پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال هجدهم، شماره ۶، پی در پی ۹۶، صفحات ۲۸۷ تا ۲۹۵
بهمن و اسفند ۱۳۹۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۸/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰

اثرات مکمل اسید لینولئیک مزدوج (CLA) بر تراکم مواد معدنی استخوان، متابولیسم استخوان و شاخص‌های التهابی در زنان یائسه: کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور

دکتر آزاده توکلی دارستانی[1]، دکتر رضا توکلی دارستانی[2]، دکتر فریده طاهباز[3]، دکتر فرهاد حسین‌پناه[4]، دکتر فریده نجفی[5]*

۱. دکتری تخصصی علوم تغذیه، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. دانشیار ارتوپدی، گروه ارتوپدی، بیمارستان امام حسین(ع)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳. گروه تغذیه انسانی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴. مرکز تحقیقات چاقی، پژوهشکده علوم غدد درون ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵. رزیدنت ارتوپدی، گروه ارتوپدی، بیمارستان امام حسین(ع)، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: مطالعات حیوانی و محیط کشت سلولی اثرات مثبت اسید لینولئیک مزدوج (CLA) را بر متابولیسم استخوان و کلسیم گزارش کرده‌اند، اما مطالعات انسانی موجود در این زمینه، بسیار اندک است. این مطالعه، به منظور تعیین اثر مکمل اسید لینولئیک مزدوج محتوی مخلوط مساوی از ایزومرهای متداول ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس و ۹- سیس، ۱۱- ترانس بر متابولیسم استخوان در زنان یائسه‌ی سالم، انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به روش کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور، کنترل شده با دارونما انجام گردید. ۷۶ زن یائسه‌ی سالم با میانگین سنی ۵۵/۱ سال به طور تصادفی در دو گروه دریافت‌کننده‌ی اسید لینولئیک مزدوج (مصرف روزانه ۴ گرم کپسول اسید لینولئیک مزدوج G80 حاوی نسبت مساوی از ایزومرهای متداول ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس محتوی ۳/۲ گرم CLA) و دارونما (روزانه ۴ گرم روغن آفتاب‌گردان غنی از اسید اولئیک) تقسیم شدند. نمونه‌های خون و ادرار (پس از ۱۴-۱۲ ساعت ناشتا بودن) در ابتدا و انتهای مطالعه (هفته‌ی دوازدهم) برای اندازه‌گیری نشانگرهای متابولیسم استخوان، میزان کلسیم ادراری و نشانگرهای التهابی (اینترلوکین۶ و TNF-α) جمع‌آوری شدند.

یافته‌ها: مصرف ۳/۲ گرم مکمل CLA به مدت ۱۲ هفته در زنان یائسه‌ی سالم، تأثیری بر سطح نشانگر بازجذب استخوان (C-تلوپپتید ادراری) و سطح سرمی دو نشانگر تشکیل استخوان (آلکالین فسفاتاز اختصاصی استخوان و استئوکلسین) و میزان هورمون پاراتورمون سرم (PTH)، کلسیم ادراری، کراتینین ادراری و نسبت کلسیم به کراتینین ادراری نداشت. میزان اینترلوکین-۶ سرم، پس از ۱۲ هفته مصرف مکمل، از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه که به روش دوسوکور و کنترل شده با دارونما صورت پذیرفت، مصرف ۳/۲ گرم از مخلوط مساوی ایزومرهای ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس اسید لینولئیک مزدوج، تأثیری بر نشانگرهای متابولیسم استخوان و کلسیم در زنان یائسه‌ی سالم، نداشت.

واژگان کلیدی: اسید لینولئیک مزدوج، زنان یائسه، مواد معدنی استخوان، اینترلوکین-۶

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Tavakoli Darestani A, Tavakoli Darestani R, Tahbaz F, Hosseinpanah F, Najafi F. Effect of dietary supplementation with conjugated linoleic acid on bone mineral density, bone metabolism markers and inflammatory markers in healthy post-menopausal women: a randomized double blind placebo controlled trial. Pejouhandeh 2014;18(6):287-295.

مقدمه

زنان به طور معمول یک سوم از زندگی خود را در دوران پس از یائسگی به سر می‌برند (۱). کاهش توده‌ی استخوان به ویژه در دهه‌ی اول بعد از یائسگی مشاهده می‌شود (۲). کمبود هورمون‌های تخمدان به ویژه استروژن، شایع‌ترین علت کاهش توده استخوان به دنبال یائسگی است که این عامل، زنان یائسه را بیشتر در معرض خطر پوکی استخوان قرار می‌دهد (۳). پوکی استخوان با کاهش توده استخوان و افزایش شکنندگی

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر رضا توکلی دارستانی؛ تهران، خیابان شهید مدنی، بیمارستان امام حسین(ع)، گروه ارتوپدی، تلفن همراه: ۰۹۱۲۳۰۵۵۵۸۲،
پست الکترونیک: tavakolireza@mihanmail.ir

استخوان منجر به شکستگی‌های استئوپروتیک، در افراد مسن به ویژه در زنان مسن می‌شود (۴).

امروزه جهت پیشگیری و درمان پوکی استخوان، از داروهای مهار کننده‌ی بازجذب استخوان و هورمون درمانی استفاده می‌شود (۵). اما به دلیل عواقب احتمالی استروژن درمانی همانند سرطان پستان و آدنوکارسینومای آندومتر، پذیرش این نوع درمان در بین زنان بسیار کم بوده و تنها ۳ تا ۸ درصد زنان یائسه، حاضر به انجام این نوع درمان می‌باشند (۶). پیشگیری از پوکی استخوان نسبت به درمان آن، آسان‌تر است. مدیریت تغذیه و اصلاح شیوه‌ی زندگی، برای به حداقل رساندن تحلیل توده‌ی استخوان و کاهش نیاز به دارو درمانی برای جلوگیری از پوکی استخوان به کار گرفته می‌شود. تأثیر مداخلات تغذیه‌ای برای تنظیم تراکم توده‌ی استخوان، به خوبی شناخته شده است (۷).

در طی چند سال گذشته به اثرات مفید اسید لینولئیک مزدوج (CLA) بر وضعیت سلامتی، توجه زیادی شده است (۸). از جمله می‌توان به عملکرد ضد چاقی در مدل‌های حیوانی (۱۱-۹) و انسانی (۱۷-۱۲) و اثرات ضد سرطان، ضد تومور (۲۱-۱۸) و کاهش خطر آترواسکلروز (۲۵-۲۲)، کاهش پرفشاری خون و کاهش عوامل خطر دیابت (۲۶ و ۲۷)، متابولیسم انرژی، اثرات مثبت بر عملکرد ایمنی (۲۸) و خواص ضد التهابی (۳۲-۲۹)، اشاره کرد. ویژگی‌های جدید اسید لینولئیک مزدوج، شامل افزایش عملکرد ایمنی و اثرات مثبت بر تشکیل استخوان در مدل‌های حیوانی است.

