

# مقایسه اثر رژیم غذایی دارای روغن ماهی با رژیم غذایی دارای الگوی چربی مصرفی ایرانی و رژیم استاندارد بر ایجاد آترواسکلروز آئورت در موش صحرائی

مینو محمد شیرازی<sup>۱</sup>، فروغ اعظم طالبان<sup>۲</sup>، معصومه ثابت کسای<sup>۳</sup>، علیرضا ابدی<sup>۴</sup>، محمدرضا وفا<sup>۵</sup>، خندان زارع<sup>۶</sup>، فریا سید احمدیان<sup>۷</sup>

<sup>۱</sup>دکترای تخصصی تغذیه، گروه تغذیه انسانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

<sup>۲</sup>استاد، گروه تغذیه انسانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

<sup>۳</sup>دانشیار، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

<sup>۴</sup>استادیار، گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

<sup>۵</sup>استادیار، گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران

<sup>۶</sup>استادیار و رئیس بخش پاتولوژی، بیمارستان طالقانی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

<sup>۷</sup>کارشناس آزمایشگاه، گروه تحقیقات صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران

نویسنده رابط: مینو محمد شیرازی، آدرس: تهران، شهرک قدس، بلوار فرحزادی، ارغوان غربی، دانشکده و استیتو تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه تغذیه

انسانی، تلفن: ۰۲۱-۲۲۳۵۷۴۸۴-۲۲۳۵۷۴۸۴، نامبر: ۰۲۱-۸۸۰۹۲۹۸۰، پست الکترونیک: shirazi@dipimail.net

تاریخ دریافت: ۱۳۸۶/۶/۱۱؛ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۱/۷

**مقدمه و اهداف:** نتایج مطالعات در مورد اثر نوع چربی دریافتی در رژیم غذایی بر روند ایجاد آترواسکلروز در عروق متفاوت است. در

این مطالعه اثر روغن ماهی و رژیمی که دارای الگوی چربی‌های دریافتی در رژیم غذایی ایرانیان است، با رژیم غذایی استاندارد بر ایجاد آترواسکلروز در موش صحرائی مورد مقایسه قرار گرفته است.

**روش کار:** سی سر موش صحرائی ماده در دوران بارداری و شیردهی با سه نوع رژیم غذایی تغذیه شدند، رژیم استاندارد موش صحرائی (که چربی آن تنها از روغن سویا تشکیل می‌شود)، رژیم غذایی دارای روغن ماهی و رژیم دارای الگوی چربی‌های دریافتی در رژیم غذایی ایرانی (شامل کره، روغن نباتی جامد و روغن مایع آفتابگردان). موش‌های صحرائی متولد شده نیز پس از از شیرگیری با همان رژیم غذایی مادر تغذیه شدند. مراحل ایجاد آترواسکلروز در موش‌های متولد شده در دو زمان از شیرگیری و بلوغ ارزیابی شد. میانگین مقادیر به دست آمده با نرم افزار SPSS و از طریق آزمون کروسکال والیس مقایسه گردید.

**نتایج:** میزان رگه چربی و ضخیم‌شدگی انتیما در آئورت هم در زمان از شیرگیری و هم در زمان بلوغ در موش‌های صحرائی تغذیه شده با رژیم استاندارد به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود. رژیم غذایی دارای روغن ماهی و رژیم دارای الگوی چربی مصرفی ایرانی نسبت به رژیم استاندارد باعث آسیب آترواسکلروتیک بیشتر در آئورت گردیدند.

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد رژیم غذایی که نسبت اسیدهای چرب امگا-۳ به امگا-۶ آن حدود ۶ به ۱۰ باشد (رژیم دارای روغن ماهی در پژوهش حاضر)، باعث تشدید آترواسکلروز در آئورت می‌گردد. هم‌چنین به نظر می‌رسد که رژیم غذایی فعلی جامعه ایران که دارای اسیدهای چرب اشباع فراوان است، آترواسکلروز را در آئورت تشدید می‌کند.

**واژگان کلیدی:** روغن ماهی، روغن سویا، الگوی چربی ایرانی، موش صحرائی، آترواسکلروز، آئورت

## مقدمه

می‌دهند که عامل ۴۶٪ مرگ و میرها بیماری‌های قلبی-عروقی است و ۱۹/۴٪ افراد ۷۹-۳۵ ساله جامعه شهری

بیماری‌های قلبی-عروقی علت اصلی مرگ و میر و ناخوشی در دنیا و در ایران هستند. پژوهش‌های انجام شده در کشور نشان

گونه ویستار (Wistar) انجام شد.

## روش کار

### رژیم غذایی

در این پژوهش از سه نوع رژیم غذایی تخلیص شده استفاده گردید. رژیم تخلیص شده (Purified diet) رژیمی است که از درشت مغذی‌ها و ریز مغذی‌های خالص تهیه شده است مانند پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، ویتامین‌ها و املاح. ترکیب اجزاء این نوع رژیم در جدول یک نشان داده شده است. سه نوع رژیم غذایی به طور هفتگی تهیه شده و در فریزر در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر نگهداری می‌شد. رژیم غذایی گروه شاهد، رژیم غذایی استاندارد موش صحرایی بود که بر اساس فرمول AIN-۹۳-G (۱۰) تهیه شد. مطابق این فرمول چربی این رژیم را ۷۰ گرم در کیلوگرم روغن سویا تشکیل می‌دهد. رژیم غذایی دارای روغن ماهی نیز بر اساس فرمول AIN-۹۳-G تهیه شد تنها با این تفاوت که چربی آن را ۷۰ گرم در هر کیلو گرم روغن ماهی منهادن (Menhaden، نوعی ماهی بومی اقیانوس آرام) تشکیل می‌داد. رژیم غذایی گروه سوم نیز مطابق فرمول AIN-۹۳-G تهیه شد اما چربی آن را ۷۰ گرم در کیلوگرم مخلوطی از ۳۲٪ کره، ۵۴٪ روغن نباتی جامد و ۱۴٪ روغن مایع آفتابگردان تشکیل می‌داد. این رژیم غذایی به عنوان رژیمی که نشان‌دهنده نوع و نسبت اسیدهای چرب دریافتی در رژیم غذایی جامعه ایرانی است، طراحی گردید (۱۱). ترکیب اسیدهای چرب موجود در هر یک از روغن‌ها در جدول شماره دو آمده است. همان‌طور که جدول نشان می‌دهد نسبت اسیدهای چرب امگا-۳ به امگا-۶ در روغن ماهی استفاده شده ۶ به ۱۰ است.

