

شاخص‌های مرتبط با استرس اکسیداتیو و وضعیت آنتی‌اکسیدانی در بیماران کبد چرب غیر الکلی

ایوا اورنگی^۱، دکتر علیرضا استادرجیمی^۲، دکتر رضا مهدوی^۲، دکتر محمدحسین صومی^۱، دکتر محمدکاظم طرزمنی^۲

(۱) مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. (۲) دانشکده‌ی بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی تبریز. (۳) گروه رادیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: تبریز، خیابان گلگشت، دانشکده‌ی بهداشت و تغذیه، صندوق پستی: ۵۱۶۶۱۴۷۱۱، دکتر علیرضا استادرجیمی؛ e-mail: ostadrahimia@tbzmed.ac.ir

چکیده

مقدمه: کبد چرب غیر الکلی (NAFLD)، طیفی از بیماری‌های بالینی می‌باشد که سبب‌شناسی آن از استئاتوز کبدی ساده تا استئاتوهپاتیت غیر الکلی، سیروز و کارسینوم کبدی را شامل می‌شود. نظر به اهمیت چاقی به عنوان عامل خطرساز، و استرس اکسیداتیو به عنوان عامل موثر در بیماری‌زایی، بروز التهاب و پیشرفت بیماری، پژوهش کنونی با هدف تعیین میزان اضافه وزن، چاقی و بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو در بیماران کبد چرب غیرالکلی صورت گرفت. مواد و روش‌ها: در این بررسی مورد- شاهدی، ۵۰ فرد مبتلا به کبد چرب غیر الکلی و ۴۸ فرد سالم شرکت داشتند. اندازه‌گیری‌های تن‌سنجدی، تعیین سطح سرمی آنزیم‌های کبدی، پروفایل لیپیدی، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) و مالوندی‌آلدئید (MDA) براساس روش استاندارد صورت گرفت. تحلیل‌های آماری داده‌ها با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۱/۵ انجام شد. یافته‌ها: در بیماران کبد چرب غیر الکلی میانگین نمایه‌ی توده‌ی بدن (BMI) به طور معنی‌داری از گروه شاهد بیشتر بود. تفاوت معنی‌داری از نظر میانگین سطح سرمی MDA در دو گروه مورد بررسی وجود نداشت ($P=0/1$)، در صورتی که میانگین سطح سرمی TAC در بیماران به طور معنی‌داری از گروه شاهد، پایین‌تر بود ($P=0/02$). نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های پژوهش کنونی، کنترل اضافه وزن و چاقی در افراد سالم جامعه برای جلوگیری از ابتلاء در بیماران به منظور جلوگیری از پیشرفت بیماری ضروری به نظر می‌رسد، هم‌چنین با توجه به پایین بودن سطح سرمی TAC در این بیماران، توصیه به مصرف منابع سرشار از مواد آنتی‌اکسیدان و مکمل‌های آن، می‌تواند در مراحل درمانی ارزشمند باشد.

واژگان کلیدی: کبد چرب غیر الکلی، چاقی، استرس اکسیداتیو، ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی، مالوندی‌آلدئید

دریافت مقاله: ۸۹/۲/۴ - دریافت اصلاحیه: ۸۹/۵/۲۵ - پذیرش مقاله: ۸۹/۵/۲۷

صرف الکل نداشتند، اما یافته‌های نمونه‌برداری کبد آن‌ها با هپاتیت الکلی، غیر قابل افتراء بود.^۱ کبد چرب غیرالکلی طیفی از بیماری‌های بالینی می‌باشد، سبب‌شناسی از استئاتوز کبدی ساده تا استئاتوهپاتیت غیرالکلی (NASH)ⁱⁱ، سیروز و کارسینوم کبدی را شامل می‌شود.^۲

مقدمه

کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)ⁱ بیماری شایعی است که اولین بار در سال ۱۹۸۰ توسط لودویگ و همکاران شناسایی شد و شامل بیمارانی بود که تاریخچه‌ای از