خواص مفید اسید لینولئیک مزدوج به تنهایی با رژیم غذایی تأمین نمی‌شود و نیاز به مکمل غذایی است. ۲۸ نوع ایزومر مختلف اسید لینولئیک مزدوج وجود دارد که غالب‌ترین فرم آن در غذا ۹- سیس، ۱۱- ترانس تحت عنوان رامنیک اسید (Rumenic Acid) نامیده می‌شود. این ایزومر، ۹۰ درصد اسید لینولئیک مزدوج دریافتی موجود در غذا را شامل می‌شود (۳۳). خواص سلامتی بخش اسید لینولئیک مزدوج، عمدتاً به دو نوع ایزومر ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس مرتبط است.

در مورد اینکه کدامیک از ایزومرهای اسید لینولئیک مزدوج در متابولیسم استخوان موثرترند، تناقض وجود دارد (۳۴). مشاهدات اخیر در حیوانات نشان می‌دهند که اسید لینولئیک مزدوج، تحلیل توده‌ی استخوان را با کاهش مقادیر پروستاگلاندین E2 در بافت استخوان به حداقل می‌رساند (۳۵ و ۳۶). پروستاگلاندین E2 از اسید آراشیدونیک توسط آنزیم سیکلواکسیژناز سنتز می‌شود و بر متابولیسم استخوان اثر می‌گذارد. مهار یا تحریک تشکیل و بازجذب استخوان، وابسته به غلظت پروستاگلاندین E2 در استخوان است. پروستاگلاندین E2 در مقادیر پایین، منجر به افزایش تولید فاکتور رشد مشابه انسولین (IGF) و تنظیم بیان پروتئین باند شونده به فاکتور رشد مشابه انسولین (IGFBP) و در نتیجه، تحریک تشکیل استخوان (۳۷ و ۳۸) و در مقادیر بالا، منجر به مهار سنتز کلاژن، کاهش mRNA در استخوان و مهار عملکرد استئوبلاست و در نتیجه کاهش تشکیل و تراکم توده‌ی استخوان می‌شود (۳۷).

از طرفی بالا رفتن سن و کاهش استروژن در زنان یائسه، با افزایش تولید پروستاگلاندین E2 و سیتوکین‌های التهابی از قبیل عامل نکروزی تومور-آلفا، اینترلوکین-۶ و اینترلوکین بتا ۱ توسط سلولهای ایمنی (۴۲-۳۹) و در نتیجه، افزایش فعالیت استئوکلاست‌ها و بدنبال آن افزایش باز جذب استخوان در دوره‌ی یائسگی، همراه است (۴۳). این سیتوکین‌ها منجر به افزایش بیان سیکلواکسیژناز ۲ در سلول‌های استئوبلاستیک شده و در نتیجه، تولید پروستاگلاندین E2 (فاکتور عمده‌ی استئوکلاستوژنز) افزایش می‌یابد (۴۴ و ۴۵). از طرف دیگر، اسید لینولئیک مزدوج، باعث افزایش جذب کلسیم می‌شود (۴۶ و ۴۷). در مطالعات گذشته، اثرات کاهشی اسید لینولئیک مزدوج بر فعالیت سیتوکین‌های التهابی، در مدل‌های حیوانی نشان داده شده است (۴۸).

بنابراین با توجه به مطالب بالا، شواهد موجود در مورد اثر اسید لینولئیک مزدوج (غذایی یا مکمل)، بر تراکم توده‌ی استخوان و متابولیسم آن در مدل‌های انسانی و حیوانی متناقض و در مواردی مبهم است و از طرف دیگر، بر اساس جستجوی صورت گرفته در این تحقیق، چون هنوز مطالعه‌ای به منظور ارزیابی این اثرات در زنان یائسه انجام نشده است، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثر مکمل اسید لینولئیک مزدوج محتوی مخلوط مساوی از ایزومرهای متداول ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس و ۹- سیس، ۱۱- ترانس بر تراکم مواد معدنی استخوان، متابولیسم آن و شاخص‌های التهابی در زنان یائسه‌ی سالم، انجام گردید.

مواد و روش‌ها

هفتاد و شش زن ۴۵ تا ۶۵ ساله که حداقل یک و حداکثر ۱۰ سال از زمان یائسگی آنها سپری شده بود و نمایه‌ی توده‌ی بدن در دامنه‌ی ۳۵-۲۰ kg/m^2 بود، وارد مطالعه شدند. تعداد نمونه بر اساس شاخص دزوکسی پیریدینولین ادراری با α=۰/۰۵ و β=۰/۲ و حجم نمونه‌ها با استناد به انحراف

معیارهای به دست آمده از مطالعات قبلی (۴۹) در هر گروه ۳۴ نفر برآورد گردید که با توجه به ریزش احتمالی نمونه‌ها، در هر گروه ۳۸ بیمار در نظر گرفته شد. معیارهای خروج از مطالعه شامل: ابتلا به پوکی استخوان شدید (t score کمتر از ۲/۵- برای لگن و ستون فقرات)، سابقه ابتلا به بیماری‌های استخوان، مصرف سیگار، الکل و مواد مخدر، ابتلا به شکستگی در سه ماه اخیر، ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی، کبدی، کلیوی، گوارشی، دیابت، هیپوتیروئیدیسم یا هیپرتیروئیدیسم، هورمون درمانی، مصرف مکمل‌های غذایی برای کاهش وزن، مکمل امگا ۳، داروهای افزایش‌دهنده‌ی ساخت استخوان، داروهای مهارکننده‌ی بازجذب استخوان، کورتیکواستروئیدها، داروهای ضد تشنج و داروهای کاهنده‌ی چربی و قند خون بود.

