با غلظت EPA فسفولیپید پلاسما و اریتروسیت، هم‌بستگی منفی دارد. با توجه به این‌که ارتباط پاسخ به دوز U شکل است، غلظت متوسط EPA فسفولیپید پلاسما و غشای سلول، در دریافت‌های کمتر از ۲ گرم در روز رخ خواهد داد و احتمال دارد این امر، با اثر مهاری بیشتر تخلیه‌ی IL-6 نسبت به غلظت‌های بالاتر EPA ناشی از مکمّل یاری با دوزهای بالاتر از ۲ گرم در روز مصادف باشد (۱۶). Endres و همکاران عنوان می‌نمایند که اثرات مهاری اسیدهای چرب امگا-۳ روغن ماهی بر عملکرد PBMC، به دوره‌ی زمانی مکمل یاری یا دریافت قبلی اسیدهای چرب امگا-۳ بستگی ندارد بلکه به غلظت EPA فسفولیپید بستگی دارد (۱۴). این ارتباط پاسخ به دوز بین دریافت اسیدهای چرب امگا-۳ روغن ماهی، ترکیب فسفولیپید و همچنین تولید سیتوکین توسط PBMC می‌تواند تا حدودی عدم یکنواختی نتایج مطالعات پیشین را توضیح دهد.

۳- تفاوت در متدولوژی: به عنوان مثال تحریک مونوسیت‌ها توسط LPS در بعضی مطالعات بسیار قوی بوده است. این امر به بروز حداکثر پاسخ سلول‌ها منجر خواهد شد. در حالی که، تحریک ضعیف‌تر ممکن است بتواند اختلافات بین سلول‌های حاصل از افراد تحت مکمل یاری و گروه شاهد را به طور دقیق‌تر آشکار نماید (۳۸).

نتایج مطالعه‌ی حاضر، تفاوت معنی‌داری را بین دو گروه "امگا-۳ تنها" و "امگا-۳ توأم با ویتامین E" از لحاظ شاخص‌های التهابی نشان نداد ولی با این وجود

www.mui.ac.ir

مکمل یاری با ویتامین E توانست غلظت MDA پلاسما را به طور معنی‌داری در گروه "امگا-۳ توأم با ویتامین E" نسبت به دو گروه دیگر کاهش دهد. همان طور که می‌دانیم در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید شواهد زیادی مبنی بر آسیب اکسیداتیو وابسته به رادیکال‌های آزاد اکسیژن وجود دارد که منجر به اکسیداسیون ترکیبات مختلف بدن می‌شود (۴۱). از جمله محصولات پراکسیداسیون لیپید می‌توان به MDA اشاره کرد که به عنوان شاخص آسیب بافتی استفاده می‌شود (۴۱). یک مطالعه‌ی اخیر نشان داد که سطوح ویتامین E در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید پایین‌تر و سطوح MDA بالاتر از افراد کنترل سالم است (۴۱). مطالعه‌ی دیگری نیز نشان داد که مصرف طولانی مدت روغن ماهی (۲/۴ g/d) به مدت ۳ ماه در زنان سالم منجر به کاهش سطوح ویتامین E بعد از ۱ ماه و افزایش تولید پراکسید لیپید (MDA) بعد از ۲ ماه می‌گردد (۱۳). در مطالعه‌ی یاد شده، MDA در ۲ ماه به حداکثر مقدار خود رسید، ولی در ماه سوم شروع به کاهش کرد که علت احتمالی آن، افزایش فعالیت گلوتاتیون-s-ترانسفراز می‌باشد که دارای فعالیت گلوتاتیون پراکسیدازی نیز هست. در واقع احتمال دارد کاهش MDA در پایان ۳ ماه ناشی از پاسخ آنزیماتیک سازگار یافته‌ی بدن در القای آنزیم گلوتاتیون-s-ترانسفراز به منظور کاهش هیدروپراکسیدهای اسیدهای‌چرب امگا-۳ حاصل از متابولیسم اکسیداتیو باشد. با این وجود، مطالعات در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید نشان می‌دهد که مایع مفصلی و سرم بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، شامل مقادیر کمی آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و سوپراکسید دسموتاز است (۴۳-۴۲). بنابراین، در چنین وضعیتی، احتمال می‌رود رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن تولید شده توسط فاگوسیت‌ها در مفاصل ملتهب روماتویید به‌طور مؤثر خنثی نشود. همچنین، نمونه‌برداری از مایع مفصلی زانوی بیماران روماتوئیدی حاکی از سطوح بالای MDA است که بیانگر افزایش پراکسیداسیون لیپید در این بیماران است (۴۴). از طرفی، تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که در این بیماران، علاوه بر این‌که گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن حاصل از فرآیندهای التهابی موجب کاهش سطوح آنتی‌اکسیدانی می‌شود (۴۶-۴۵)، دریافت مواد مغذی آنتی‌اکسیدانی نیز در این بیماران پایین است که این امر به نوبه‌ی خود، منجر به کاهش وضعیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها می‌شود (۴۷-۴۵). در تأیید نتایج مطالعه‌ی قبلی، مطالعه‌ی ما نیز نشان داد که دریافت ویتامین E در این بیماران بسیار پایین‌تر از مقادیر مجاز توصیه شده برای افراد سالم است. بنابراین، کاهش سطوح آنتی‌اکسیدان‌های سرم در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، می‌تواند از یک طرف به دلیل فرآیندهای التهابی موجود و از طرف دیگر، به دلیل کاهش دریافت آنتی‌اکسیدان‌های رژیمی به پیشرفت بیماری کمک کند (۴۸، ۴۵). هم در مطالعه‌ی ما و هم در مطالعات مشابه سطوح زیاد MDA در پلاسمای بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید دیده شده است. Trebble و همکاران در مطالعه‌ی خود نشان دادند که غلظت پلاسمایی MDA حاصل از پراکسیداسیون لیپید به صورت وابسته به دوز مکمل اسیدهای چرب امگا-۳ دریافتی گرایش به افزایش دارد ولی مکمل یاری همزمان با ویتامین E تغییری در تولید پراکسید لیپید ایجاد نمی‌کند (۱۶) که علت احتمالی آن کم بودن مقدار دوز مصرفی ویتامین E