### حیوانات و روش کار

تعداد ۳۰ سر موش صحرایی ماده از گونه ویستار با وزن متوسط  $18/60 \pm 164/11$  گرم با ۱۰ سر موش صحرایی نر از گونه ویستار به شکل سه سر حیوان ماده و یک سر نر در قفس‌های جفت‌گیری قرار داده شدند. روز تشکیل پلاک واژینال به عنوان روز صفر بارداری تلقی شد و از آن زمان حیوانات باردار در قفس‌های مجزا قرار داده می‌شدند و به طور تصادفی به سه گروه غذایی تقسیم می‌گردیدند. هر حیوان باردار در تمام دوران بارداری و شیردهی از یکی از سه رژیم غذایی تخلیص شده بالا استفاده می‌کرد. تمام نوزادان تا روز ۲۱ پس از تولد توسط مادر خود شیر داده شدند و پس از روز ۲۱ (روز از شیرگیری)

اصفهان دچار بیماری قلبی-عروقی هستند (۱). شیوع کم‌تر بیماری‌های قلبی-عروقی در جوامعی که دریافت اسیدهای چرب امگا-۳ در آن‌ها زیاد است، حاکی از نقش مفید و مؤثر این نوع از چربی‌ها در پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی است (۲،۳). یک مکانیسم مؤثر و شناخته شده در ایجاد بیماری‌های قلبی-عروقی، تشکیل پلاک آترومی یا آترواسکلروتیک در عروق است. ضایعه آترومی از یک کلاهک فیبروز سطحی تشکیل می‌شود که حاوی سلول‌های عضلات صاف، گلبول‌های سفید و ماکروفاژها است. پلاک آترومی دارای یک هسته مرکزی نکروتیک است که از سلول‌های مرده، کلسترول، یاخته‌های کفی (Foam cell) و پروتئین‌های پلاسمای تشکیل می‌شود. مرحله پیش از پلاک آترومی، ایجاد رگه‌های چربی است که از تجمع ماکروفاژهای حاوی چربی و سلول‌های عضلات صاف در انتیما تشکیل شده، حتی در شیرخواران نیز دیده می‌شود (۴). در مورد اثر اسیدهای چرب امگا-۳ بر کاهش یا افزایش شدت آترواسکلروز در عروق اطلاع دقیقی وجود ندارد و مطالعات اندک حیوانی و انسانی نتایج متفاوتی را نشان می‌دهند. برخی بررسی‌ها به این نتیجه رسیده‌اند که اسیدهای چرب امگا-۳ موجود در روغن ماهی مانع پیشرفت آترواسکلروز می‌گردند (۷-۵). در حالی که یافته‌های بعضی از مطالعات حاکی از این واقعیت هستند که دریافت اسیدهای چرب امگا-۳ می‌تواند از طریق القاء چسبندگی منوسیت‌ها به جدار عروق و ایجاد رگه‌های چربی، باعث پیشرفت ضایعه آترواسکلروتیک در عروق گردد (۸،۹).

با توجه به شیوع بیماری‌های قلبی در کشور و توصیه روز افزون بسیاری از متخصصان و پژوهشگران بر استفاده از مکمل روغن ماهی حاوی اسیدهای چرب امگا-۳ جهت پیشگیری از بیماری‌های عروق کرونر، و از آن‌جا که طبق نظر پژوهشگران، مهم‌ترین زمان اثر اسیدهای چرب در دوره تکامل پیش از تولد و دوره رشد پس از تولد است و تغییرات آترواسکلروتیک نیز از همان دوران آغاز می‌شود، لذا بر آن شدیم که اثر این نوع چربی را از ابتدای دوران جنینی تا بلوغ بر روی ایجاد و پیشرفت پلاک آترومی در آئورت با رژیم غذایی دارای الگوی چربی ایرانی و رژیم استاندارد موش صحرایی مورد مقایسه قرار دهیم. از آن‌جا که پژوهش بر روی موش صحرایی خطر ضررهای جانی یا اقتصادی تحقیق در انسان را ندارد و هم‌چنین دوران جنینی و فاصله زمانی بین تولد تا بلوغ موش صحرایی بسیار کوتاه‌تر از انسان است، این پژوهش بر روی موش‌های صحرایی آزمایشگاهی از

### روش‌های آماری

تمامی داده‌های به دست آمده از حیوانات مورد آزمایش در هر یک از سه گروه غذایی و در مراحل مختلف وارد رایانه شده، با نرم افزار SPSS ۱۰ آنالیز شد.

برای مقایسه متغیرهای مربوط به نوع آسیب آئورت که متغیرهای کیفی رتبه‌ای هستند، میان سه گروه غذایی از آزمون کروسکال والیس (Kruskal-Wallis) استفاده شد. برای مشخص شدن گروه‌هایی که تفاوت میان آن‌ها معنی‌دار است، از سه آزمون من ویتنی (Mann-Whitney) دو به دو میان گروه‌های غذایی استفاده شد و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۱۷ (یک سوم ۰/۰۵) در نظر گرفته شد. برای مقایسه شدت آسیب آئورت بین روز ۲۱ و ۷۰ از آزمون T زوجی استفاده شد و  $P < ۰/۰۵$  به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد.

### ملاحظات اخلاقی

تمام مراحل انجام شده بر روی موش صحرایی در مطالعه حاضر از نظر رعایت اخلاق در پژوهش با دستورالعمل انجمن حمایت از حیوانات کانادا (۱۴) مطابقت داشت.