با فعال‌سازی سلول‌های ستاره‌ای شکل در کبد که کلاژن را سنتر می‌کنند، سبب ایجاد فیبروز کبدی شوند. سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن نیز از سلول‌ها در برابر این استرس اکسیداتیو محافظت می‌کند.^۹ در میان پژوهش‌های انجام شده در این زمینه، کوشان و همکاران و نیز سانیل و همکاران، بالا بودن سطح پراکسیداسیون لیپیدی^{۱۰-۱۱} و برخی دیگر همچون رزلت و همکاران، عدم تغییر در سطح سرمی شاخص‌های استرس اکسیداتیو^{۱۲} را گزارش کردند. با توجه به نقش چاقی به عنوان یکی از عوامل خطرساز اصلی این بیماری و پراکسیداسیون لیپیدی و نیز نقش آن در بروز التهاب و پیشرفت کبد چرب غیر الکلی به استئاتوھپاتیت غیر الکلی، پژوهش کنونی با هدف تعیین میزان اضافه وزن و چاقی، بررسی وضعیت استرس اکسیداتیو و مقایسه‌ی سطح سرمی مالوندی‌آلدئید و ظرفیت تمام آنتی‌اکسیدانی در بیماران کبد چرب غیرالکلی با افراد سالم انجام گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مورد- شاهدی از بیماران مراجعه‌کننده‌ی داوطلب به کلینیک تخصصی شیخ الرئیس تبریز ۵۰ زن و مرد ۱۹ تا ۷۶ سال مبتلا به کبد چرب غیرالکلی غیردیابتی به عنوان گروه مورد و ۴۸ زن و مرد ۲۲ تا ۶۲ سال سالم به عنوان گروه شاهد در مدت ۸ ماه انتخاب شدند. برای بیماران سونوگرافی و آزمایش‌های بیوشیمیایی مربوط به سطح آنزیم‌های کبدی، هپاتیت B و C انجام شد و توسط پزشک فوق تخصص گوارش مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی گزارش و در صورت داشتن شرایط زیر، وارد بررسی شدند:

سن بیشتر از ۱۸ سال، عدم وجود حاملگی و شیردهی، عدم انجام پیوند کبد، عدم مصرف داروهایی مانند کورتیکواستروئیدها، آمیودارون، تاموکسیفن، پرهکسیلین، متورکوتکسات، عدم دریافت تغذیه‌ی کامل وریدی، عدم کاهش وزن سریع و عدم ابتلا به دیابت، نارسایی قلبی، تیروئید، بیماری‌های کلیوی، هماتوکروماتوز ارثی و ویلسون، داشتن آزمایش مثبت ویروس هپاتیت B و هپاتیت اتوایمیون، عدم نقص آلفا-۱ آنتی‌تریپسین و عدم مصرف مکمل ویتامین‌های A، C و E. گروه شاهد نیز از میان افراد همسان‌سازی شده از نظر سن با گروه مورد، انتخاب شدند. شرط ورود این

گزارش‌های جدید حاکی از این است که شیوع کبد چرب غیرالکلی در جامعه‌ی بشری بیشتر از آن چیزی است که در ابتدا حدس زده می‌شد و بسیاری از بیماران بدون عوامل خطر شناخته شده برای این بیماری، مانند چاقی، دیابت، افزایش چربی خون یا موارد اختصاصی شامل تغذیه‌ی وریدی طولانی مدت، سوء تغذیه‌ی پروتئین- کالری، عمل جراحی با پس ژئنو- ایلیال یا مصرف داروهای خاص به آن مبتلا شده‌اند.^۳ در حقیقت بررسی‌های انجام شده با سونوگرافی در جامعه‌ی غربی از ۲۵٪ شیوع این وضعیت بیماری خبر می‌دهد.^{۴-۵} متأسفانه در مورد شیوع کبد چرب غیرالکلی در ایران آمار چندانی در دسترس نمی‌باشد. مانند بیشتر بیماری‌های مزمن کبدی، اغلب مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی بدون علامت هستند و تنها بعد از یافتن جواب‌های غیرطبیعی آزمون‌های آزمایشگاهی، و یا به دلیل انجام سونوگرافی به علت‌های مختلف مانند سنگ‌های صفراوی، بیماری کبد چرب در آن‌ها تشخیص داده می‌شود.^۶ سبب‌شناسی کبد چرب غیرالکلی همچنان در پرده‌ی ابهام از قرار دارد، مهم‌ترین فرضیه در سبب‌شناسی این بیماری، تئوری دو مرحله‌ای نام دارد که شامل موارد زیر است:^{۱)} مقاومت انسولینی (سازوکار کلیدی که منجر به استئاتوز و استئاتوھپاتیت می‌شود) و ۲) آسیب اکسیداتیو (که منجر به التهاب و پیشرفت بیماری می‌شود).^۷

استرس اکسیداتیو در سیستم‌های بیولوژیک برای اولین بار توسط سیز و همکاران مطرح شد و آن‌ها استرس اکسیداتیو را به عنوان عدم تعادل در سیستم پرواکسیدان/ آنتی‌اکسیدان تعریف کردند که این عدم تعادل، به سوی اکسیدان‌هایی است که منجر به آسیب می‌شوند.^۸ در شرایط طبیعی، سوخت و ساز هوایی کبد با تولید ثابت پرواکسیدان‌هایی مانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)^۹ می‌باشد که تعادل را از راه مصرف آنها با سرعت مشابه توسط آنتی‌اکسیدان‌ها برقرار می‌کند. عدم تعادل در معادله‌ی پرواکسیدان/ آنتی‌اکسیدان برای جانشینی پرواکسیدان‌ها فرضیه‌ی استرس اکسیداتیو را در کبد مطرح می‌نماید (شرایطی که سبب ایجاد رویدادهای پاتولوژیک در این اندام حیاتی می‌شود). گونه‌های فعال اکسیژن با اثرات سمی خود منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی و تولید مالوندی‌آلدئید (MDA)ⁱⁱ و HNEⁱⁱⁱ می‌گردند و می‌توانند

i-Reactive Oxygen Species

ii - Malondialdehyde

تحلیل آماری داده‌ها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. تمام متغیرهای کمی به صورت میانگین و خطای استاندارد و متغیرهای کیفی به صورت تعداد و درصد بیان گردیدند. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در دو گروه از آزمون تی و برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. سطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0.05$.