www.mui.ac.ir

(۳۰ mg/d) است. با این حال، مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که مصرف ویتامین E با مقدار ۱۰۰ واحد بین‌المللی می‌تواند منجر به کاهش سطوح اکسیداسیون شود. بنابراین، به هنگام مقایسه‌ی نتایج مطالعات مشابه، باید چند عامل را در نظر گرفت: ۱- دوز روغن ماهی، ۲- دوزهای مختلف آنتی‌اکسیدان (ویتامین E) به کار رفته و ۳- مصرف همزمان آنتی‌اکسیدان‌های دیگر.

به طور کلی، یافته‌های این مطالعه نشان داد که تأثیر مکمل یاری اسیدهای چرب امگا-۳ (۱/۲ گرم در روز) توأم با ۱۰۰ IU ویتامین E به مدت ۱۲ هفته در کاهش شاخص‌های التهابی در بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید، مشابه تأثیر اسیدهای چرب امگا-۳ به تنهایی است. در عین حال، استفاده از ویتامین E تکمیلی موجب کاهش هر چه بیشتر اکسیداسیون لیپید (MDA) می‌شود که این تأثیرات در درازمدت به معنی اثربخشی بیشتر چنین ترکیبی در مقایسه با مکمل امگا-۳ به‌تنهایی خواهد بود.