### یافته‌ها

متوسط مقدار غذای خورده شده روزانه در حیوانات تغذیه شده با رژیم غذایی استاندارد، روغن ماهی و الگوی چربی مصرفی ایرانی به ترتیب  $۲/۵ \pm ۱۶/۳$ ،  $۱/۹ \pm ۱۵/۹$  و  $۱/۸ \pm ۱۶/۵$  گرم بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت.

نتایج ارزیابی نمونه‌های آئورت در زمان از شیرگیری و زمان بلوغ به ترتیب در جداول سه و چهار خلاصه شده است. جدول سه نشان می‌دهد که میزان رگه چربی وضخیم شدگی انتیما در آئورت در زمان از شیرگیری (روز ۲۱ پس از تولد) در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم استاندارد (روغن سویا) به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بوده است. گرچه این میزان در گروه روغن ماهی کمتر از گروه مخلوط چربی با الگوی مصرفی ایرانی بود، اما تفاوت بین آنها معنی‌دار نبود. رسوب کلسیم در لایه مدیا در این زمان در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد. مجموع نمره آسیب شناسی حاصل از متغیرهای مربوط به نوع آسیب آئورت در گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد به طور معنی‌دار کمتر از دو گروه دیگر و در گروه روغن ماهی از گروه مخلوط چربی کمتر بود اما تفاوت معنی‌دار نبود. نسبت انتیما به مدیا (شاخص شدت آسیب) در دو گروه الگوی چربی ایرانی و

حیوانات متولد شده نیز با رژیم غذایی همانند مادر خود تغذیه شدند.

حیوانات به غذا و آب به طور آزاد دسترسی داشتند. هر ۴۸ ساعت یک‌بار به حیوانات غذا داده می‌شد، بدین صورت که در ظرف‌های مخصوصی که ارتفاع جدار آن‌ها در حد قابل دسترسی برای حیوانات بوده و در عین حال امکان جابجا کردن و بیرون ریختن غذا از آن وجود نداشت به مقداری بیش از نیاز حیوان غذا ریخته می‌شد. میزان غذای خورده شده از طریق توزین مقدار غذای باقیمانده در ظروف غذای داخل قفس‌ها و کم کردن آن از مقدار غذای داده شده در ۴۸ ساعت قبل مشخص می‌گردید. سیکل روشنایی و تاریکی هر ۱۲ ساعت یک‌بار و تهویه مناسب برقرار گردید، درجه حرارت ۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت حدود ۵۰٪ حفظ شد.

در روز ۲۱ و روز ۷۰ پس از تولد (به ترتیب روز از شیرگیری و روز بلوغ)، از هر مادر یک نوزاد ماده به طور تصادفی انتخاب گردیده (۱۰ نوزاد در هر گروه غذایی در روز ۲۱ و ۱۰ نوزاد در هر گروه غذایی در روز ۷۰) و پس از بی‌هوشی با گاز  $CO_2$  نخاعی شدند. از حیواناتی که بیهوش و نخاعی شده بودند، یک سانتی‌متر از آئورت سینه‌ای جدا شد و در فرمالین ۱۰٪ قرار داده شد. پس از ثابت شدن بافت در فرمالین، از آن بلوک تهیه شد و سپس از هر بلوک چند مقطع طولی و عرضی تهیه گردید و با هماتوکسیلین و اتوزین (Hematoxylin & Eosin) رنگ آمیزی شد. نمونه‌ها توسط متخصص آسیب شناس مجرب با درشت نمایی ۴۰ میکروسکوپ نوری خوانده شد. نمونه‌ها تنها توسط اعداد مشخص می‌شدند و پاتولوژیست از سن حیوان و نوع رژیم غذایی آگاهی نداشت. در این مقاطع مراحل تشکیل پلاک آترومی به ترتیب زیر ارزیابی گردید:

۱- مراحل اولیه تشکیل پلاک آترومی به صورت رگه چربی

۲- رسوب کلسیم در لایه مدیای آئورت

۳- تشکیل پلاک فیبروز

۴- مراحل پیشرفته به صورت ضخیم شدن لایه انتیما با

سلول‌های اسفنجی فراوان و یا کریستال‌های کلسترول

برای هر یک از موارد فوق نمره‌ای از صفر تا ۲+ منظور گردید و مجموع نمره‌های چهار شاخص بالا به عنوان نوع آسیب آترواسکلروتیک آئورت در نظر گرفته شد (۱۲).

نسبت ضخامت انتیما به ضخامت مدیا به صورت نسبت انتیما به مدیا محاسبه گردید و به صورت کسر ثبت شد که نشان‌دهنده شدت آسیب آترواسکلروتیک آئورت بود (۱۳).

جدول ۱- ترکیب سه رژیم غذایی تخلیص شده: استاندارد، دارای روغن ماهی و دارای الگوی چربی مصرفی ایرانی

اجزاء تشکیل دهنده (گرم در یک کیلوگرم غذا)	رژیم غذایی استاندارد	رژیم دارای روغن ماهی	رژیم با الگوی چربی مصرفی ایرانی
کازئین با درجه خلوص بیش از ۸۵٪	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
ال-سیستین	۳	۳	۳
سوکروز	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰
نشاسته ذرت	۵۲۸/۴۸۶	۵۲۸/۴۸۶	۵۲۸/۴۸۶
ترشباری بوتیل هیدروکینون (TBHQ)	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴	۰/۰۱۴
سلولز	۵۰	۵۰	۵۰
مخلوط مواد معدنی MX Dyets - AIN-93G	۳۵	۳۵	۳۵
مخلوط ویتامین VX Dyets - AIN-93G	۱۰	۱۰	۱۰
کولین کلراید	۲/۵	۲/۵	۲/۵
روغن سویا شرکت صنایع بهشهر	-	-	۷۰
روغن ماهی Menhaden oil, Dyet	-	۷۰	-
کره پاستوریزه پاک	۲۲/۴	-	-
روغن مایع آفتابگردان لادن	۹/۸	-	-
روغن نباتی جامد لادن	۳۷/۸	-	-
کازئین با درجه خلوص بیش از ۸۵٪	۲۰۰	۲۰۰	۲۰۰
ال-سیستین	۳	۳	۳