یافته‌ها

۵۰ نفر شامل ۲۸ مرد و ۲۲ زن در گروه کبد چرب غیرالکلی و ۴۸ نفر شامل ۲۱ مرد و ۲۷ زن در گروه شاهد قرار گرفتند. ویژگی‌های عمومی، تن‌سنجدی و بیوشیمیایی افراد شرکت‌کننده در بررسی، در جدول ۱ نشان داده شده است.

دو گروه مورد پژوهش از نظر سن، جنس و قد، اختلاف معنی‌داری نداشتند. شاخص‌های تن‌سنجدی وزن و BMI به طور معنی‌داری در مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی بیشتر از افراد سالم بود.

جدول ۲ توزیع فراوانی و درصد افراد در دو گروه مورد بررسی بر حسب BMI را نشان می‌دهد. در گروه NAFLD ۶٪ افراد در گروه کنترل شاهد $31/3\%$ افراد در محدوده وزن طبیعی قرار داشتند. در گروه NAFLD $30/3\%$ افراد در محدوده اضافه وزن، $42/4\%$ در محدوده چاقی درجه I، $18/1\%$ چاقی درجه II و $4/4\%$ چاقی درجه III بودند، به این ترتیب در گروه شاهد نیز $37/5\%$ افراد در محدوده اضافه وزن، $25/2\%$ در محدوده چاقی درجه I و $2/6\%$ در محدوده چاقی درجه II بودند.

بر اساس آزمون آماری مجزور خی بین دو گروه مورد بررسی از نظر میزان شیوع چاقی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($P = 0.003$). یافته‌ها حاکی از شیوع بیشتر چاقی در بیماران کبد چرب غیرالکلی نسبت به گروه شاهد بود ($64/6\%$ در برابر $31/3\%$). براساس یافته‌های سونوگرافی، $73/5\%$ از بیماران در هر دو جنس، در درجه I و $28/5\%$ در درجه II بیماری بودند (جدول ۳).

میانگین و خطای استاندارد سطح سرمی آنزیم‌های کبدی ALT و AST به طور معنی‌داری در گروه کبد چرب غیرالکلی از شاهد بالاتر بود ($P < 0.001$).

افراد به پژوهش، سطح طبیعی آنزیم‌های کبدی و تشخیص کبد سالم توسط انجام سونوگرافی بود. پس از گرفتن رضایت‌نامه‌ی کتبی، برای هر فرد پرسش‌نامه‌ی عمومی و پزشکی (شامل بررسی سطح سواد، سابقه‌ی بیماری و مصرف داروهای خاص) تکمیل شد.

برای جمع‌آوری داده‌های تن‌سنجدی، قد و وزن افراد مورد بررسی با استفاده از ترازوی عقربه‌ای سکا با دقت $0.1/0.1$ کیلوگرم متصل به قسنج درجه‌بندی شده با دقت $0.1/0.1$ سانتی‌متر اندازه‌گیری شد و در نهایت نمایه‌ی توده‌ی بدن بر اساس فرمول زیر مصاحبه شد:

$$\text{BMI} = \frac{\text{وزن (کیلوگرم)}}{\text{مجزور قد (متر)}}$$

از تمام افراد شرکت‌کننده در بررسی $10/10$ سی‌سی خون وریدی در حالت ناشتا گرفته شد. برای اندازه‌گیری متغیرهای پروفایل لیپیدی، آنزیم‌های کبدی ALTⁱ و ALP^{iv} از کیت‌های شرکت پارس آزمون و دستگاه اتوآنالیزور (Alcyon 300) Abbott استفاده شد.

در بررسی حاضر مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان یکی از مهم‌ترین نشانگرهای زیستی و یک شاخص کلی برای میزان پراکسیداسیون لیپیدی، با توجه به حلالیت بالای آن در سرم، توسط آزمون TBARS^v اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC)^{vi} با استفاده از کیت Randox و توسط دستگاه اتوآنالیزور صورت گرفت.

ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی برآورده از ترکیب پتانسیل آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در بدن است که در تعامل با یکدیگر عمل می‌کنند. به نظر می‌رسد اندازه‌گیری این شاخص نسبت به شاخص‌های انفرادی وضعیت آنتی‌اکسیدانی (مثل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD، CAT و GPX) بهتر باشد، زیرا در محیط زنده فعل و انفعالات پیچیده‌ای بین نیروهای آنتی‌اکسیدانی و اکسیدان‌ها روی می‌دهد و آنچه توسط این شاخص برآورد می‌شود نتیجه‌ی خالص این فعل و انفعالات می‌باشد.^۱

i - Body Mass Index

ii-Alanine aminotransferase

iii-Aspartate aminotransferase

iv-Alkaline phosphatase

v- Thiobarbituric acid reactive substances

vi -Total Antioxidant Capacity

جدول ۱- میانگین و خطای استاندارد شاخص‌های عمومی، تن‌سننجی و بیوشیمیایی در دو گروه کبد چرب غیرالکلی و شاهد

P [†]	شاهد (تعداد=۴۸)	کبد چرب غیرالکلی (تعداد=۵۰)	شاخص
۰/۴۲	*۴۳/۸±۱/۶	*۴۵/۸±۱/۸	سن (سال)
	۲۱/۲۷	۲۸/۲۲	نسبت زن/مرد
۰/۳۴	۱۶۲/۲±۱/۴۴	۱۶۵/۲±۱/۵۲	قد (سانسی‌مترا)
<۰/۰۰۱	۷۲/۵±۱/۹	۸۵/۶±۱/۹۵	وزن (کیلوگرم)
<۰/۰۰۱	۲۷/۵±۰/۷	۳۱/۳±۰/۶۳	BMI (کیلوگرم بر متر)
			لپیدهای سرم
۰/۴۸	۲۴۴/۲±۹/۶۵	۲۳۴/۲±۶/۴۶	کلسترول (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۰۹	۱۶۴/۱±۱۳/۲۵	۱۹۳/۷±۱۱/۳۵	تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۴۴	۶۰/۴±۱/۵۱	۵۸/۹±۱/۲۵	کلسترول-HDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
۰/۲۶	۱۴۹/۰±۹/۴۴	۱۳۶/۸±۵/۸۸	کلسترول-LDL (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)
			آنزیم‌های کبدی
<۰/۰۰۱	۲۶/۳±۰/۹۲	۴۲/۰۴±۲/۵۸	AST (واحد بر لیتر)
<۰/۰۰۱	۲۱/۵±۱/۰۷	۵۳/۲±۴/۶۹	ALT (واحد بر لیتر)
۰/۱۱	۱۵۲/۲±۶/۰۲	۱۴۱/۱±۴/۵۴	ALP (واحد بر لیتر)
			شاخص‌های استرس اکسیداتیو
۰/۱	۶۸/۲±۱/۳۱	۷۱/۳±۱/۲۵	MDA (میکرومول بر لیتر)
۰/۰۲	۱/۲۵±۰/۰۹	۱/۰۲±۰/۰۲	TAC (میکرومول بر لیتر)

* اعداد به صورت میانگین ± خطای استاندارد ($\bar{X} \pm SEM$) گزارش شده‌اند. آُسطح معنی‌دار از نظر آماری $P < 0.05$ می‌باشد.

جدول ۲- توزیع فراوانی و درصد افراد در دو گروه مورد بررسی بر حسب نمایه‌ی توده‌ی بدن

شاهد (تعداد=۴۸)		کبد چرب غیرالکلی (تعداد=۵۰)		گروه‌ها
درصد	تعداد	درصد	تعداد	طبقه‌بندی نمایه‌ی توده‌ی بدن (کیلوگرم بر مجدور متر)
۳۱/۳	۱۵	۶	۳	نرمال (۱۸/۵-۲۴/۹)
۲۷/۵	۱۸	۳۰	۱۵	اضافه وزن (۲۵-۲۹/۹)
۲۷/۵	۱۲	۴۲	۲۱	چاقی درجه I (۳۰-۳۴/۹)
۶/۳	۳	۱۸	۹	چاقی درجه II (۳۵-۳۹/۹)
.	.	۴	۲	چاقی درجه III (≥ 40)

جدول ۳- توزیع فراوانی و درصد شدت استئاتوز بر اساس یافته‌های سونوگرافی به تفکیک جنس در گروه NAFLD

مرد (تعداد=۲۸)		زن (تعداد=۲۲)		شدت استئاتوز
درصد	تعداد	درصد	تعداد	
۳۴/۷	۱۷	۳۸/۸	۱۹	I درجه
۲۲/۴	۱۱	۶/۱	۳	II درجه