References

1. Elliott MJ, Feldmann M, Maini RN. TNF alpha blockade in rheumatoid arthritis: rationale, clinical outcomes and mechanisms of action. Int J Immunopharmacol 1995; 17(2): 141-5.
2. Targan SR, Hanauer SB, van Deventer SJ, Mayer L, Present DH, Braakman T, et al. A short-term study of chimeric monoclonal antibody cA2 to tumor necrosis factor alpha for Crohn's disease. Crohn's Disease cA2 Study Group. N Engl J Med 1997; 337(15): 1029-35.
3. Calder PC, Yaqoob P, Thies F, Wallace FA, Miles EA. Fatty acids and lymphocyte functions. Br J Nutr 2002; 87(Suppl 1): S31-S48.
4. Sevanian A, Hochstein P. Mechanisms and consequences of lipid peroxidation in biological systems. Annu Rev Nutr 1985; 5: 365-90.
5. Grimm H, Mayer K, Mayser P, Eigenbrodt E. Regulatory potential of n-3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. Br J Nutr 2002; 87(Suppl 1): S59-S67.
6. Blok WL, Deslypere JP, Demacker PN, van d, V, Hectors MP, van der Meer JW, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines in healthy volunteers fed various doses of fish oil for 1 year. Eur J Clin Invest 1997; 27(12): 1003-8.
7. Kremer JM, Bigauoette J, Michalek AV, Timchalk MA, Lininger L, Rynes RI, et al. Effects of manipulation of dietary fatty acids on clinical manifestations of rheumatoid arthritis. Lancet 1985; 1(8422): 184-7.
8. Nielsen GL, Faarvang KL, Thomsen BS, Teglbjaerg KL, Jensen LT, Hansen TM, et al. The effects of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double blind trial. Eur J Clin Invest 1992; 22(10): 687-91.
9. Geusens P, Wouters C, Nijs J, Jiang Y, Dequeker J. Long-term effect of omega-3 fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. A 12-month, double-blind, controlled study. Arthritis Rheum 1994; 37(6): 824-9.
10. Yaqoob P, Pala HS, Cortina-Borja M, Newsholme EA, Calder PC. Encapsulated fish oil enriched in alpha-tocopherol alters plasma phospholipid and mononuclear cell fatty acid compositions but not mononuclear cell functions. Eur J Clin Invest 2000; 30(3): 260-74.
11. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. Am J Clin Nutr 1996; 63(1): 116-22.
12. Haglund O, Luostarinen R, Wallin R, Wibell L, Saldeen T. The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. J Nutr 1991; 121(2): 165-9.
13. Meydani M, Natiello F, Goldin B, Free N, Woods M, Schaefer E, et al. Effect of long-term fish oil supplementation on vitamin E status and lipid peroxidation in women. J Nutr 1991; 121(4): 484-91.
14. Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonnemann G, van der Meer JW, et al. The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. N Engl J Med 1989; 320(5): 265-71.
15. Thies F, Miles EA, Nebe-von-Caron G, Powell JR, Hurst TL, Newsholme EA, et al. Influence of dietary supplementation with long-chain n-3 or