از تمامی بیماران رضایت‌نامه‌ی کتبی آگاهانه اخذ گردید. بیماران به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند: گروه اول، دریافت‌کننده‌ی مکمل CLA روزانه ۴ کپسول یک گرمی مجموعاً محتوی ۳/۲ گرم از مخلوط (۵۰/۵۰) دو ایزومر متداول ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس اسید لینولئیک مزدوج و گروه دوم دریافت‌کننده‌ی دارونما، روزانه ۴ کپسول یک گرمی محتوی مخلوط روغن آفتابگردان غنی از اسید اولئیک بودند. بیماران، مکمل و دارونما را به مدت ۱۲ هفته دریافت کردند. مکمل CLA مورد استفاده Clarinol G80 با روکش شفاف ژلاتینی حاوی ۸۰٪ CLA بود (شرکت هلندی Lipid Nutrition LodersCroklaan B.V.). به افراد آموزش داده شد ۳ کپسول را با هر کدام از وعده‌های غذایی و یک کپسول را قبل از خواب مصرف کنند.

میزان پذیرش مکمل از سوی بیماران از طریق تماس تلفنی هفتگی و نیز در هر بار ملاقات از طریق پرسش و شمارش کپسول‌های باقی‌مانده در بسته‌های تحویل داده شده، بررسی شد. در طی این تماس‌ها بروز مشکلات احتمالی مانند عدم تحمل مکمل و سایر ناراحتی‌ها، احتمال تغییر در مصرف مواد غذایی، ابتلا به یک بیماری جدید یا تغییر فعالیت بدنی، پیگیری شد و در صورت رخداد چنین شرایطی، بیمار مورد نظر، از مطالعه حذف می‌شد و یا نتایج مربوط به وی، در تجزیه و تحلیل نهایی مورد استفاده قرار نمی‌گرفت. در پایان هفته‌ی ششم و دوازدهم، با شمارش کپسول‌های باقی‌مانده، میزان رعایت بیماران از نظر مصرف کپسول‌ها، مورد ارزشیابی قرار گرفت.

میزان اینترلوکین-۶ سرم و TNF-α سرم به روش الایزای توسط کیت تحقیقاتی (کیت الایزای اینترلوکین-۶ انسانی و کیت الایزای TNF-α انسانی، شرکت Diaclon فرانسه) مورد سنجش قرار گرفت. حساسیت روش اندازه‌گیری، به ترتیب کمتر از ۲ و ۸ پیکوگرم در میلی‌لیتر بود. دقت درون آزمونی در سنجش مذکور بر اساس درصد ضریب تغییرات درون آزمونی، به ترتیب ۵/۳ و ۶/۱ بود.

میزان C- تلوپپتید در نمونه‌های ادرار به روش EIA و میزان آلکالین فسفاتاز اختصاصی استخوان سرم به روش ایمونو آنزیماتیک با استفاده از کیت تحقیقاتی شرکت IDS بولتون، انگلیس) انجام شد. حساسیت روش اندازه‌گیری، به ترتیب ۵۰ و ۰/۷ میکروگرم در لیتر بود. دقت درون آزمونی در سنجش مذکور بر اساس درصد ضریب تغییرات به ترتیب ۴/۹ و ۴/۱ بود.

میزان استئوکلسین سرم به روش الایزا، با استفاده از کیت الایزای استئوکلسین انسانی (شرکت IDS، بولتون، انگلیس)، مورد سنجش قرار گرفت. حساسیت روش اندازه‌گیری، ۰/۵ نانوگرم در میلی‌لیتر بود. دقت درون آزمونی در سنجش مذکور بر اساس درصد ضریب تغییرات، ۱/۷ بود.

میزان هورمون پاراتورمون سرم به روش الایزای، با استفاده از کیت تحقیقاتی (شرکت IDS، بولتون، انگلیس)، مورد سنجش قرار گرفت. دقت درون آزمونی در سنجش مذکور بر اساس درصد ضریب تغییرات، ۵/۵ بود. حساسیت روش مورد اندازه‌گیری، ۰/۰۶ پیکومول در لیتر بود.

کراتینین ادراری به روش رنگ‌سنجی شیمیایی (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفت. دقت درون آزمونی در سنجش مذکور بر اساس درصد ضریب تغییرات، ۲/۱ بود. حساسیت روش مورد اندازه‌گیری، ۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود. کلسیم ادراری به روش رنگ‌سنجی شیمیایی (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) مورد سنجش قرار گرفت. دقت درون آزمونی در سنجش مذکور بر اساس درصد ضریب تغییرات، ۲/۳ بود. حساسیت روش مورد اندازه‌گیری، ۰/۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود.

جهت مقایسه‌ی آماری، از آزمون‌های t و paired t استفاده گردید. سطح معنی‌داری، معادل ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نرم‌افزار آماری به کار گرفته شده جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، SPSS نگارش ۱۶ بود.

یافته‌ها

در ابتدا ۷۶ زن یائسه‌ی سالم در مطالعه شرکت کردند که ۳۸ نفر در گروه دارونما و ۳۸ نفر دیگر در گروه دریافت‌کننده مکمل قرار گرفتند. ۴ نفر در گروه مکمل (۲ نفر به علت

سردرد و ۲ نفر به دلیل عوارض گوارشی نفخ و یا دل درد) و ۵ نفر در گروه دارونما (۴ نفر به علل عوارض گوارشی همانند دل درد و نفخ و ۱ نفر به دلیل مسافرت) از مطالعه خارج شدند. بنابراین ۶۷ زن یائسه‌ی سالم تا پایان، در این بررسی شرکت کردند. میزان پذیرش کپسول‌ها بر پایه‌ی شمارش آنها در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل CLA، ۸۵ درصد و در گروه دارونما ۷۵ درصد محاسبه گردید. بیماران دو گروه از نظر سن، مدت زمان سپری شده از یائسگی، وزن، قد، نمایه‌ی توده‌ی بدن، دور کمر، فعالیت فیزیکی، فشار خون سیستولیک و فشار خون دیاستولیک همسان بودند (جدول ۱).

جدول ۱. مشخصات پایه زنان یائسه شرکت‌کننده در مطالعه، در دو گروه دارونما و دریافت‌کننده‌ی مکمل اسید لینولئیک مزدوج*.

متغیرها	گروه دارونما (n=۳۸)	گروه مکمل (n=۳۸)
سن (سال)	۵۴/۹±۶/۹	۵۵/۱±۶/۴
مدت زمان سپری شده از یائسگی (سال)**	۶±۳	۷±۲
وزن (کیلوگرم)	۶۷/۳±۸/۹	۶۸/۲±۱۰/۲
قد (سانتی‌متر)	۱۵۹/۱۵±۵	۱۵۹±۵/۴
نمایه‌ی توده بدن (کیلوگرم بر مترمربع)	۲۷±۳/۴	۲۷/۶±۳/۴
دور کمر (سانتی‌متر)	۹۴/۸±۸/۶	۹۵/۶±۷/۵
فعالیت فیزیکی (معادل متابولیک-ساعت در هفته)	۳/۹±۱/۹	۴/۲±۱/۲
فشار خون سیستولیک (میلی‌متر جیوه)	۱۲۹/۱±۲۳/۱	۱۲۸/۳±۱۹/۱
فشار خون دیاستولیک (میلی‌متر جیوه)	۷۸/۱±۷/۳	۷۷/۱±۲/۱

*تفاوت آماری معنی‌داری از نظر شاخص‌های یاد شده بین دو گروه در زمان پایه وجود نداشت. **بیش از ۱۲ ماه آمنوره.

