فهرست

پیشگفتار ۷

فصل ۱: مقدمه ۹

فصل ۲: کاربرد ترنس کریپتومیکس در مطالعات انسانی نوتریژنومیکس ۱۵

فصل ۳: مداخله تغذیه‌ای با سیب در انسان با رویکرد متابولومیکسی ۲۳

فصل ۴: متابولومیکس در مطالعات تغذیه‌ای انسان ۳۳

فصل ۵: پروتئومیکس و مشکلات مرتبط با آن ۴۹

فصل ۶: آنالیز پروتئومیکس پلاسما، پلاکت و سلول‌های تک هسته‌ای خون محیطی در مطالعات مداخله تغذیه .. ۵۹

فصل ۷: تحقیقات نوتریژنتیک انسانی: نقاط ضعف و قوت مطالعات ۶۹

فصل ۸: اپی ژنومیک تغذیه در مطالعات انسانی ۷۹

واژه‌نامه ۸۹

واژه‌یاب ۹۵

فصل ۱

مقدمه

مترجم: فهیمه مرتمی

اثرات مفید مواد مغذی و رژیم‌های غذایی در گذشته از طریق بررسی تعدادی از فاکتورهای فیزیولوژیک در انتهای مطالعات انجام می‌شد. تکنولوژی‌های omic نویدبخش این موضوع شدند که غذاها با چه مکانیسمی روی سلامت اثر می‌گذارند (۱). تکنولوژی‌های ترنسکریپتوم[1] می‌تواند برای اندازه‌گیری بیان RNA در طول ژنوم انسان مورد استفاده قرار گیرند، اگرچه ممکن است این روش‌ها به لحاظ تکنیکی خیلی پیشرفته نباشند. کاربرد پروتئومیکس[2]، ارزیابی فراوانی نسبی هزاران پروتئین در سلول و بافت‌ها است. متابولومیکس[3] از روشهای آزمایشگاهی استفاده می‌کند تا غلظت بسیاری از ملکول‌های کم وزن و کوچک را در مایعات بدن اندازه بگیرد. در تحقیقات تغذیه‌ای، این ابزارها می‌توانند اطلاعاتی را در مورد مکانیسم‌های زیر ساختی، فواید و یا اثرات نامطلوب هر ترکیب به طور مجزا و یا در قالب کل رژیم، فراهم کنند. به علاوه تکنولوژی‌های omic برای شناسایی ژن‌های مهم، پروتئین‌ها و متابولیت‌هایی که در مرحله‌ی پیش از بیماری تغییر کرده اند، استفاده می‌شوند. بنابراین این تکنیک‌ها می‌توانند جایگزین مناسبی برای بیومارکرهای مولکولی مرتبط با خطر بیماری‌ها باشند.

هدف از این تحقیقات تغذیه‌ای، توصیه‌های رژیمی فردی بر اساس ژنوتیپ فرد در کنار شناخت فنوتیپ و سایر فاکتورهای سبک زندگی مثل فعالیت فیزیکی است که در نهایت می‌تواند خطر بیماری‌های رایج و در حال گسترشی چون دیابت و قلبی- عروقی را در فرد کاهش دهد (۲).

این کتاب بر اساس کارگاه سازمان نوتریژنومیکس اروپا (NuGO, www. Nugo.org) تحت عنوان "طراحی مطالعات انسانی" که در آلمان طی سپتامبر ۲۰۰۸ برگزار شد، گردآوری شده است. هدف این کارگاه بررسی مثال‌هایی از مطالعات تغذیه‌ای انسانی موفق بود که از تکنیک‌های نوتریژنومیکس[4] استفاده کرده بودند. در این کارگاه اصلی‌ترین تکنیک‌های نوتریژنومیکس شامل ترنس کریپتومیکس[5]، پروتئومیکس، متابولومیکس، نوتریژنتیکس[6] و اپی‌ژنومیکس[7] ارائه شد.

نوتریژنومیکس هنوز علم جدیدی است و اغلب مطالعات آن به صورت آزمایشگاهی (In vitro) یا در مدل‌های حیوانی (In vivo) انجام شده است. تاکنون تعداد کمی مطالعه انسانی انجام شده است. بنابراین مدارک کافی برای پیشنهاد بهترین روش در استفاده از رویکردهای نوتریژنومیکس وجود ندارد. اگرچه نوتریژنومیکس تعدادی رویکرد نویدبخش پیشنهاد می‌کند، موانعی در اجرا و تفسیر چنین مطالعات انسانی وجود دارد که بار مضاعفی از پیچیدگی‌ها را به چالش‌های ذاتی انجام مداخلات تغذیه‌ای سنتی در افراد سالم و بیمار تحمیل می‌کند.