گروه‌های تغذیه شده با رژیم استاندارد و مخلوط چربی با الگوی ایرانی نیز معنی‌دار بود. جدول پنج مقایسه نسبت ضخامت انتیما به مدیا را در سه گروه غذایی و کل نمونه‌ها نشان می‌دهد. مقایسه نوع ضایعه آئورت در روز ۲۱ و ۷۰ که با آزمون ناپارامتری علامت ویلکاکسون انجام شد، نشان داد که رگه چربی، کلسیفیه شدن مدیا، پلاک فیبروز، ضخامت انتیما و نمره کلی آئورت، میان روز ۲۱ و ۷۰ چه در کل نمونه‌ها و چه به تفکیک گروه‌های غذایی تفاوت معنی‌داری ندارد. با این وجود، انواع آسیب آئورت پیشرفت مختصری را از زمان از شیرگیری تا بلوغ نشان می‌داد که این پیشرفت در مورد گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد کم‌ترین و در مورد گروه تغذیه شده با مخلوط چربی ایرانی بیشترین بود. نمودارهای یک و دو این مهم را به تصویر کشیده‌اند.

### بحث

متغیرهای انتخاب شده جهت بررسی میکروسکوپی نوع ضایعه آئورت در مطالعه حاضر، بر اساس متغیرهایی که بیشترین همبستگی را با ایجاد آترواسکلروز در مدل‌های حیوانی داشته‌اند، انتخاب شده‌اند. هم‌چنین مطالعات دیگر نشان داده‌اند که نسبت

روغن ماهی مشابه و به طور معنی‌داری بیشتر از گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد بود.

در زمان بلوغ (روز ۷۰ پس از تولد) نیز مانند زمان از شیرگیری، میزان رگه چربی وضخیم شدگی انتیما در آئورت در موش‌های صحرایی تغذیه شده با رژیم استاندارد (روغن سویا) به طور معنی‌داری کم‌تر از دو گروه دیگر بود. گرچه این میزان در گروه روغن ماهی کم‌تر از گروه مخلوط چربی با الگوی ایرانی بود، اما تفاوت معنی‌دار نبود. رسوب کلسیم در لایه مدیا در این زمان نیز در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد. مجموع نمره آسیب شناسی حاصل از متغیرهای کیفی در گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد به طور معنی‌دار کم‌تر از گروه تغذیه شده با الگوی چربی ایرانی بود و در گروه روغن ماهی از گروه مخلوط چربی کم‌تر بود اما تفاوت معنی‌دار نبود. نسبت انتیما به مدیا (نشان‌دهنده شدت ضایعه) در دو گروه رژیم استاندارد و روغن ماهی مشابه و به طور معنی‌داری کم‌تر از گروه تغذیه شده با رژیم دارای الگوی چربی مصرفی ایرانی بود.

مقایسه شدت ضایعه که با آزمون T زوجی صورت گرفت نشان داد که نسبت انتیما به مدیا در کل نمونه‌ها از روز ۲۱ تا ۷۰ به طور معنی‌داری افزایش یافته است ( $P = 0/01$ ). این افزایش در

جدول ۲- ترکیب اسیدهای چرب هر یک از روغن‌های استفاده شده

درصد اسید چرب	روغن سویا	روغن ماهی	کره	روغن مایع آفتابگردان	روغن نباتی جامد
C4: 0	-	-	۱/۶۳	-	-
C6: 0	-	-	۱/۵۸	-	-
C8: 0	-	-	۱/۳۲	-	-
C10: 0	-	-	۲/۹۴	-	-
C12: 0	۰/۰۵	-	۳/۶۴	۰/۱۱	-
C14: 0	۰/۲۸	۰/۰۷	۱۱/۴۴	۷/۹۶	۰/۰۹
C14: 1	۰/۰۲	۰/۰۲	-	۰/۶۷	-
C15: 0	۰/۰۲	-	۰/۲۶	-	۰/۰۲
C15: 1	-	-	-	۰/۰۵	-
C16: 0	۱۶/۵۲	۶/۴۶	۲۸/۲۴	۱۹/۸۸	۱۱/۵۳
C16: 1	۰/۰۹	۰/۰۹	۱/۳۹	۱۰/۶۹	۰/۰۹
C17: 0	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۶۸	۱/۱۷	۰/۰۹
C17: 1	۰/۰۴	۰/۰۳	۰/۳۶	۲/۲۴	۰/۰۵
C17: 4	-	-	-	۳/۹۱	-
C18: 0	۷/۸۰	۳/۷۵	۱۴/۳۰	۱/۹۹	۴/۲۴
C18: 1t	۱۸/۰۸	۰/۰۴	۵/۱۲	۰/۳۲	۰/۰۳
C18: 1c	۳۰/۱۶	۲۵/۷۸	۲۰/۵۶	۱۶/۳۸	۲۶/۲۶
C18: 2t	۴/۶۸	۰/۳۱	۰/۸۸	۰/۳۴	۰/۴۵
C18: 2c	۱۷/۶۹	۶۱/۴۳	۱/۱۷	۱/۹۲	۵۰/۰۰
C18: 3 gamma	۰/۱۶	۰/۰۲	۰/۰۲	۰/۳۳	۰/۳۴
C20: 0	۰/۵۹	۰/۳۰	۰/۱۵	۰/۶۱	۰/۷۷
C18: 3 alpha	۱/۰۰	۰/۴۸	۰/۸۶	۱/۷۱	۴/۹۳
C20: 1	۰/۲۴	۰/۲۱	۱/۲۸	۲/۰۰	۰/۲۵
C18: 4w3	-	-	-	۳/۶۸	-
C20: 3w3	-	-	-	۰/۳۸	-
C20: 4w6	-	-	-	۰/۲۳	-
C22: 0	۰/۳۸	۰/۶۷	۰/۰۷	۰/۳۲	۰/۴۹
C22: 1	-	۰/۰۶	۰/۰۶	۰/۲۳	-
C20: 5	-	-	-	۱/۹۰	-
C24: 0	۰/۱۲	۰/۲۴	۰/۰۴	۰/۲۰	۰/۱۴
C22: 5	-	-	-	۲/۵۳	-
C22: 6	-	-	-	۱۴/۶۸	-