تغییرات مربوط به تراکم مواد معدنی استخوان و محتوی مواد معدنی استخوان بین دو گروه، معنی‌دار نبود (جدول ۲). مقدار عامل نکروزی تومور آلفا پس از ۱۲ هفته مصرف مکمل CLA، به میزان ۱/۹۷ پیکوگرم بر میلی‌لیتر کاهش یافت (P<۰/۰۱). اما میزان تغییرات اینترلوکین-۶ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۳).

جدول ۲. مقادیر تراکم مواد معدنی استخوان در ابتدا و پس از۱۲ هفته و تغییرات آنها در دو گروه زنان یائسه*.

ترکیب بدن	دارونما (n=۳۳)			مکمل CLA (n=۳۴)		
	شروع مطالعه	هفته دوازدهم	تغییرات	شروع مطالعه	هفته دوازدهم	تغییرات
محتوی مواد معدنی استخوان (گرم)	۱۹۹۷/۳±۲۶۴	۱۹۶۷/۲±۲۵۱	۱۰/۱±۱۱	۱۹۴۲/۸۵±۲۹۴	۱۹۳۶±۲۷۸	۶/۸±۷
تراکم مواد معدنی استخوان(گرم بر سانتی‌مترمربع)	۱/۱±۰/۰۹	۱/۱±۰/۰۹	۰±۰	۱/۰۸±۰/۰۹	۱/۰۹±۰/۰۹	۰±۰

*جهت مقایسه‌ی تغییرات در داخل گروه، از آزمون Paired t-test استفاده شد. اعداد در شروع و هفته‌ی دوازدهم به صورت mean±SD بیان شده‌اند. اعداد تغییرات به صورت mean±SEM بیان شده‌اند. اختلاف در هیچ موردی معنی‌دار نبود.

جدول ۳. مقادیر شاخص‌های التهابی سرم در ابتدا و پس از ۱۲ هفته و تغییرات آن در دو گروه زنان یائسه*.

شاخص‌های التهابی	دارونما (n=۳۳)			مکمل CLA (n=۳۴)			P-value
	شروع مطالعه	هفته دوازدهم	تغییرات	شروع مطالعه	هفته دوازدهم	تغییرات	
عامل نکروزی تومور آلفا (pg/ml)	۷/۸±۳/۹	۸/۷±۳/۴	-۰/۷±۰/۲۶	۶/۸±۳/۷	۴/۷±۲/۲	۱/۹۷±۰/۳۵*	P<۰/۰۱
اینترلوکین-۶ (pg/ml)	۰/۹۵±۰/۸	۱/۱۲±۰/۷	-۰/۲±۰/۱	۱/۱۱±۰/۷	۱/۰۳±۰/۶	۰/۰۹±۰/۰۹	P<۰/۰۷

*جهت مقایسه‌ی تغییرات در داخل گروه، از آزمون Paired t-test استفاده شد. اعداد در شروع و هفته‌ی دوازدهم، به صورت mean±SD بیان شده‌اند. اعداد تغییرات، به صورت mean±SEM بیان شده‌اند.

تغییرات استئوکلسین سرم، آلکالین فسفاتاز استخوان سرم، پاراتورمون سرم، C- تلوپپتید ادراری، کلسیم، کراتینین ادراری و نسبت کلسیم به کراتینین پس از ۱۲ هفته مصرف مکمل CLA، از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۴).

جدول ۴. مقادیر شاخص‌های متابولیسم استخوان در سرم و ادرار در ابتدا و پس از ۱۲ هفته و تغییرات آن در دو گروه زنان یائسه*.

شاخص‌های متابولیسم استخوان	دارونما (n=۳۳)			مکمل CLA (n=۳۴)		
	شروع مطالعه	هفته دوازدهم	تغییرات	شروع مطالعه	هفته دوازدهم	تغییرات
استئوکلسین (ng/ml)	۱۶±۷/۹	۱۸/۷۵±۸/۳	-۳±۱/۱	۱۵± ۷/۲	۱۵/۷±۶/۵	-۰/۷±۰/۶۹
آلکالین فسفاتاز استخوان (µg/l)	۱۹/۵±۸	۱۸/۶±۶/۱	۰/۷۴±۲/۱	۱۸/۷±۶	۱۸/۲±۷/۵	-۰/۵±۰/۲
پاراتورمون (pmol/l)	۲/۳±۱/۹	۲/۹±۱/۲	-۰/۲۶±۰/۲	۲/۷±۱/۶	۳/۲±۱/۸	-۰/۴۸±۰/۲
کراتینین ادراری (mmol/l)	۱۲/۳±۵/۱	۱۲/۹±۵/۱	-۰/۶±۱/۱	۱۲/۲±۶	۱۴/۴±۳/۳	-۱/۷±۱/۱
کلسیم ادراری (mmol/l)	۴/۲±۱/۲	۳/۷±۰/۹	۰/۴۹±۰/۲	۳/۸±۱/۰۷	۳/۴±۰/۸۴	۰/۳±۰/۱
کلسیم/کراتینین	۰/۳۹±۰/۰۳	۰/۳۵±۰/۰۴	۰/۰۳±۰/۰۳	۰/۳۵±۰/۰۲	۰/۲۵±۰/۰۱	۰/۰۹±۰/۰۲
CTP ادراری (µg/l)	۲۹۰۳/۵±۱۸۱۹	۳۴۰۲/۴±۲۰۴۱	-۵۰۴/۸±۲۵۷	۲۷۰۲±۱۳۵۳	۳۳۳۹±۱۶۳۹	-۶۵۶±۲۲۲
CTP/Cr (µg/mmol)	۲۳۶/۱±۱۰۶	۲۶۶±۲۰۸/۹	-۳۴/۶±۳۳/۵	۲۵۰/۵±۱۲۸/۹	۲۳۴/۱±۱۱۶/۷	۱۱/۷±۲۲/۹

*جهت مقایسه‌ی تغییرات در داخل گروه، از آزمون Paired t-test استفاده شد. اعداد در شروع و هفته‌ی دوازدهم، به صورت mean±SD و اعداد تغییرات به صورت mean±SEM بیان شده‌اند. اختلاف آماری در هیچ موردی معنی‌دار نبود.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر، مصرف ۳/۲ گرم مکمل CLA با نسبت مساوی از دو ایزومر ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس، به مدت ۱۲ هفته در زنان یائسه‌ی سالم، تأثیری بر تراکم مواد معدنی، محتوی مواد معدنی استخوان، سطح نشانگر بازجذب استخوان (C- تلوپپتید ادراری)، دو نشانگر تشکیل بافت استخوان (آلکالین فسفاتاز اختصاصی استخوان و استئوکلسین)، میزان هورمون پاراتورمون (PTH) و کلسیم ادراری نداشت.