1. Transcriptome
2. Proteomics
3. Metabolomics
4. Nutrigenomics
5. Transcriptomics
6. nutrigenetics
7. Epigenomics

در این میان مهم‌ترین سوال در مورد حساسیت مطرح است (مثل توانایی تشخیص و کشف اثر مداخله‌ی تغذیه‌ای، چرا که اکثرا این مداخلات در مقایسه با مطالعات دارویی اثر کوچکتری دارند). به علاوه مطالعات نوتریژنومیکس در انسان‌ها با فاکتورهای مخدوشگر بالقوه‌ای چون جنسیت، ترکیب بدن، سن، وضعیت سلامت، سیگار کشیدن، مصرف داروها و مواد مخدر، استرس‌های روانی و جسمی و سایر رویکردهای سبک زندگی (فعالیت فیزیکی) سروکار دارد. اندازه‌گیری یا کنترل هر کدام از این فاکتورها مشکل است و ممکن است نتایج را مخدوش کند. بنابراین باید تا جای ممکن در مورد تمام این فاکتورها اطلاعات جمع‌آوری شود و پروتکل‌هایی به کار گرفته شود که اثر تغییرات رفتاری افراد طی مطالعه و متعاقبا مخدوش کردن نتایج مطالعه را به حداقل برساند.

در برخی مطالعات امکان استانداردسازی دریافت رژیمی وجود دارد اما در مطالعات طولانی مدت، چنین رویکردی عملی نیست و باید برای کاهش چنین تغییرات ناخواسته‌ای، روش‌های دیگری اتخاذ گردد.

در این مطالعات استاندارد بودن روند نمونه‌گیری نسبت به سایر مطالعات اهمیت بیشتری دارد. تغییرات روزانه می‌تواند منجر به تغییرات وسیعی در بدن شود که باید مورد ارزیابی قرار گیرد. به عنوان مثال جمع‌آوری نمونه‌های خون ناشتا به طور همزمان صورت گیرد. به طور کلی باید کنترل دقیقی روی اینکه نمونه‌ها چطور جمع‌آوری، پردازش و ذخیره شوند، صورت گیرد.

یکی از روش‌هایی که موجب کاهش تفاوتهای درون فردی می‌شود این است که از طراحی‌های متقاطع[1] استفاده کنیم. در این مطالعات هر فرد به عنوان کنترل خودش در نظر گرفته می‌شود یا از افراد داوطلب با همان ژنوتیپ یا فنوتیپ استفاده می‌شود. اما به علت تجربیات محدود مطالعات انسانی نوتریژنومیکس، شواهد اندکی وجود دارد که کدام پروتکل‌ها باید اتخاذ شود؟ به طور مثال چه زمانی نمونه‌ها باید بعد از غذا جمع‌آوری شوند تا تغییرات ترنس کریپتوم، پروتئوم یا متابولوم اندازه‌گیری شود؟

این موضوع بستگی به هدف مطالعه و ماده‌ی مغذی یا غیر مغذی تحت بررسی دارد زیرا کینتیک جذب، متابولیسم و دفع در افراد و ترکیبات زیست فعال مختلف غذایی، تفاوت دارد. به طور مشابه در مطالعات طولانی مدت، اینکه چه مدت مداخله باید طول بکشد تا بتوان تغییرات با ثباتی در ترنس کریپتوم، پروتئوم یا متابولوم به دست آورد؟ آیا باید نمونه‌ها در چند نقطه‌ی زمانی جمع‌آوری شوند؟ اگر این طور است چند نمونه و با چه فواصل زمانی باید جمع شود؟

در عمل، طراحی مطالعات انسانی نوتریژنومیکس توافقی است بین آنچه محقق انتظار دارد و آنچه به لحاظ مالی در تعداد کمی از افرادی که نوع و تعداد نمونه‌های جمع‌آوری شده آن‌ها به لحاظ اخلاقی هم کنترل شده، امکان‌پذیر است (زیرا اغلب تکنیک‌های نوتریژنومیکس گران هستند). تعداد نمونه‌های جمع‌آوری شده بستگی به حجم و پیچیدگی داده‌های تولید شده توسط نوتریژنومیکس دارد زیرا آنالیز داده‌ها مشکل و زمان بر است.