جدول ۳- بافت‌شناسی آنورت در موش‌های صحرایی متولد شده در هر یک از سه گروه غذایی در روز ۲۱ پس از تولد\*

شاخص‌ها	گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد n=۱۰	گروه تغذیه شده با روغن ماهی n=۱۰	گروه تغذیه شده با الگوی چربی مصرفی ایرانی n=۱۰	کل (n=۳۰) P-Value
رگه چربی	۰/۳۰±۰/۴۸	۰/۱۰±۰/۰۰	۰/۲۰±۰/۷۹	۰/۸۳±۰/۶۵ ‡۰/۰۰۱
پلاک فیروز	۰/۴۰±۰/۷	۰/۸۰±۰/۴۲	۰/۶۰±۰/۵۲	۰/۱۷۸
ضخیم شدن انتیما	۰/۵۰±۰/۵۳	۰/۵۰±۰/۴۲	۰/۲۰±۰/۷۹	۰/۸۳±۰/۶۵ †۰/۰۴۷
مجموع نمره آسیب شناسی	۰/۲۰±۱/۴	۰/۲۰±۰/۵۲	۰/۳۰±۱/۴۹	۲/۲۷±۱/۴۱ ‡۰/۰۰۸
نسبت انتیما به مدیا	۰/۱۰±۰/۰۰۵	۰/۱۲±۰/۰۰۸	۰/۱۲±۰/۰۰۶	۰/۱۱±۰/۰۰۹ ‡۰/۰۰۱

\* جهت مقایسه میانگین‌های چهار مورد اول از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس و در مورد پنجم از آزمون آنالیز واریانس استفاده شده است. در مورد سه شاخص اول، به هر یک از شاخص‌ها نمره‌ای از صفر تا ۲ داده شده و سپس از نمره‌ها میانگین گرفته شده است. مقادیر جدول انحراف معیار ± میانگین است. در هر سطر جدول، مقادیری که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

† اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

‡ اختلاف در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است.

جدول ۴- بافت‌شناسی آنورت در موش‌های صحرایی متولد شده در هر یک از سه گروه غذایی در روز ۷۰ پس از تولد\*

شاخص‌ها	گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد n=۱۰	گروه تغذیه شده با روغن ماهی n=۱۰	گروه تغذیه شده با الگوی چربی مصرفی ایرانی n=۱۰	کل (n=۳۰) P-Value
رگه چربی	۰/۳۰±۰/۴۸	۰/۱۰±۰/۸۲	۰/۶۰±۰/۵۲	۰/۹۷±۰/۸۱ ‡۰/۰۰۲
پلاک فیروز	۰/۵۰±۰/۷۱	۰/۸±۰/۴۲	۰/۸±۰/۴۲	۰/۷۰±۰/۵۳ ۰/۲۴۷
ضخیم شدن انتیما	۰/۶۰±۰/۸۴	۰/۱۰±۰/۷۴	۰/۵۰±۰/۵۳	۱/۰۷±۰/۷۸ †۰/۰۴۲
مجموع نمره آسیب شناسی	۰/۴۰±۱/۸۴	۰/۲۰±۱/۷۳	۰/۳۰±۱/۱	۲/۷۳±۱/۸۶ †۰/۰۱۷
نسبت انتیما به مدیا	۰/۱۲±۰/۰۰۸	۰/۱۲±۰/۰۰۲	۰/۱۶±۰/۰۰۵	۰/۱۳±۰/۰۳۶ ‡۰/۰۰۹

\* جهت مقایسه میانگین‌های چهار مورد اول از آزمون ناپارامتری کروسکال والیس و در مورد پنجم از آزمون آنالیز واریانس استفاده شده است. در مورد سه شاخص اول، به هر یک از شاخص‌ها نمره‌ای از صفر تا ۲ داده شده و سپس از نمره‌ها میانگین گرفته شده است. مقادیر جدول انحراف معیار ± میانگین است. در هر سطر جدول، مقادیری که با حروف متفاوت نشان داده شده‌اند، دارای تفاوت معنی‌دار هستند.

† اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی‌دار است.

‡ اختلاف در سطح ۰/۰۱ معنی‌دار است.

نتایج متفاوتی را در مورد اثر روغن ماهی بر ضایعه آترواسکلروتیک آنورت نشان داده‌اند. Aguilera و همکاران (۱۲) نشان دادند که روغن زیتون و با درجه کم‌تر روغن ماهی از پیشرفت آترواسکلروز آنورت در موش جلوگیری می‌کند و روغن آفتابگردان ضایعه آنورت را تشدید می‌کند. El Seweid و همکاران (۱۵) دریافتند که میزان آسیب آترواسکلروتیک آنورت در موش‌های صحرایی تغذیه شده با روغن ماهی افزایش می‌یابد. این محققین پیشرفت ضایعه آترواسکلروتیک را به افزایش آسیب اکسیداتیو ناشی از روغن ماهی نسبت دادند.