مشاهده‌ی پوکی استخوان در حیوانات مبتلا به کمبود اسید چرب ضروری و عوارض جانبی برخی از درمان‌های پوکی استخوان از جمله سرطان رحم، پستان و تخمدان استفاده از CLA را به عنوان مداخله‌ی غذایی برای پیشگیری و یا درمان استئوپروز پیشنهاد می‌کند. اثرات CLA بر خاکستر بدن یا توده‌ی استخوان، متناقض است. در برخی مطالعات حیوانی که به بررسی اثر CLA بر ترکیب بدن پرداخته‌اند، افزایش خاکستر بدن، مشاهده شد. اما در بیشتر مطالعات حیوانی CLA تأثیری بر وزن خاکستر، تراکم مواد معدنی استخوان، محتوی مواد معدنی استخوان، وزن خشک استخوان یا محتوی کلسیم، منیزیم یا فسفات نداشته است. مکمل CLA روی برخی از نشانگرهای تشکیل استخوان از قبیل آلکالین فسفاتاز استخوان و پروستاگلاندین E_2 اثرات مثبت (۵۲-۵۰) و بر سایر نشانگرها از قبیل استئوکلسین و فاکتور رشد مشابه انسولین، فاقد تأثیر یا دارای اثرات منفی می‌باشد (۴۷ و ۵۳). اثرات CLA بر بازجذب استخوان نیز متناقض است (۴۷).

در مطالعه‌ی انجام شده توسط Gaullier و همکارانش، مصرف یک سال مکمل CLA محتوی نسبت مساوی از ایزومرهای ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس و ۹- سیس، ۱۱- ترانس به میزان ۳/۶-۳/۴ گرم به فرم تری‌گلسیرید توسط افراد بالغ سالم مبتلا به اضافه وزن، تأثیری بر تراکم مواد معدنی استخوان نداشت، در صورتی که ایزومرهای CLA به فرم اسیدهای چرب آزاد منجر به کاهش تراکم مواد معدنی استخوان در طی ۱۲ ماه مطالعه شد (۵۴). در مطالعه‌ی اخیر، طول مدت مطالعه به ۱۲ هفته افزایش یافت و از مکمل CLA به فرم تری‌گلیسرید استفاده شد. گروه هدف، زنان یائسه انتخاب شدند، زیرا به علت کاهش استروژن در این افراد، میزان بازجذب استخوان بالا می‌باشد. همچنین، میزان شاخص‌های التهابی از قبیل اینترلوکین-۶ و عامل نکروزی تومورآلفا اندازه‌گیری شدند، تا بدین ترتیب فرضیه‌ی " کاهش استروژن منجر به افزایش سیتوکین‌های التهابی و به دنبال آن افزایش فعالیت استئوکلاست‌ها می‌شود"، مورد ارزیابی قرار گیرد. ولی در نهایت، نتایج این مطالعه، عدم تأثیر مکمل CLA بر نشانگرهای متابولیسم استخوان، تراکم مواد معدنی و محتوی مواد معدنی استخوان را نشان داد.

در مطالعه‌ی حاضر، مکمل CLA، تأثیری بر کلسیم ادراری زنان یائسه‌ی شرکت‌کننده در این مطالعه نداشت. تنها مطالعه‌ی انسانی که به بررسی اثر مکمل CLA بر کلسیم سرم و ادراری پرداخته است، مطالعه‌ی Doyle و همکارانش در سال ۲۰۰۵ می‌باشد که نتایج آن مشابه مطالعه‌ی اخیر می‌باشد. در مطالعه‌ی Kelly و همکارانش، جذب روده‌ای کلسیم در موش‌های آزمایشگاهی جوان با مصرف مکمل CLA همراه با رژیم غذایی غنی از اسید چرب PUFA نوع n-3، به طور معنی‌داری افزایش یافت. در صورتی که چنین

اثری در رژیم غنی از اسید چرب PUFA نوع n-6 مشاهده نشد (۴۶). اثرات CLA بر استخوان، وابسته به مقادیر اسید چرب PUFA در رژیم می‌باشد. هر دو نوع اسید چرب n-3 و n-6 بر تشکیل سیتوکین و پروستاگلاندین‌ها، در نتیجه‌ی متابولیسم استخوان، تأثیر می‌گذارند. CLA، مهارکننده‌ی رقابتی با اسید چرب PUFA نوع n-6 بوده و مانع از طویل شدن آن و کاهش سوبسترای قابل دسترس برای آنزیم سیکلواکسیژناز و به دنبال آن کاهش تولید پروستاگلاندین E_2 می‌شود. در مطالعه‌ی حاضر، میزان دریافت اسید چرب PUFA نوع n-6 در مقایسه با n-3 بسیار بالا بود. عدم تأثیر CLA بر نشانگرهای متابولیسم استخوان و کلسیم ادراری با وجود کاهش عامل نکروزی تومورآلفای سرم، ممکن است به علت اثر مهاری مقادیر بالای اسید چرب PUFA نوع n-6 باشد.

باید به اثرات خاص هر کدام از ایزومرهای CLA، توجه داشت، به طوری که فقدان تأثیر CLA بر استخوان، ممکن است به نوع ایزومر یا درصدهای متفاوت استفاده شده از دو ایزومر متداول CLA (۱۰- ترانس، ۱۲- سیس و ۹- سیس، ۱۱- ترانس) مرتبط باشد. در مطالعه‌ی Park و همکارانش، ایزومر ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس CLA، منجر به افزایش خاکستر بدن موش‌ها شد، در صورتی که ایزومر ۹- سیس، ۱۱- ترانس بی‌تأثیر بود (۱۰). در مجموع، می‌توان نتیجه گرفت که ایزومر ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس بر متابولیسم استخوان مؤثر است. البته، ایزومر غالب در رژیم غذایی، ۹- سیس، ۱۱- ترانس می‌باشد که ۹۰ درصد ایزومر موجود در منابع غذایی (لبنیات و گوشت‌ها) را شامل می‌شود.