کبد چرب غیرالکلی در افراد چاق با استفاده از داده‌های به دست آمده از اتوپسی 6 برابر از افراد لاغر بیشتر بود.^{۲۰} در پژوهش حاضر نیز همسو با دیگر بررسی‌های انجام شده، 30% از مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی دچار اضافه وزن، 64% از آنان مبتلا به چاقی و فقط 6% از این افراد دارای وزن طبیعی بودند، در صورتی‌که در گروه شاهد $37/5\%$ در محدوده اضافه وزن، $31/3\%$ از افراد، مبتلا به چاقی و $31/2\%$ از آن‌ها نیز وزن طبیعی داشتند. سازوکار مطرح شده در زمینه ارتباط چاقی و کبد چرب غیرالکلی به رابطه‌ی این بیماری و مقاومت انسولینی ناشی از چاقی (که بر اثر دریافت کالری اضافی و محدودیت یا نبود فعالیت بدنی کافی ایجاد می‌شود)، اشاره کرده و آن را به عنوان رایج‌ترین عامل موثر در بیماری‌زایی کبد چرب غیرالکلی بیان کرده‌اند. انسولین هورمون آنتی‌لیپولیتیکی است که در حالت مقاومت انسولینی از راههای مختلفی در استئاتوز و تجمع چربی در کبد دخالت می‌کند:

- (۱) افزایش تولید اسیدهای چرب آزاد از گلوکزهایی که توسط آدیپوسیت‌های محیطی و میوسیت‌ها گرفته نشده‌اند و افزایش ورود آن‌ها به هپاتوسیت‌ها.
- (۲) کاهش بتا اکسیداسیون میتوکندریالی اسیدهای چرب (افزایش اسیدهای چرب آزاد سمی و سیتو توکسیک به ویژه دی کربوکسیلیک اسید)، و افزایش لیپولیز احشایی و برداشت کبدی اسیدهای چرب.
- (۳) آزاد سازی اسیدهای چرب از هپاتوسیت‌ها در افراد چاق حتی در حضور انسولین (این مسئله در افراد دارای اضافه وزن با مقاومت انسولینی نیز دیده می‌شود).^{۲۱}

در این پژوهش مالوندی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی با قابلیت حل‌شدن بالا در سرم که از مهم‌ترین شاخص‌های زیستی در این زمینه محسوب می‌شود، و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدانی (TAC) به عنوان برآوردی از ترکیب پتانسیلی آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در بدن، در بیماران کبد چرب غیرالکلی و افراد سالم اندازه‌گیری شدند. یافته‌های پژوهش حاضر نشان داد که سطح سرمی TAC در بیماران کبد چرب غیرالکلی به طور معنی‌داری از افراد سالم پایین‌تر بود و با وجود بالاتر بودن سطح سرمی MDA در این افراد نسبت به گروه شاهد، اختلاف معنی‌داری در مورد این شاخص بین دو گروه وجود نداشت.

سطح سرمی ALP اختلاف معنی‌داری در دو گروه نداشت ($P<0.11$). میانگین و خطای استاندارد پروفایل لیپیدی در دو گروه مورد بررسی نیز اختلاف معنی‌داری را نشان نداد.

با توجه به جدول 1 ، میانگین و خطای استاندارد سطح MDA در گروه کبد چرب غیرالکلی از شاهد بالاتر بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P=0.1$). میانگین و خطای استاندارد سطح سرمی TAC در گروه NAFLD میانگین سرمی این اختلاف معنی‌داری بود. پایین‌تر بودن میانگین سرمی این سطح در مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی نسبت به افراد شاخص در مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی نسبت به افراد سالم اختلاف معنی‌داری داشت ($P=0.02$). در هر دو گروه موربد بررسی ارتباط معنی‌داری بین سطح سرمی MDA و TAC با آنزیمهای کبدی وجود نداشت. همچنین، بین BMI با سطح MDA و TAC در گروه بیماران و شاهد ارتباطی مشاهده نشد.

بحث

یکی از عوامل خطرساز اصلی همراه با بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)، چاقی و اضافه وزن است، بررسی‌ها نشان داده‌اند که شدت چاقی، فاکتور پیش‌گویی‌کننده‌ی بیماری کبدی پیشرفت‌ه در بیماران با کبد چرب الکلی و به خصوص کبد چرب غیر الکلی است.^{۲۲} بر اساس داده‌های به دست آمده از این پژوهش، میانگین دو شاخص وزن و BMI به طور معنی‌داری در بیماران کبد چرب غیرالکلی از افراد سالم بیشتر بود ($P<0.001$).

در پژوهشی که توسط بهرامی و همکاران^{۲۳} روی بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی صورت گرفت، 52% بیماران دارای اضافه وزن ($BMI \leq 29/9$) و $31/9\%$ چاق ($BMI \geq 30$) بودند. این پژوهشگران نمایه‌ی توده‌ی بدن، به عنوان یک شاخص مهم برای استئاتوز کبدی مطرح کردند. در پژوهش پورشمیس و همکاران^{۲۴} نیز، 98% از بیماران استئاتوهپاتیت غیر الکلی (NASH) با توجه به شاخص نمایه‌ی توده‌ی بدن، اضافه وزن داشته و $56/5\%$ از آن‌ها چاق بودند. آلارد و همکاران^{۲۵} نیز نمایه‌ی توده‌ی بدن بالا، چاقی مرکزی و درصد چربی بیشتری را در مبتلایان به کبد چرب غیرالکلی گزارش نمودند. در یک سری بررسی‌های موردي، به طور تقریبی 40% از مبتلایان به NASH یا کبد چرب غیرالکلی دچار اضافه وزن یا چاقی بودند.^{۲۶,۲۷,۲۸,۲۹} به طور کلی شیوع