1. Cross- over

یکی از مهم‌ترین چالش‌های طراحی مطالعات انسانی نوتریژنومیکس، جمع‌آوری مایعات بدنی یا نمونه‌های بافتی مناسب است. به دلایل اخلاقی و عملی این مطالعات محدود به استفاده از خون (۳)، ادرار و بزاق هستند (۴). ترنس کریپتوم یا پروتئوم سلول‌های تک هسته‌ای محیطی خون (PBMC)[1] ممکن است در پاسخ به مداخله‌ی رژیمی تغییر کند اما از آنجایی که مشخص نیست آیا تغییرات متفاوت یا قابل مقایسه در سایر سلول‌ها یا بافت‌ها رخ داده یا خیر، این مطالعات در مورد تفسیر نتایج بر حسب اینکه بافت هدف کجا قرار دارد (به طور مثال کبد، مغز یا استخوان)، سوال ایجاد می‌کند. جایی که دسترسی به بافت هدف از طریق بیوپسی ممکن است، مطالعات نوتریژنومیکس می‌تواند از یک نمونه‌ی بسیار کوچک استفاده کند چرا که پس از کاربرد پروتئومیکس در بیوپسی موکوس کولورکتال (۵)، مطالعاتی در رابطه با تهاجمی بودن این روش و مشکلات اخلاقی به وجود آمد.

در این کتاب مهم‌ترین تکنیک‌های نوتریژنومیکس به کار رفته در مطالعات انسانی مرور و پیشنهادهایی برای بهترین انتخاب، داده می‌شود. این توصیه‌ها بیشتر از مسئله‌ی استفاده از تکنولوژی، روی طراحی تمرکز کرده است.

Lydia Afman و همکارانش ۲ مطالعه‌ی کوتاه مدت و بلند مدت تغذیه‌ای با هدف اندازه‌گیری تغییرات بیان ژن PBMC و بافت چربی بعد از ناشتایی و محدودیت دریافت انرژی انجام دادند (۶). Ivana Bobeldik فاکتورهای متفاوتی را که روی متابولوم‌های پلاسما و ادرار اثر گذارند را خلاصه می‌کند و توصیه‌هایی برای طراحی بهترین مطالعه پیشنهاد می‌کند. همانند تمام مطالعات omic، استفاده از اطلاعات ۲ یا چند مطالعه جداگانه ارزش افزوده دارد و Ivana همچنین در مورد مدیریت داده‌ها و آنالیز آن در شرایط ادغام داده‌ها از مطالعات مختلف، صحبت می‌کند. Lars Dragsted از متابولومیکس برای مطالعه‌ی اثرات مصرف سیب استفاده کرد و طراحی، روند نمونه‌گیری و آنالیزهای گروهشان را ارائه داد (۷). Lars همچنین تجربه‌ی خود را از پیدا کردن مارکرهای متابولومیکس برای مصرف سیب نیز توصیف کرد. چرا که توجه زیادی در استفاده از متابولومیکس‌ها به عنوان یک مقیاس عینی مواجهه‌های رژیمی معطوف شده است.

از آنجایی که پروتئین‌ها اثرگذارترین اجزا سلول‌ها هستند، پروتئومیکس می‌تواند چگونگی اثرات رژیم بر روندهای بیولوژیکی را نشان دهد و بیومارکرهای جدیدی برای سلامت کشف کند. Abigeal Polley و Baukje de Roose رویکردهای مختلف پردازش خون شامل حذف فراوان‌ترین پروتئین‌های پلاسما برای امکان بررسی پروتئین‌های مورد نظر، قبل آنالیز پروتئومیکس را بررسی کردند. آن‌ها همچنین رویکردهایی را برای جداسازی و اندازه‌گیری پروتئوم جمعیت‌های سلولی خاص مثل پلاکت در نظر گرفتند (۸). خلاصه نتایج مطالعه روی تنوع آنالیزی الکتروفورز 2-D، مقایسه بین ۴ لابراتوار بود و توسط Baukje de Roose ارائه شد در حالی که Polley استفاده از آنالیز پروتئوم را به وسیله‌ی الکتروفورز 2-D در نمونه‌های خون

1. peripheral blood mononuclear cell

بافت توصیف می‌کند. یکی از مهم‌ترین مسائل برای پروتئومیکس شناسایی محل اختصاصی پروتئین هاست زیرا ممکن است تحت تاثیر فاکتورهایی مثل تنوع ژنتیکی و یا تغییرات پس از ترجمه قرار گیرد و در نتیجه موجب تغییر نقطه ایزوالکتریک یک پروتئین شود.