از علل دیگر عدم تأثیر CLA بر نشانگرهای تشکیل استخوان (استئوکلسین و آلکالین فسفاتاز اختصاصی استخوان)، کوتاه بودن زمان مطالعه (۱۲هفته) می‌باشد. زمان پایش مجدد نشانگرهای تشکیل استخوان، ۶ ماه و در مورد نشانگرهای بازجذب استخوان، ۳ تا ۶ ماه بعد از مداخله، پیشنهاد می‌گردد (۵۵).

بر پایه‌ی شواهد مستقیم و غیر مستقیم در دسترس در خصوص اثرات احتمالی CLA بر متابولیسم استخوان، می‌توان به موارد زیر اشاره داشت: ۱) کاهش تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی از قبیل TNF-α، اینترلوکین-۱ و اینترلوکین-۶ و به دنبال آن کاهش پروستاگلاندین E_2 و در نتیجه، کاهش استئوکلاستوژنز، ۲) تنظیم لپتین و به دنبال آن کاهش بازجذب و افزایش تشکیل استخوان، ۳) تعدیل و تنظیم میزان انسولین سرم، ۴) کاهش میزان پاراتورمون سرم و به دنبال آن کاهش فعالیت استئوکلاست.

پوکی استخوان با کاهش پیشرفته‌ی توده‌ی استخوان به علت افزایش فعالیت استئوکلاستیک استخوان در مقایسه با فعالیت استئوبلاستیک آن، اتفاق می‌افتد. از طرفی، فرآیند پیری با افزایش سیتوکین‌های پیش التهابی از قبیل TNF-α، اینترلوکین-۱، اینترلوکین-۶ و اینترلوکین بتا ۱ همراه است. این سیتوکین‌ها به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی فعالیت استئوکلاستیک و افزایش بازجذب استخوان شناخته شده‌اند. این سیتوکین‌ها، منجر به افزایش بیان سیکلواکسیژناز ۲ در سلول‌های استروما و استئوبلاستیک و افزایش تولید پروستاگلاندین E_2 به عنوان فاکتور ضروری در استئوکلاستوژنز می‌شوند (۵۳). در مطالعه‌ی حاضر، پس از ۱۲ هفته مکمل یاری با CLA، میزان TNF-α به طور معنی‌داری کاهش یافت، اما تغییرات اینترلوکین-۶ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. در برخی از مطالعات، CLA منجر به کاهش مقادیر TNF-α شد (۸، ۴۸ و ۵۳). هر دو نوع ایزومر ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس، مقادیر TNF-α را در سلول‌های ماکروفاژ، اپیتلیال برونش و ائوزینوفیل، کاهش می‌دهند. البته ایزومر ۹- سیس، ۱۱- ترانس مقادیر TNF-α را به میزان بیشتری نسبت به ایزومر دیگر، کاهش می‌دهد (۸، ۲۹ و ۵۶). از طرف دیگر، برخی گزارشات حاکی از افزایش یا عدم تغییر TNF-α به دنبال مصرف CLA می‌باشند (۵۲). این ناهمسویی در نتایج گزارش شده، به تفاوت در نوع ایزومرها، درجه‌ی خلوص، مصرف نسبت‌های متفاوت از این دو ایزومر، طول مدت مطالعه و مدل‌های تجربی مورد مطالعه، وابسته است. اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (امگا ۳)، بر خلاف اسیدهای چرب غیر اشباع با چند پیوند دوگانه (امگا ۶)، قادر به کاهش تولید سیتوکین‌های التهابی از قبیل TNF-α، اینترلوکین‌های ۱، ۶، ۸ ، ۱۰ و ایکوزانوئیدها (پروستاگلاندین‌ها و لوکوترین‌ها) و افزایش نیتریک اکسید هستند (۸ و ۵۳). اثرات CLA بر این سیتوکین‌ها، مشابه اثر اسید چرب امگا ۳ است. بنابراین، فرضیه‌ی "CLA می‌تواند در مقادیر مناسب اثرات ضد التهابی داشته باشد"، شکل می‌گیرد (۵۳).

فرضیه‌ی دیگر در رابطه با CLA این است که پروستاگلاندین E_2 در ترشح پاراتورمون و متابولیسم استخوان نقش دارد. یکی از عوارض کمبود استروژن پس از یائسگی، تعادل منفی کلسیم است که منجر به هیپرپاراتیروئیدیسم ثانویه می‌گردد که به نوبه‌ی خود، سبب افزایش بازجذب استخوان می‌شود. در مطالعه‌ی انجام شده روی موش‌های

آزمایشگاهی مبتلا به کلیه پلی‌کیستیک، تغذیه با CLA به مدت ۸ هفته، در مقایسه با رژیم شاهد، منجر به کاهش ۶۰ درصدی پاراتورمون و کاهش ترشح پروستاگلاندین E_2 از کلیه‌ی موش‌های آزمایشگاهی مبتلا شد (۵۷). اگر CLA بیوسنتز پروستاگلاندین E2 را در بافت پاراتیروئید کاهش دهد، احتمال کاهش ترشح پاراتورمون وجود دارد. البته برای اثبات این فرضیه، به انجام مطالعات حیوانی و انسانی بیشتری نیاز است. در مطالعه‌ی حاضر، مکمل CLA در مقایسه با دارونما، تاثیری بر ترشح پاراتومون در زنان یائسه نداشت.

از جمله محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر، عدم اندازه‌گیری مقادیر اسید لینولئیک مزدوج مصرفی در سرم افراد شرکت‌کننده بود که به نوعی، میزان پذیرش بیماران را به طور دقیق‌تری نشان می‌دهد. تعداد کپسول‌های مصرفی در این مطالعه، به علت درجه‌ی خلوص نسبتا پایین CLA (در حدود ۸۰ درصد)، بالا بود. پیشنهاد می‌شود با استفاده از مکمل‌های با درجه خلوص بالاتر، از تعداد کپسول‌های مصرفی کاسته شود تا میزان پذیرش افراد افزایش و عوارض گوارشی آنها، کاهش یابد. بر پایه‌ی شمارش کپسول‌ها، میزان پذیرش کپسول‌ها در گروه دارونما، ۷۵ درصد و در گروه دریافت‌کننده‌ی مکمل، ۸۵ درصد بود.