از سوی دیگر Barbeau و همکاران (۱۶) اثر روغن ماهی را با رژیم استاندارد بر روی آسیب آنورت در خوک مقایسه کرده و نتیجه گرفتند که میزان آسیب آنورت میان دو گروه تفاوتی

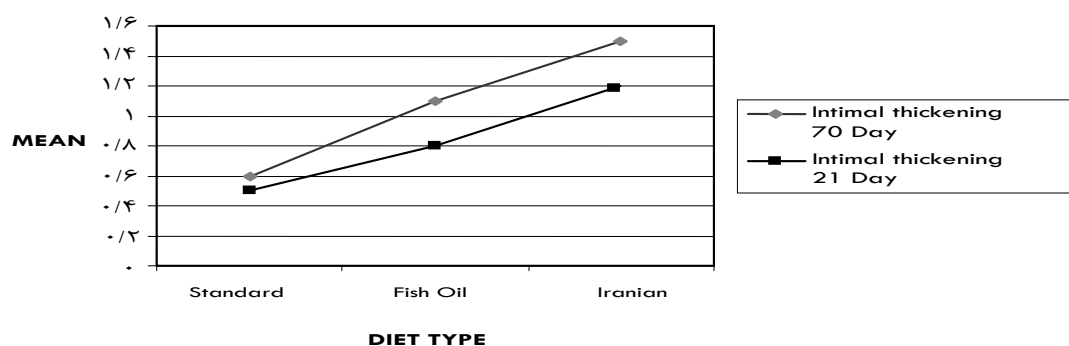
انتیما به مدیا در آنورت سینه‌ای بهترین متغیر کمی میکروسکوپی برای ارزشیابی شدت ضایعه و پیشرفت آترواسکلروز با افزایش سن است و با میزان ضایعه در عروق کرونر راست و چپ همبستگی قوی دارد (۱۴). در این پژوهش میزان رگه چربی و ضخیم‌شدگی انتیما در آنورت در زمان از شیرگیری و بلوغ در حیوانات تغذیه شده با رژیم استاندارد به طور معنی‌داری کمتر از دو گروه دیگر بود. شدت ضایعه آنورت در زمان از شیرگیری در دو گروه استاندارد و روغن ماهی مشابه و به طور معنی‌داری کمتر از گروه تغذیه شده با الگوی چربی مصرفی ایرانی بود. در صورتی که در زمان بلوغ در دو گروه الگوی چربی مصرفی ایرانی و روغن ماهی مشابه و به طور معنی‌داری بیشتر از گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد بود. مطالعات مختلف

جدول ۵- نسبت ضخامت انتیما به مدیا در موش‌های صحرایی متولد شده در روز ۲۱ و ۷۰ پس از تولد\*

P-Value	روز ۷۰ (بلوغ)	روز ۲۱ (از شیرگیری)	I/M Ratio
†۰/۰۰۱	۰/۱۲±۰/۰۰۸	۰/۱۰±۰/۰۰۵	گروه تغذیه شده با رژیم استاندارد n=۱۰
۰/۹۱۷	۰/۱۲±۰/۰۰۲	۰/۱۲±۰/۰۰۸	گروه تغذیه شده با روغن ماهی n=۱۰
*۰/۰۲۵	۰/۱۶±۰/۰۰۵	۰/۱۲±۰/۰۰۶	گروه تغذیه شده با الگوی چربی مصرفی ایرانی n=۱۰
*۰/۰۱	۰/۱۳±۰/۰۳۶	۰/۱۱±۰/۰۰۹	کل نمونه ها n=۳۰

\* جهت مقایسه میانگین‌ها از آزمون T زوجی استفاده شده است. مقادیر جدول انحراف معیار ± میانگین است.

† اختلاف در سطح ۰/۰۵ معنی دار است.



نمودار ۱- ضخیم شدن لایه انتیما از زمان از شیرگیری تا بلوغ در سه گروه غذایی

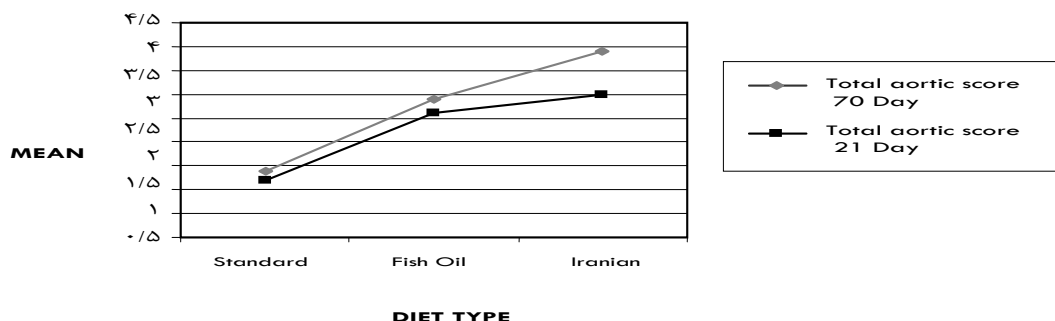
ترتیب احتمال ایجاد ضایعه آترواسکلروتیک نیز بیشتر می‌شود. در پاسخ به تجمع یاخته‌های کفی انباشته از LDL-C اکسید شده در انتیما، آئورت، سلول‌های جدار شریان آئورت شروع به تولید ملکولهای واکنشی مانند رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهای لیپید می‌کنند که خود با افزایش آسیب اکسیداتیو، عامل پیشرفت آسیب آئورت هستند (۲۰).

مطالعات نشان می‌دهند که در ذرات LDL-C افرادی که از رژیم‌های غنی شده با روغن ماهی استفاده کرده‌اند، فاز تأخیری اکسیداسیون ۳۰٪ کوتاه‌تر شده است. هم‌چنین این ذرات هم به اکسیداسیون القا شده توسط محلول سولفات مس و هم به واکنش با ماکروفاژها مستعدتر شده‌اند که در هر دوی این حالات بلعیده شدن آن‌ها توسط ماکروفاژها تسریع می‌گردد (۲۱، ۲۲).