مطالعه‌ی یاد شده علت بالاتر بودن سطح TAC پلاسما در بیماران کبد چرب غیرالکلی را چنین توجیه نمودند:

- (۱) پژوهش‌ها نشان داده‌اند که اسیداوریک، آسکوربات، پروتئین‌های پلاسما و پروتئین‌های تیولی می‌توانند در اندازه‌گیری TAC تداخل کنند، زیرا خود آن‌ها در جریان سوخت و ساز، آنتی‌اسیدان تولید می‌کنند، بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی نیز سطح اسید اوریک بیشتری را (به عنوان جزیی از سندروم متابولیک) دارند و از آنجایی که ۶۵٪ فعالیت TAC پلاسما به اسید اوریک بستگی دارد، یک علت احتمالی بالاتر بودن سطح TAC، می‌تواند به دلیل بالا بودن اسیداوریک افراد باشد.

(۲) تنظیم افزایشی دفاع آنتی‌اسیدانی کبد در مدل‌های حیوانی NASH، حاکی از اثر تطبیقی دفاع آنتی‌اسیدانی بدن در برابر استرس اسیداتیو می‌باشد.

در پژوهش کنونی، افزایش جزیی مقدار MDA در بیماران کبد چرب غیرالکلی به احتمال زیاد به این دلیل است که بیشتر بیماران مورد بررسی در درجه I بیماری بودند و یافته‌ها برای شدت استئاتوز بیماران فقط بر پایه‌ی داده‌های به دست آمده از سونوگرافی کبد صورت گرفت و تشخیص میزان فعالیت نکروز التهابی، یا فیبروز با بیوپسی کبدی انجام نشد، از طرفی این پژوهش و سایر بررسی نشان داده‌اند که در بیماران مبتلا به کبد چرب غیرالکلی کاهش ظرفیت کل آنتی‌اسیدانی در جبران استرس اسیداتیو ایجاد شده ناتوان می‌باشد. احتمال زیادی وجود دارد پراکسیداسیون لیپیدی الفا شده توسط استئاتوز و استرس اسیداتیو، آنزیمهای ویتامین‌های آنتی‌اسیدان را مصرف کرده، در نتیجه کاهش سطح ظرفیت تام آنتی‌اسیدانی ناشی از آن، می‌تواند هپاتوسیت‌ها را به استرس اسیداتیو مستعد و این سیکل معیوب را تشید کند. از این رو می‌توان گفت که ارایه‌ی آکاهی‌های تغذیه‌ای لازم در زمینه‌ی کنترل اضافه وزن و چاقی در افراد سالم جامعه به منظور جلوگیری از ابتلا به کبد چرب غیرالکلی، ضروری می‌باشد، هم‌چنین در بیماران مبتلا برای جلوگیری از پیشرفت بیماری و تشخیص در مراحل اولیه، درمان آنتی‌اسیدانی مناسب و توصیه به افزایش مصرف منابع سرشار از آنتی‌اسیدان‌ها به صورت غذایی یا به صورت مکمل می‌تواند در جلوگیری از پیشرفت بیماری ارزشمند باشد.

سپاسگزاری: با تشکر از مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی تبریز به خاطر حمایت مالی از طرح و جناب