نتیجه‌گیری

به طور کلی می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مصرف ۳/۲ گرم مکمل CLA با نسبت مساوی از دو ایزومر ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس به مدت ۱۲ هفته در زنان یائسه‌ی سالم، منجر به کاهش سطح عامل نکروزی تومور آلفای سرم شد، ولی تأثیری بر تراکم مواد معدنی، محتوی مواد معدنی استخوان، سطح نشانگر بازجذب استخوان (C-تلوپپتید ادراری) و سطح سرمی دو نشانگر تشکیل استخوان (آلکالین فسفاتاز اختصاصی استخوان و استئوکلسین)، میزان پاراتورمون سرم، کلسیم ادراری و اینترلوکین-۶ سرم نداشت.

در مجموع، از علل عدم تأثیر CLA بر نشانگرهای متابولیسم استخوان و کلسیم ادراری در مطالعه‌ی حاضر، می‌توان به دوز مکمل CLA استفاده شده، کوتاه بودن زمان مطالعه و اثر مهاری احتمالی مقادیر بالای اسید چرب PUFA نوع n-6 در مقایسه با اسید چرب PUFA نوع n-3، اشاره کرد.

از جمله مزایای این مطالعه، گروه هدف زنان یائسه بود که مطالعات بسیار اندکی در رابطه با این گروه موجود است. پیشنهاد می‌شود که مطالعه در مورد نشانگرهای بازگردش استخوان در زنان یائسه در چند سال اول بعد از یائسگی که میزان بازگردش استخوان بالاست، انجام گیرد.

به طور خلاصه، نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که مصرف ۳/۲ گرم مکمل CLA محتوی مساوی از ایزومرهای ۹- سیس، ۱۱- ترانس و ۱۰- ترانس، ۱۲- سیس با مارک ClarinolTM برای استفاده به مدت ۳ ماه در این گروه خاص از افراد، ایمن است.

REFERENCES

1. Barret CE. Epidemiology and the menopause: A global overview. Int J Fertil 1993;38:6–14.

2. NIH Concensus Statement, Osteoporosis prevention, diagnosis, and therapy. National Institutes of Health Concensus Development Conference Statement. 2000;17(2):1–36.

3. Dempster DW, Lindsay R. Pathogenesis of osteoporosis. Lancet 1996;341:797–801.

4. May H, Murphy S, Khaw KT. Age-associated bone loss in men and women and its relationship to weight. Age Aging 1994;23:235– 40.

5. Scharbo DM. Hormone replacement therapy. Nurse Pract 1999;21:1–13.

6. Groeneveld FP, Bareman FP. Determinants of first prescription of hormone replacement therapy. A follow up study among 1689 women aged 45–60 years. Maturitas 1994;20:81–9.

7. Tucker KL, Chen H, Hannan MT. Bone mineral density and dietary patterns in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. Am J Clin Nutr 2002;76:245–52.

8. Bhattacharya A, Banu J, Rahman M, Causey J, Fernandes G. Biological effects of conjugated linoleic acids in health and disease. J Nutr Biochem 2006;17:789–810.

9. Park Y, Albright KJ, Liu W, Storkson JM, Cook ME, Pariza MW. Effect of conjugated linoleic acid on body composition in mice. Lipids 1997;32:853–8.

10. Park Y, Storkson JM, Albright KJ, Liu W, Pariza MW. Evidence that the trans-10, cis-12 isomer of conjugated linoleic acid induces body composition changes in mice. Lipids 1999;34:235–41.

11. Chung S, Brown JM, Sandberg MB, McIntosh M. Trans-10, cis-12 CLA increases adipocyte lipolysis and alters lipid droplet-associated proteins: role of mTOR and ERK signaling. J Lipid Res 2005;46:885–95.

12. Larsen TM, Toubro S, Astrup A. Efficacy and safety of dietary supplements containing CLA for the treatment of obesity: evidence from animal and human studies. J Lipid Res 2003;44:2234–41.

13. Steck SE, Chaleck AM, Miller P, Conway J, Austin GL, Hardin JW, et al. Conjugated linoleic acid supplementation for twelve weeks increase lean body mass in obese humans. J Nutr 2007;137:1188–93.

14. Gaullier JM, Halse J, Heivik HO, Heye K, Syvertsen C. Six month's supplementation with conjugated linoleic acid induces regional-specific fat mass decrease in overweight and obese. Br J Nutr 2007;97:550–60.

15. Laso N, Bruque E, Vidal J, Ros E, Arnaiz JA. Effects of milk supplementation with conjugated linoleic acid (isomers cis-9, trans-11 and trans-10, cis-12) on body composition and metabolic syndrome components. Br J Nutr 2007;98:860–7.

16. Malpuech-Brugère C, Verboeket-van de Venne WP, Mensink RP, Arnal MA, Morio B, Brandolini M. Effects of two conjugated linoleic acid isomers on body fat mass in overweight humans. Obes Res 2004;12:591– 8.

17. Blankson H, Stakkestad JA, Fagertun H, Thom E, Wadstein J, Gudmundsen O. Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. J Nutr 2000;130:2943–8.

18. Liew C, Schut HA, Chin SF, Pariza MW, Dashwood RH. Protection of conjugated linoleic acids against 2-amino-3-methylimidazo [4, 5-f] quinoline-induced colon carcinogenesis in the F344 rat: a study of inhibitory mechanisms. Carcinogenesis 1995;16:3037–43.

19. Belury MA. Inhibition of carcinogenesis by conjugated linoleic acid: potential mechanisms of action. J Nutr 2002; 132:2995–8.

20. Belury MA, Nickel KP, Bird CE, Wu Y. Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumor promotion. Nutr Cancer 1996;26:149–57.

21. Ip C, Banni S, Angioni E. Conjugated linoleic acid-enriched butter fat alters mammary gland morphogenesis and reduces cancer risk in rats. J Nutr 1999;129:2135–42.

22. Lee KN, Kritchevsky D, Pariza MW. Conjugated linoleic acid and atherosclerosis in rabbits. Atherosclerosis 1994; 108:19– 25.

23. Nicolosi RJ, Rogers EJ, Kritchevsky D, Scimeca JA, Huth PJ. Dietary conjugated linoleic acid reduces plasma lipoproteins and early aortic atherosclerosis in hyper cholesterolemic hamsters. Artery 1997;22:266–77.

24. Kritchevsky D, Tepper SA, Wright S, Tso P, Czarnecki SK. Influence of conjugated linoleic acid (CLA) on establishment and progression of atherosclerosis in rabbits. J Am Coll Nutr 2000;19:472S–7S.