در مقایسه این پژوهش با مطالعات قبلی ذکر این نکته لازم است که شدت آسیب اکسیداتیو LDL-C هم بستگی به ترکیب روغن مصرفی و هم میزان کلی آنتی اکسیدان‌های پلاسما دارد به طوری که در بعضی گونه‌ها مانند خرگوش فعالیت آنزیم پاراواکسوناز (Paraoxonase) متصل به HDL-C در مقایسه با انسان و سایر گونه بالاتر بوده LDL-C را در مقابل آسیب اکسیداتیو در محیط داخلی بدن جاندار محافظت می‌کند (۲۳). به همین دلیل یافته‌های مطالعات انجام شده بر روی سایر نژادها

ندارد. در مطالعه انجام شده توسط Campos و همکاران (۱۷) نیز تغذیه خرگوش‌ها با روغن ماهی نتوانست تفاوتی را در محتوای کلسترول آئورت سینه‌ای و شکمی ایجاد کند. برخی پژوهشگران بر این باور هستند که علت این تفاوت در نتایج مطالعات این است که بسیاری از مطالعات از گروه کنترل تغذیه شده با رژیم استاندارد استفاده نکرده‌اند (در پژوهش حاضر از گروه شاهد تغذیه شده با رژیم استاندارد موش صحرایی استفاده شده است). هم‌چنین از روغن‌هایی استفاده کرده‌اند که نسبت اسیدهای چرب غیر اشباع به اسیدهای چرب اشباع در آن‌ها در مقایسه با روغن ماهی کم‌تر بوده است. به نظر می‌رسد زمانی که از گروه کنترل مناسب استفاده شود، روغن ماهی اثر بخصوصی را در پیشگیری از آترواسکلروز اعمال نمی‌کند (۱۸).

افزایش ضایعه آترومی آئورت در گروه تغذیه شده با روغن ماهی در پژوهش حاضر را می‌توان بدین صورت توجیه کرد که: ترکیب اسیدهای چرب موجود در رژیم غذایی، ترکیب اسیدهای چرب LDL-C را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۹). پژوهش‌ها نشان می‌دهند که وجود اسیدهای چرب امگا-۳ در رژیم غذایی به دلیل درجه بالای غیر اشباع بودن، ذرات LDL-C را نسبت به آسیب اکسیداتیو مستعد می‌نمایند و از آن‌جا که ضایعه آترومی در آئورت از اکسید شدن ذرات LDL-C شروع می‌شود، بدین



نمودار ۲- نمره کلی آئورت از زمان از شیرگیری تا بلوغ در سه گروه غذایی

مصرفی اشاره کرد. هم‌چنین اندازه‌گیری هم‌زمان میزان استرس اکسیداتیو ایجاد شده در محیط داخلی بدن هر یک از گروه‌های غذایی نیز پیشنهاد می‌گردد.

### نتیجه‌گیری

به نظر می‌رسد رژیم غذایی که نسبت اسیدهای چرب امگا-۳ به امگا-۶ آن حدود ۶ به ۱۰ باشد (مانند رژیم غذایی دارای روغن ماهی در پژوهش حاضر)، باعث تشدید آترواسکلروز در آئورت می‌گردد. هم‌چنین به نظر می‌رسد که رژیم غذایی فعلی جامعه ایران به دلیل وجود اسیدهای چرب اشباع فراوان آترواسکلروز را در آئورت تشدید می‌کند.

### تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور و همکاران این معاونت که حمایت مالی این طرح را تقبل نمودند و هم‌چنین از پرسنل محترم گروه آسیب‌شناسی بیمارستان طالقانی و گروه فارماکولوژی دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

### منابع

1. Sarraf-Zadegan N, Sayed-Tabatabaei FA, Bashardoost N. The prevalence of coronary artery disease in an urban population in Isfahan, Iran. *Acta Cardiol* 1999; 54(5): 257-63.
2. Roche HM, Gibeny NJ. Effect of long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids on fasting and postprandial triacylglycerol metabolism. *Am J Clin Nutr* 2000; 71(1): 232-37.
3. Baker PW, Gibbones GF. Effect of dietary fish oil on the sensitivity of hepatic lipid metabolism to regulation by insulin. *J Lipid Res* 2000; 41: 719-26.

و گونه‌ها به طور کامل قابل مقایسه با یافته‌های این مطالعه نیست. افزون بر این حیوانات بسته به زمینه ژنتیک، گونه، سن، جنس، میزان روغن ماهی استفاده شده، طول مدت مداخله و دوره‌ای از زندگی که مداخله در آن صورت می‌گیرد، اثرات مختلفی در مقابل اسیدهای چرب امگا-۳ نشان می‌دهند (۲۴).

در مطالعه حاضر آسیب آئورت در گروه تغذیه شده با مخلوط چربی ایرانی از گروه تغذیه شده با روغن ماهی بیشتر بود. بررسی‌ها نشان می‌دهند که آغازگر فرایند آترواسکلروز، ذرات LDL-C اکسید شده هستند که سلول‌های اندوتلیال را برای ترشح میانجی‌های پیش التهابی و ملکول‌های چسبندگی تحریک می‌کنند (۲۵). میزان تومور نکروزیس فاکتور آلفا، اینترلوکین-۱ بتا و اینترلوکین-۶ در حیواناتی که با اسیدهای چرب امگا-۳ تغذیه می‌شوند کم‌تر از حیوانات تغذیه شده با چربی‌های اشباع است (۲۶). این مهم می‌تواند توجیه‌کننده کاهش آسیب آئورت در گروه تغذیه شده با روغن ماهی نسبت به مخلوط چربی با الگوی ایرانی باشد.