یافته‌های به دست آمده با یافته‌های پژوهش ویدل و همکاران^۱ که کاهش سطح TAC را به میزان ۰/۰۵٪ (P<۰/۰۵) در بیماران کبد چرب غیرالکلی و ۰/۰۵٪ (P<۰/۰۳) در بیماران استئاتوهپاتیت (NASH) گزارش کردند، همسو بود. در بررسی ویدل پیشرفت استئاتوز به استئاتوهپاتیت با کاهش بیشتر ظرفیت آنتی‌اسیدانی کبد همراه بود. به طور مشابهی اسربیکومور و همکاران^۲ نیز تنظیم کاهشی معنی‌داری در بیان ژن‌های کد کننده‌ی آنزیمهای آنتی‌اسیدان، در مبتلایان به سیروز ناشی از کبد چرب غیرالکلی را گزارش کردند. یافته‌های پژوهش یسیلو و همکاران^۳ در مردان مبتلا به کبد چرب غیرالکلی نیز بیانگر افزایش سطح سرمی MDA و کاهش سطح آنتی‌اسیدانی در بیماران نسبت به گروه شاهد بود. پژوهشگران یاد شده بر نقش افزایش BMI و مقاومت انسولینی در اختلالات استرس اسیداتیو، بر پایه‌ی مشاهده‌ی ارتباطهای منفی موجود بین سطح آنتی‌اسیدانی با سطح گلوكز پلاسما، انسولین، مقاومت انسولینی (HOMA-IR) و BMI تاکید داشتند. افزایش مقدارهای گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، نه تنها پراکسیداسیون لیپیدی را در غشا سلولی مورد هدف قرار می‌دهند، بلکه سبب تحریک مقاومت به انسولین در غشاها سلولی نیز می‌گردند. مقاومت انسولینی از راه تاثیر مستقیم سطح بالای انسولین در کاهش بتا اکسیداسیون میتوکندریایی اسیدهای چرب آزاد، تمایل به تجمع آن‌ها در کبد و در معرض آسیب اسیداتیو قرار دادن کبد، با تحریک پراکسیداز میکروزومی لیپیدی نقش دارد. یافته‌های مطالعه‌ی مالاگوارنزا و همکاران،^۴ در بیماران NAFLD، سطح پایین آنتی‌اسیدان را همراه با سطح افزایش یافته‌ی MDA نشان داد. سانیال و همکاران^۵ نیز یافته‌های مشابهی را در زمینه‌ی افزایش سطح کبدی ۴-HNE به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی گزارش کردند. در پژوهش لوگوریکو و همکاران^۶ نیز، افزایش شاخص‌های سرمی استرس اسیداتیو و اختلال وضعیت اسیداتیو در ۹۰٪ بیماران، افزایش سطح MDA در ۹۲٪ و ۴-HNE در ۹۸٪ گلبول‌های قرمز بیماران کبد چرب غیرالکلی همراه با کاهش ظرفیت آنتی‌اسیدانی پلاسما در مقایسه با افراد سالم همسان‌سازی شده از نظر سنی دیده شد.

بر خلاف یافته‌های پژوهش حاضر، در بررسی پرلماتر و همکاران،^۷ فعالیت آنزیمهای آنتی‌اسیدان کبد بیماران کبد چرب غیرالکلی به طور معنی‌داری از افراد شاهد بالاتر بود، که مشابه یافته‌های کاشال و همکاران^۸ می‌باشد. دو

آقای دکتر محمد حسین صومی ریاست آن مرکز که نهایت همکاری را در این پژوهش داشتند.