www.mui.ac.ir

n-6 polyunsaturated fatty acids on blood inflammatory cell populations and functions and on plasma soluble adhesion molecules in healthy adults. Lipids 2001; 36(11): 1183-93.
16. Trebble T, Arden NK, Stroud MA, Wootton SA, Burdge GC, Miles EA, et al. Inhibition of tumour necrosis factor-alpha and interleukin 6 production by mononuclear cells following dietary fish-oil supplementation in healthy men and response to antioxidant co-supplementation. Br J Nutr 2003; 90(2): 405-12.
17. Odeh M. New insights into the pathogenesis and treatment of rheumatoid arthritis. Clin Immunol Immunopathol 1997; 83(2): 103-16.
18. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1988; 31(3): 315-24.
19. Sperling RI, Weinblatt M, Robin JL, Ravalese J, III, Hoover RL, House F, et al. Effects of dietary supplementation with marine fish oil on leukocyte lipid mediator generation and function in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1987; 30(9): 988-97.
20. The International Physical Activity Questionnaire. Available from URL: http://www.ipaq.ki.se/downloads.htm
21. Hagstromer M, Oja P, Sjostrom M. The International Physical Activity Questionnaire (IPAQ): a study of concurrent and construct validity. Public Health Nutr 2006; 9(6): 755-62.
22. Rastmanesh SR. Effects of omega-3 fatty acid capsule consumption on inflammatory indices, glucose, blood pressure, serum lipids and insulin sensitivity in type-2 diabetic patients. [PhD Thesis]. Tehran: School of Nutrition and Food Science, Institute of Nutritional and Food Science Research, Shahid Beheshti University of Medical Sciences; 2004.
23. Kono H, Enomoto N, Connor HD, Wheeler MD, Bradford BU, Rivera CA, et al. Medium-chain triglycerides inhibit free radical formation and TNF-alpha production in rats given enteral ethanol. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2000; 278(3): G467-G476.
24. Weckmann AL, Alcocer-Varela J. Cytokine inhibitors in autoimmune disease. Semin Arthritis Rheum 1996; 26(2): 539-57.
25. Deleuran BW, Chu CQ, Field M, Brennan FM, Mitchell T, Feldmann M, et al. Localization of tumor necrosis factor receptors in the synovial tissue and cartilage-pannus junction in patients with rheumatoid arthritis. Implications for local actions of tumor necrosis factor alpha. Arthritis Rheum 1992; 35(10): 1170-8.
26. Field M, Chu C, Feldmann M, Maini RN. Interleukin-6 localisation in the synovial membrane in rheumatoid arthritis. Rheumatol Int 1991; 11(2): 45-50.
27. Chu CQ, Field M, Feldmann M, Maini RN. Localization of tumor necrosis factor alpha in synovial tissues and at the cartilage-pannus junction in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 1991; 34(9): 1125-32.
28. Walakovits LA, Moore VL, Bhardwaj N, Gallick GS, Lark MW. Detection of stromelysin and collagenase in synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and posttraumatic knee injury. Arthritis Rheum 1992; 35(1): 35-42.
29. Gravallese EM, Darling JM, Ladd AL, Katz JN, Glimcher LH. In situ hybridization studies of stromelysin and collagenase messenger RNA expression in rheumatoid synovium. Arthritis Rheum 1991; 34(9): 1076-84.
30. Janusz MJ, Hare M. Cartilage degradation by cocultures of transformed macrophage and fibroblast cell lines. A model of metalloproteinase-mediated connective tissue degradation. J Immunol 1993; 150(5): 1922-31.
31. Venkatraman JT, Chu WC. Effects of dietary omega-3 and omega-6 lipids and vitamin E on serum cytokines, lipid mediators and anti-DNA antibodies in a mouse model for rheumatoid arthritis. J Am Coll Nutr 1999; 18(6): 602-13.
32. Grimble RF, Howell WM, O'Reilly G, Turner SJ, Markovic O, Hirrell S, et al. The ability of fish oil to suppress tumor necrosis factor alpha production by peripheral blood mononuclear cells in healthy men is associated with polymorphisms in genes that influence tumor necrosis factor alpha production. Am J Clin Nutr 2002; 76(2): 454-9.
33. Gallai V, Sarchielli P, Trequattrini A, Franceschini M, Floridi A, Firenze C, et al. Cytokine secretion and eicosanoid production in the peripheral blood mononuclear cells of MS patients undergoing dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids. J Neuroimmunol 1995; 56(2): 143-53.
34. Meydani SN, Dinarello CA. Influence of dietary fatty acids on cytokine production and its clinical implications. Nutr Clin Pract 1993; 8(2): 65-72.
35. Schmidt EB, Varming K, Moller JM, Bülow Pedersen I, Madsen P, Dyerberg J. No effect of a very low dose of n-3 fatty acids on monocyte function in healthy humans. Scand J Clin Lab Invest 1996; 56(1): 87-92.
36. Molvig J, Pociot F, Worsaae H, Wogensen LD, Baek L, Christensen P, et al. Dietary supplementation with omega-3-polyunsaturated fatty acids decreases mononuclear cell proliferation and interleukin-1 beta content but not monokine secretion in healthy and insulin-dependent diabetic individuals. Scand J Immunol 1991; 34(4): 399-410.

www.mui.ac.ir

37. Vega-Lopez S, Kaul N, Devaraj S, Cai RY, German B, Jialal I. Supplementation with omega3 polyunsaturated fatty acids and all-rac alpha-tocopherol alone and in combination failed to exert an anti-inflammatory effect in human volunteers. Metabolism 2004; 53(2): 236-40.

38. Eritsland J, Seljeflot I, Arnesen H, Westvik AB, Kierulf P. Effect of long-term, moderate-dose supplementation with omega-3 fatty acids on monocyte procoagulant activity and release of interleukin-6 in patients with coronary artery disease. Thromb Res 1995; 77(4): 337-46.
Kremer JM, Lawrence DA, Petrillo GF, Litts LL, Mullaly PM, Rynes RI, et al. Effects of high-dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal antiinflammatory drugs. Clinical and immune correlates. Arthritis Rheum 1995; 38(8): 1107-14.

39. Cannon JG, Fiatarone MA, Meydani M, Gong J, Scott L, Blumberg JB, et al. Aging and dietary modulation of elastase and interleukin-1 beta secretion. Am J Physiol 1995; 268(1 Pt 2): R208-R213.

40. Vasanthi P, Nalini G, Hariprasad C, Rajasekhar G, Meera S. Plasma lipophilic antioxidant and pro-oxidant levels in rheumatoid arthritis. J Indian Rheumatol Assoc 2004; 12(2): 40-2.