در مطالعه حاضر آسیب آئورت با افزایش سن حیوانات از زمان از شیرگیری تا زمان بلوغ افزایش یافت. در مطالعه‌ای که توسط Rich و همکاران (۲۷) انجام شد، حیوانات از زمان از شیرگیری تا یکسالگی رژیم غذایی غنی شده با روزانه ۲/۵ میلی لیتر روغن ماهی یا رژیم کنترل دریافت کردند. میزان پراکسیدازهای اسیدهای چرب از زمان از شیرگیری تا یکسالگی هم در گروه تغذیه شده با روغن ماهی و هم در گروه تغذیه شده با رژیم کنترل افزایش یافت. به نظر می‌رسد با افزایش سن حیوان به تدریج شدت آسیب اکسیداتیو بیشتر می‌شود که می‌تواند توجیه‌کننده افزایش شدت آسیب آئورت در هر سه گروه با افزایش سن باشد. از مهم‌ترین کاستی‌های پژوهش حاضر می‌توان به لزوم اندازه‌گیری سطح آنتی‌اکسیدان‌های هر یک از انواع روغن‌های



16. Barbeau ML, Klemp KF, Guyton JR, Rogers KA. Dietary fish oil, influence on lesion regression in the porcine model of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb* 1997; 17: 688-94.
  17. Campos CT, Michalek VN, Matts JP, Buchwald H. Dietary marine oil supplements fail to affect cholesterol metabolism or inhibit atherosclerosis in rabbits with diet-induced hypercholesterolemia. *Surgery* 1989; 106(2): 177-84.
  18. Whitman SC, Fish JR, Rand ML, Rogers KA. N-3 fatty acid incorporation into LDL particles renders them more susceptible to oxidation in vitro but not necessarily more atherogenic in vivo. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1170-76.
  19. Nenseter MS, Rustan AC, Lund-Katz S, Soyland E, Maelandsmo G, Phillips MC, Drevon CA. Effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on physical properties and metabolism of low density lipoprotein in humans. *Arteriosclerosis and Thrombosis* 1992; 12: 369-79.
  20. Regnstorm J, Nilsson J, Tornvall P, Landou C, Hamsten A. Susceptibility to low-density lipoprotein oxidation and coronary atherosclerosis in man. *Lancet* 1992; 339: 1183-86.
  21. Suzukawa M, Abbey M, Howe PRC, Nestel PJ. Effects of fish oil fatty acids on low density lipoprotein size, oxidizability, and uptake by macrophages. *J Lipid Res* 1995; 36: 437-84.
  22. Maor I, Hayek T, Colman R, Aviram M. Plasma LDL oxidation leads to its aggregation in the atherosclerotic apolipoprotein E-deficient mice. *Arterioscler Tromb Vasc Biol* 1997; 17: 2995-3005.
  23. Mackness MI, Arrol S, Abbot C, Durrington PN. Protection of low-density lipoprotein against oxidative modification by high-density lipoprotein associated paraoxonase. *Atherosclerosis* 1993; 104: 129-35.
  24. Dansky H, Charlton S, Sikes J. Genetic background determines the extent of atherosclerosis in Apo E-deficient mice. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 19: 1960-68.
  25. Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 1999; 407: 233-41.
  26. Sadeghi S, Wallace FA, Calder PC. Dietary lipids modify the cytokine response to bacterial lipopolysaccharide in mice. *Immunology* 1999; 96: 404-10.
  27. Rich S, Miller JF JR, Charous S, Davis HR, Shanks P, Glagov S, Lands WE. Development of atherosclerosis in genetically hyperlipidemic rabbits during chronic fish-oil ingestion. *Arteriosclerosis* 1989; 9(2): 189-94.
  4. Cortan RS. Blood Vessels In: Cortan RS, Kumar V, Robbins SL. *Robbins Pathologic Basis of Disease*. 3<sup>rd</sup> ed. Saunders, Philadelphia 2003: 557-68.
  5. Bucher HC, Hengstler P, Schindler C, Meier G. N-3 polyunsaturated fatty acids in coronary heart disease: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med* 2002; 112(4): 298-304.
  6. Aguila MB, Sa Silva SP, Pinherio AR, Mandarim-de-Lacerda CA. Effects of long-term intake of edible oils on hypertension and myocardial and aortic remodeling in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens* 2004; 22(5): 921-29.
  7. Nyby MD, Matsumoto K, Yamamoto K, Abedi K, Eslami P, Hernandez G, et al. Dietary fish oil prevents vascular dysfunction and oxidative stress in hyperinsulinemic rats. *Am J Hypertension* 2005; 18: 213-19.
  8. Zampolli A, Bysted A, Leth T, Mortensen A, Caterina RD, Falk E. Contrasting effect of fish oil supplementation on the development of atherosclerosis in murine models. *Atherosclerosis* 2006; 184: 78-85.
  9. Rogers KA, Karnovsky MJ. Dietary fish oil enhances monocyte adhesion and fatty streak formation in the hypercholesterolemic rat. 1998; 132(2): 382-88.
  10. Ramana BV, Kumar VV, Krishna PN, Kumar CS, Reddy PU, Raju TN. Effect of quercetin on galactose induced hyperglycemic oxidative stress in hepatic and neuronal tissues of wistar rats. *Acta Diabetol* 2006; 43(4): 135-41.
۱۱. کلانتری ناصر، غفارپور معصومه. طرح جامع مطالعات الگوی مصرف مواد غذایی خانوار و وضعیت تغذیه ای کشور. چاپ اول. تهران: مرکز چاپ و انتشارات موسسه عالی آموزش و پژوهش مدیریت و برنامه ریزی، ۱۳۸۳، ۴۰-۳۷.
12. Aguilera CM, Ramirez-Tortosa MC, Mesa MD, Ramirez-Tortosa CL, Gil A. Sunflower, virgin-olive and fish oils differentially affect the progression of aortic lesions in rabbits with experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002; 162: 335-44.
  13. Mortensen A, Hansen BF, Hansen JF, Frandsen H, Bartnikowska E, Andersen PS, Bertelsen LS. Comparison of the effects of fish oil and olive oil on blood lipids and aortic atherosclerosis in Watanabe heritable hyperlipidaemic rabbits. *Br J Nutr* 1998; 80: 565-73.
  14. Olfert ED, Cross BM, McWilliam A. *CCAC guide to the care and use of experimental animals*. 2<sup>nd</sup> ed Canada Canadian council on animal care. 1993. Appendix XV-A.
  15. EL Seweid MM, El Swefy SE, Abdallah FR, Hashem RM. Dietary fatty acid unsaturation levels, lipoprotein oxidation and circulating chemokine in experimentally induced atherosclerotic rats. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57(11): 1467-74.