25. Koba K, Akahoshi A, Yamasaki M. Dietary conjugated linoleic acid in relation to CLA differently modifies body fat mass and serum and liver lipid levels in rats. Lipids 2002;37:343–50.

26. Ryder JW, Portocarrero CP, Song XM. Isomer-specific anti diabetic properties of conjugated linoleic acid. Improved glucose tolerance, skeletal muscle insulin action, and UCP-2 gene expression. Diabetes 2001;50:1149–57.

27. Houseknecht KL, VandenHeuvel JP, Moya-Camarena SY. Dietary conjugated linoleic acid normalizes impaired glucose tolerance in the Zucker diabetic fatty fa/fa rat. Biochem Biophys Res Commun 1998;244:678–82.

28. Nugent AP, Roche HM, Noone EJ, Long A, Kelleher DK, Grbney MJ. The effect of conjugated linoleic acid supplementation on immune function in healthy volunteers. Eur J Clin Nutr 2005;59:742–50.

29. Yang M, Cook ME. Dietary conjugated linoleic acid decreased cachexia, macrophage tumor necrosis factor-alpha production, and modifies splenocyte cytokines production. Exp Biol Med (Maywood) 2003;228:51–8.

30. Yu Y, Correll PH, VandenHeuvel JP. Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism. Biochim Biophys Acta 2002;1581:89–99.

31. Iwakiri Y, Sampson DA, Allen KG. Suppression of cyclooxygenase-2 and inducible nitric oxide synthase expression by conjugated linoleic acid in marine macrophages. Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids 2002; 67:435–43.

32. Miller CC, Park Y, Pariza MW, Cook ME. Feeding conjugated linoleic acid to animals partially overcomes catabolic responses due to endotoxin injection. Biochem Biophys Res Commun 1994;198:1107–12.

33. Fritsche JRR, Steinhart H. Formation, contents, and estimation of daily intake of conjugated linoleic acid isomers and trans-fatty acids in foods. Adv Conjugated Linoleic Acid Res 1999;1:378–96.

34. Platt I, Rao LG, EL-Sohemy A. Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid on mineralized bone nodule formation from human osteoblast-like cells. Exp Biol Med 2007;232:246–52.

35. Watkins BA, Shen CL, McMurtry JP, Xu H, Bain SD, Allen KG, et al. Dietary lipids modulate bone prostaglandin E2 production, insulin-like growth factor-1 concentrations and formation rate in chicks. J Nutr 1997;127:1084–91.

36. Watkins BA, Seifert MF. Conjugated linoleic acid and bone biology. J Am Coll Nutr 2000;19:478S–86S.

37. Klein-Nulend J, Burger EH. Prostaglandins and bone. Euro Cal Tiss Soc. Available at http://www.ectsoc.org/ reviews/006_klei.htm; accessed on October 2008.

38. Albertazzi P, Coupland K. Polyunsaturated fatty acids. Is there a role in postmenopausal osteoporosis prevention? Maturitas 2002;42:13–22.

39. Ershler WB, Keller ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. Annu Rev Med 2000;51:245–70.

40. Bruunsgaard H, Pedersen M, Pedersen BK. Aging and pro inflammatory cytokines. Curr Opin Hematol 2001;8: 131– 6.

41. Ferrucci L, Corsi A, Lauretani F. The origins of age-related pro inflammatory state. Blood 2005;105:2294–9.

42. Morley JE, Baumgartner RN. Cytokine-related aging process. J Gerontol A Biol Sci Med Sci 2004;59:M924–9.

43. Goldring SR. Pathogenesis of bone and cartilage destruction in rheumatoid arthritis. Rheumatology (Oxford) 2003; 42(Suppl 2):ii11–6.

44. Troen BR. Molecular mechanisms underlying osteoclast formation and activation. Exp Gerontol 2003;38:605–14.

45. Suda K, Udagawa N, Sato N. Suppression of osteoprotegrin expression by prostaglandin E2 is crucially involved in lipopolysaccharide-induced osteoclast formation. J Immunol 2004;172:2504–10.

46. Okada Y, Lorenzo JA, Freeman AM. Prostaglandin G/H synthase-2 is required for maximal formation of osteoclast-like cells in culture. J Clin Invest 2000;105:823–32.

47. Kelly O, Cusack S, Jewell C, Cashman KD. The effect of polyunsaturated fatty acids, including conjugated linoleic acid, on calcium absorption and bone metabolism and composition in young growing rats. Br J Nutr 2003;90:743–50.

48. Rahman M, Bhattacharya A, Banu J, Fernandes G. Conjugated linoleic acid protects against age-associated bone loss in C57BL/6 female mice. J Nutr Biochem 2007;18:467–74.

49. Doyle L, Jewell C, Mullen A, Nugent AP, Roche HM, Cashman KD. Effect of dietary supplementation with conjugated linoleic acid on markers of calcium and bone metabolism in healthy adult men. Eur J Clin Nutr 2005;59: 432–40.

50. Cusack S, Jewell C, Cashman KD. The effect of conjugated linoleic acid on viability and metabolic activity of human SaOS2 osteoblastic cells. Proc Nutr Soc 2003;62:31A.

51. Burr LL, Taylor CG, Weiler HA. Dietary conjugated linoleic acid does not adversely affect bone mass in obese fa/fa or lean Zucker rats. Exp Biol Med 2006;231:1602–9.

52. Kelly O, Cashman KD. The effect of conjugated linoleic acid on calcium absorption and bone metabolism and composition in adult ovariectomised rats. Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids 2004;71:295–301.

53. Hur SJ, Park Y. Effect of conjugated linoleic acid on bone formation and rheumatoid arthritis. Eur J Pharmacol 2007;569:16–24.

54. Gaullier JM, Halse J, Hoye K. Conjugated linoleic acid supplementation for 1 year reduces body fat mass in healthy overweight humans. Am J Clin Nutr 2004;79:1118–25.

55. Garnero P, Delmas PD. Investigation of bone turnover. Harcourt Health Sci 2003:2043–57.

56. Park Y, Yang M, Storkson JM, Albright KJ, Liu W, Cook ME, et al. Effects of conjugated linoleic acid (CLA) isomers on serum tumor necrosis factor-α concentration in mice. J Food Biochem 2007;31:252–65.

57. Weiler H, Austin S, Fitzpatrick-Wong SH, Nitschmann E. Conjugated linoleic acid reduces parathyroid hormone in health and polycystic kidney disease in rats. Am J Clin Nutr 2004;79:1186S–9S.