References

1. Ludwig J, Viggiano TR, McGill DB, Oh BJ. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. *Mayo Clin Proc* 1980; 55: 434-8.
2. Falck-Yetter Y, Younossi ZM, Marchesini G, McCullough AJ. Clinical features and natural history of nonalcoholic steatosis syndromes. *Semin Liver Dis* 2001; 21: 17-26.
3. Bacon BR, Farahvash MJ, Janney CG, Neuschwander-Tetri BA. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. *Gastroenterology* 1994; 107: 1103-9.
4. McCullough AJ. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 255-62.
5. Zetterman RK. Fatty liver in disease of the liver. eight edition. Lipincott Williams wilkins 1999; 68-75.
6. Bonkovsky HL. Optimal management of nonalcoholic fatty liver/steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2003; 36: 193-5.
7. Marchesini G, Briz M, Morselli-Labate AM, Bianchi G, Bugianesi E, McCullough AJ, et al. Association of nonalcoholic fatty liver disease with insulin resistance. *Am J Med* 1999; 107: 450-5.
8. Sies H. Oxidative stress: introductory remarks. *Oxidative stress*, edited by Sie H. New York: Academic 1985; p 1-8.
9. Videla LA, Rodrigo R, Orellana M, Fernandez V, Tapia G, Quinones L, et al. Oxidative stress-related parameters in the liver of non-alcoholic fatty liver disease patients. *Clin Sci (Lond)* 2004; 106: 261-8.
10. Madan K, Bhardwaj P, Thareja S, Gupta SD, Saraya A. Oxidant stress and antioxidant status among patients with nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 930-5.
11. Sanyal AJ, Campbell-Sargent C, Mirshahi F, Rizzo WB, Contos MJ, Sterling RK, et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Association of insulin resistance and mitochondrial abnormalities. *Gastroenterology* 2001; 120: 1183-92.
12. Bonnefont-Rousselot D, Razi V, Giral P, Charlottes F, Beucler I, Poynard T. Blood oxidative stress markers are unreliable markers of hepatic steatosis. *Aliment Phamcol Ther* 2005; 23: 91-8.
13. Toshimitsu K, Matsuura B, Ohkubo I, Niiya T, Furukawa S, Hiasa T, et al. Dietary habits and nutrient intake in non-alcoholic steatohepatitis. *Nutrition* 2007; 23: 46-52.
14. Bahrami H, Daryani NE, Mirmomen S, Kamangar F, Haghpanah B, Djalili M. Clinical and histological features of nonalcoholic steatohepatitis in Iranian patients. *BMC Gastroenterol* 2003; 3:27.
15. Pourshams A, Malekzadeh A, Monavvari A, Akbari MR, MohamadKhani A, Yarahmadi S, et al. Prevalence and etiology of persistently elevated alanine aminotransferase levels in healthy Iranian blood donors. *J Gastroenterol and Hepatol* 2005; 20: 229-33.
16. Allard JP, Aghdassi E, Mohammed S, Raman M, Avand G, Arendt BM, et al. Nutritional assessment and hepatic fatty acid composition in non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD):A cross-sectional study. *J Hepatol* 2008; 48: 300-7.
17. Powell EE, Cooksley WG, Hanson R, Searle J, Halliday JW, Powell LW. The natural history of nonalcoholic steatohepatitis: A follow-up study of forty-two patients follow for up to 21 years. *Hepatology* 1990; 11: 74-80.
18. McCullough AJ. update on nonalcoholic steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2002; 34: 255-62.
19. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: an autopsy study with an analysis of risk factors. *Hepatology* 1990; 12: 1106-10.
20. Demeo MT, Mobarhan S, Mikolaitis S, Kazi N. Three cases of comprehensive dietary therapy and pharmacotherapy of patient with complex obesity related disease. *Nutr Rev* 1997; 55: 297-302.
21. Patrick L. Nonalcoholic fatty liver disease: relationship to insulin sensitivity and oxidative stress. Treatment approaches using vitamin E, magnesium, and betaine. *Altern Med Rev* 2002; 7: 276-91.
22. Sreekumar R, Rosado B, Rasmussen D, Charlton M. Hepatic gene expression in histologically progressive nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2003; 38: 244-51.
23. Yesilova Z, Yaman H, Oketenli C, Ozcan A, Uygun A, Cakir E, et al. Systemic markers of lipid peroxidation and antioxidants in patients with nonalcoholic Fatty liver disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 850-5.
24. Malaguarnera L, Madeddu R, Palio E, Arena N, Malaguarnera M. Heme oxygenase-1 levels and oxid-ative stress-related parameters in nonalcoholic fatty liver disease patients. *J Hepatol* 2005; 42: 585-91.
25. Loguercio C, De Girolamo V, de Sio I, Tuccillo C, Ascione A, Baldi F. Non-alcoholic fatty liver disease in an area of southern Italy: main clinical, histological, and pathophysiological aspects. *J Hepatol* 2001; 35: 568-74.
26. Perlemuter G, Davit-Spraul A, Cosson C, Conti M, Bigorgne A, Paradis V, et al. Increase in liver antioxidant enzyme activities in non-alcoholic fatty liver disease. *Liver Int* 2005; 25: 946-53.

Original Article

Oxidative Stress-related Parameters and Antioxidant Status in Non-alcoholic Fatty Liver Disease Patients

Orangi E¹, Ostad Rahimi A², Mahdavi R², Somi M¹, Tarzemanji M³

¹Liver and Gastrointestinal Disease Research Center, ² Faculty of Health and Nutrition Faculty, ³Department of Radiology, Faculty of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, I.R. Iran

e-mail: ostadrahimia@tbzmed.ac.ir

Received: 24/04/2010 Accepted: 18/08/2010

Abstract

Introduction: Non-alcoholic fatty liver disease(NAFLD) is a denomination that encompasses clinical and pathological spectrums, ranging from simple steatosis to Non-alcoholic steatohepatitis (NASH), fibrosis and cirrhosis. Considering the importance of obesity as a risk factor of this disease and oxidative stress, as an effective factor in pathogenesis, coupled with inflammation and its progression to non-alcoholic steatohepatitis, this study was conducted to investigate the rate of overweight and obesity and oxidative stress status in patients with nonalcoholic fatty liver disease.

Materials and Methods: In this case-control study, 50 NAFLD patients and 48 healthy controls were enrolled. Anthropometric measurements were taken, according to standard protocol. Serum hepatic enzymes, lipid profile and total antioxidant capacity (TAC) were determined by the auto analyzer and Serum malondialdehyde (MDA) was measured by the feluorimetry method. Data was analyzed by SPSS (version 11.5), and statistical tests such as T-test and Chi-square were used. Correlations were performed using Pearson's correlation coefficient. **Results:** Mean BMI was significantly higher in NAFLD patients, compared to controls. There was no significant difference between the two groups in relation to mean serum levels of MDA ($p=0.1$). In contrast, the mean serum levels of TAC was significantly lower in patients than in controls ($p=0.02$). **Conclusion:** Based on this study, combating overweight and obesity seems to be a preventive strategy for healthy people, thereby forestalling the progression of this disease. Furthermore, considering the lower level of TAC in NAFLD patients, the use of antioxidant-rich foods and supplements can be therapeutically valuable.

Keywords: Non-alcoholic fatty liver (NAFLD), Obesity, Oxidative stress, Total antioxidant capacity, Malondialdehyde