Anne Minihane تجربه‌ی قابل توجهی در انجام مطالعات انسانی تغذیه‌ای دارد و در مورد ملاحظات مهم در طراحی این مطالعات از قبیل ژنوتیپ صحبت می‌کند (۹). نکته‌ی حیاتی شامل قدرت محاسبات، ملاحظات اخلاقی، همسان‌سازی گروه‌های ژنوتیپی و چگونگی جلوگیری از مخدوش گری است. مواجهه‌های رژیمی می‌تواند همچنین منجر به تغییرات شیمیایی ژن شود که می‌تواند قابل انتقال به نسل‌های بعد باشد، در حالی که توالی اولیه DNA را هم تغییر نمی‌دهد. چنین رخدادهای اپی‌ژنتیکی مثل متیلاسیون DNA و تغییرات کروماتین هستند. John Mathers تکنیک‌هایی را معرفی می‌کند که برای بررسی مارکرهای اپی‌ژنتیکی به کار می‌رود و همچنین در مورد چالش‌های استفاده از این رویکردها در مطالعات تغذیه‌ای انسانی بحث می‌کند (۱۰).

در کنار مسئله‌ی طراحی مطالعه، استفاده از رویکردهای نوتریژنتیک در مطالعات انسانی، ملاحظات اخلاقی دارد که در مقایسه با مطالعات مرسوم و سنتی تغذیه‌ای، پیچیدگی بیشتری دارد. قوانین اخلاقی عمومی و چهارچوب مطالعات انسانی نوتریژنومیک در راهنماهای NuGO موجود است که توسط Bergmann و همکارانش نوشته شده است (۱۱). راهنمای زیست اخلاقی NuGO شامل ۴ قسمت دارد: اطلاع رسانی و رضایت قبل مطالعه نوتریژنومیکس، استفاده از مطالعات ژنوتیپ، تامین و حفظ بانک زیستی و مبادله نمونه‌ها و داده‌ها.

از آنجایی که تمام قسمت‌های مطالعه، انسان‌ها را درگیر می‌کند، این راهنماها بر ۴ اصل اخلاقی استوار است؟ ۱. تصمیم توسط خود فرد ۲. سودرسانی ۳. ضرر نرساندن ۴. عدالت. در واقع تعادل بین سود و زیان نه فقط فرد بلکه کل گروه‌های جامعه را در نظر می‌گیرد.

برای مثال در تحقیقات نوتریژنومیک محققان و کمیته‌های اخلاقی باید ضررهای بالقوه ناشی از تخطی از محرمانه بودن یا بدنام کردن افراد یا گروه‌ها و همین طور فواید تحقیق روی اطلاعات ژنوتیپ را در نظر بگیرند. یک راه حل کاربردی این است که در ابتدا تضمین بدهید که اطلاعات ژنوتیپی برای سایر شرکت کننده‌ها و یا هیچ شخص سومی آشکار نخواهد شد. ادغام اطلاعات مطالعه برای آزمون فرضیه برای توان آماری بالاتر، نگرانی‌های اخلاقی به وجود می‌آورد که در مرکزیت آن، ماهیت رضایت‌نامه آگاهانه مورد استفاده، قبل از جمع‌آوری اطلاعات و نمونه قرار دارد. رضایت‌نامه‌ی کوتاه و مختصر ممکن است استفاده دوباره را محدود کند به خصوص در جایی که نمونه‌ها و داده‌ها حاوی اسامی اشخاص است. مشکل مشابه ممکن است زمانی به وجود آید که بخواهیم در مطالعات انسانی نوتریژنومیک از مواد بانک زیستی استفاده کنیم.

پیشرفت‌های زیادی در کاربرد تکنیک‌های نوتریژنومیک در مطالعات انسانی تغذیه‌ای صورت گرفته و مثال‌هایی از بهترین مطالعات ارائه شده است. اگر این تکنیک‌ها مورد استفاده قرار گیرند، موجب درک عمیق تری از چگونگی اثر رژیم‌های غذایی روی سلامت می‌شوند. بنابراین نیاز به بررسی‌های بیشتر سیستمیک روی مسئله‌ی طراحی در مطالعات انسانی نوتریژنومیک وجود دارد. این تکنیک‌ها بر مهم‌ترین چالش‌های سلامت عمومی مرتبط با رژیم در قرن ۲۱، چاقی و سالمندی سالم اثر دارند. نمونه‌های انسانی شامل پلاسما، پلاکت، PBMC، ادرار و بزاق در ابتدا و بعد ۳۶ ساعت گرسنگی جمع‌آوری شد و داده‌ها در حال حاضر با تکنیک‌های ترنس کریپتومیکس، پروتئومیکس و متابولومیکس در آزمایشگاه‌های مختلف اروپا آنالیز می‌شود. همکاری در این زمینه بسیار مهم است و ما نیاز داریم تا این راه را ادامه بدهیم تا بتوانیم اطلاعات و تجربیات را به اشتراک بگذاریم تا از این طریق مطالعات انسانی نوتریژنومیکس را در آینده ارتقا دهیم.