41. Kamanl A, Nazrog-lu M, Aydlek N, yagil C. Plasma lipid peroxidation and antioxidant levels in patients with rheumatoid arthritis. Cell biochemistry and function 2004; 22(1): 53-7.

42. Hassan MQ, Hadi RA, Al Rawi ZS, Padron VA, Stohs SJ. The glutathione defense system in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. J Appl Toxicol 2001; 21(1): 69-73.

43. Biemond P, Swaak AJ, Koster JF. Protective factors against oxygen free radicals and hydrogen peroxide in rheumatoid arthritis synovial fluid. Arthritis Rheum 1984; 27(7): 760-5.

44. Bae SC, Kim SJ, Sung MK. Inadequate antioxidant nutrient intake and altered plasma antioxidant status of rheumatoid arthritis patients. J Am Coll Nutr 2003; 22(4): 311-5.

45. Helmy M, Shohayeb M, Helmy MH, el Bassiouni EA. Antioxidants as adjuvant therapy in rheumatoid disease. A preliminary study. Arzneimittelforschung 2001; 51(4): 293-8.

46. Morgan SL, Anderson AM, Hood SM, Matthews PA, Lee JY, Alarcon GS. Nutrient intake patterns, body mass index, and vitamin levels in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Care Res 1997; 10(1): 9-17.

47. Araujo V, Arnal C, Boronat M, Ruiz E, Dominguez C. Oxidant-antioxidant imbalance in blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. Biofactors 1998; 8(1-2): 155-9.

www.mui.ac.ir

Original Article

Journal of Isfahan Medical School
Vol 27, No 97, September 2009

Received: 2008.7.23
Accepted: 2009.1.5

Effect of N-3 Fatty Acids Supplementation on Production of Inflammatory Cytokines by Peripheral Mononuclear Cells

Yousef Shabani MS[*], Reza Rastmanesh MD[**], Saeed Kaviani MD[***], Ahmad Reza Jamshidi MD[****]

[*] Master of Science, Department of Nutrition and Food Technology, School of Health, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[**] Assistant Professor, Department of Human Nutrition, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
[***] Assistant Professor, Department of Hematology, Tehran University of Tarbiat Modarres, Tehran, Iran.
[****] Associate Professor, Tehran Rheumatology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.

Abstract

Background: Increased dietary consumption of the n-3 polyunsaturated fatty acids (PUFA) eicosapetaenoic acid (20: 5n-3; EPA) and docosahexaenoic acid (22: 6n-6; DHA) is associated with their incorporation into circulating phospholipid and increased production of lipid peroxide metabolites. The relationship between peripheral blood mononuclear cell (PBMC) function, n-3 PUFA intake and antioxidant co-supplementation is poorly defined in rheumatoid arthritis (RA) patients. This study was designed to evaluate tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin (IL) 6 production by PBMC in RA.

Methods: Fifty-five patients (50 female, 5 male; mean age = 47 ± 11 years) were investigated in three groups in a randomized double-blind clinical trial. Patients were randomly assigned to one of these three groups: group 1 (G1) was received placebo (MCT oil, 2 g/d plus vitamin E placebo), the second group (G2) was received n-3 fatty acids (1.2 g/d; EPA/DHA plus vitamin E placebo), and the third group (G3) was received n-3 fatty acids (1.2 g/d; EPA/DHA) plus 100 IU/d vitamin E. Medication dose was intact during the study. Data were compared between groups using analysis of variance (ANOVA).

Findings: Fish oil n-3 fatty acids supplementation of diet decreased production of TNF-α (P = 0.007) by stimulated PBMC in G2 and G3 in relation to G1. Also G3 in relation to G2 and G1 showed significant decrease with respect to malonaldehyde (MDA) (P = 0.005).

Conclusion: Consumption of omega-3 fatty acids with vitamin E not only decreased production of inflammatory parameters but also decreased lipid per-oxidation in RA patients.

Key words: **Rheumatoid arthritis, PBMC, N-3 fatty acids, Vitamin E.**

Page count: 13
Tables: 3
Figures: -
References: 48

Address of Correspondence: Yousef Shabani, Master of Science, Department of Nutrition and Food Technology, School of Health, Shaheed Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
E-mail: shabani@irimc.org

www.mui.ac.ir