



Општи подаци и протокол истраживања

Назив пројекта: Евалуација ефеката различитих режима исхране на морфофункционалне карактеристике, маркере оксидативног стреса и инфламаторни одговор код пацијената са реуматоидним артритисом

Кључне речи: реуматоидни артритис, омега-3 масне киселине

САЖЕТАК

Реуматоидни артритис је хронично обољење где инфламација доводи до бола, отока и деформација најчешће зглобова шака и стопалка. Бројна истраживања су доказала да омега-3 масне киселине утичу на активност и симптоме реуматоидног артритиса укључујући болове и отоке зглобова и јутарњу укоченост.

Студија би обухватила 60 испитаника оболелих од реуматоидног артритиса. Прва група од двадесет пацијената би узимала свакодневно након оброка 2 гел капсуле Омега 3Кардио која у једној гел капсули садржи 1000мг концентрованог рибљег уља са 300мг докозахексаенске киселине (DHA), 200мг еикозапентаенске киселине (EPA), 100мг осталих омега-3 масних киселина у току 3 месеца уз своју редовну реуматолошку терапију, друга група од двадесет пацијената би узимала свакодневно након оброка 5 гел капсула Омега 3Кардио и трећа, контролна група од 20 пацијената би узимала само своју редовну реуматолошку терапију. Свим испитаницима била би узета анамнеза и урађен физикални преглед. Анализе крви би се узимале на почетку и након три месеца. У Централној лабораторији Клиничког Центра Крагујевац би одређивали Ц реактивни протеин, седиментацију еритроцита, комплетну крвну слику, липидограм, реуматоидни фактор, антитела на циклични цитрулисани пептид. У лабораторији Факултета медицинских наука би се одређивали параметри оксидационог стреса (супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатитон пероксидаза (GSHPx), супероксид анион радикал (O_2^-), водоник пероксид(H_2O_2), азот моноксид (NO), индекс липидне пероксидације(TBARS), масне киселине фосфолипида - арахидонска и еикосапентаноична киселина (AA, EPA) и цитокини (TNF-alfa, IL1,2,6,17). У Хематолошкој лабораторији КЦ Крагујевац ће се одређивати степен агрегације тромбоцита, хомоцистеин, фон Вилебрандов фактор.



Циљ ове студије би био да испита ефекат давања суплемената концентрованог рибљег уља са омега-3 масним киселинама на активност болести, на проинфламаторне медијаторе, на ниво оксидативног стреса и на ендотелну функцију пацијената са реуматоидним артритисом.

Пацијенти са реуматоидним артритисом који су узимали у периоду од 3 месеца суплементацију концентрованог рибљег уља са омега-3 масним киселинама би имали значајно смањење активности болести (смањење броја отечених и болних зглобова, краћа јутарња укоченост) у односу на групу пацијената који нису узимали суплементацију. Очекује се у групи испитаника који су узимали суплементацију смањење нивоа параметара оксидативног стреса и проинфламаторних цитокина.

УВОД

Реуматоидни артритис је хронично обољење где инфламација доводи до бола, отока и деформација најчешће зглобова шака и стопала. Процењује се да 1% светске популације болује од ове болести која утиче на квалитет живота таквих болесника.

Међу кључним медијаторима инфламације су еикосаноид Е2 и леукотриен Б4, који се стварају из n26 полинезасићених масних киселина (ПУФА) арахидонске киселине (AA;20:4n26)(1). Такође су значајни цитокини, интерлеукин 1 бета и фактор туморске некрозе алфа, који је доказано кључни елемент за патогенезу реуматоидног артритиса (2,3).

Омега-3 масне киселине су есенцијалне тј. тело их не може произвести него их мора добити из хране. Имају кључну улогу у нормалном расту и развоју, могу смањити ризик од срчаних болести и важне су за когнитивни развој и понашање. Најважније су докозахексаенске киселине (DHA) и еикозапентаенске киселине (EPA). EPA компетативно инхибира претварање арахидонске киселине у проинфламаторне еикосаноиде простагландин Е2 и леукотриен Б4. Што се тиче инфламаторних цитокина интерлеукина 1 и тумор некрозис фактора алфа, у студијама код здравих добровољаца и код оболелих од реуматоидног артритиса је доказано да се након сумплементације омега-3 масним киселинама концентрација смањивала до 90% (4, 5). Анмиинфламаторни ефекат омега-3 масних киселина је повезан са инхибицијом активности Т лимфоцита и инхибицијом катаболичких ензима (6).

Бројна истраживања су доказала да омега-3 масне киселине утичу на активност и симптоме реуматоидног артритиса укључујући болове и отоке зглобова и јутарњу укоченост (7-13). Студија која је пратила употребу нестероидних антиинфламаторних лекова код болесника са реуматоидним артритисом, који су 3 месеца били на



суплементацији омега-3 масним киселинама је показала потпуну или делимичну редукцију узимања нестероидних антиинфламаторних лекова након 3 месеца (14).

Суплементација рибљим уљем код болесника са реуматоидним артритисом је у студијама показала и значајно смањење обољевања од кардиоваскуларних болести (15).

ЦИЉЕВИ И ХИПОТЕЗЕ

У складу са горе наведеним циљ наше студије је био да се утврди како суплементација концентрованим рибљим уљем са омега-3 масним киселинама као додаток исхрани у различитим дозама утиче на активност болести, параметре оксидативног стреса, нивое проинфламаторних цитокина и ендотелну функцију код пацијената са реуматоидним артритисом.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

Реч је о интервентној, клиничкој, проспективној студији у трајању од 3 месеца. Прва група од двадесет пацијената би узимала свакодневно након оброка 2 гел капсуле Омега 3Кардио која у саставу једне гел капсуле садржи 1000мг концентрованог рибљег уља са 300мг докозахексаенске киселине (DHA), 200мг еикозапентаенске киселине (EPA), 100мг осталих омега-3 масних киселина (сажетак у прилогу) у току 3 месеца уз своју редовну реуматолошку терапију, друга група од двадесет пацијената би узимала свакодневно након оброка 5 гел капсула Омега 3Кардио и трећа контролна група од 20 пацијената би узимала само своју редовну реуматолошку терапију.

Испитаници морају да испуне следеће услове за улазак у студију: да су непушачи, да немају кардиоваскуларно обољење, шећерну болест, хиперлипидемију, хемофилију, поремећај коагулације, преосетљивост на неки од састојка сумплемената или било какав ранији податак о алергијама.

Свим испитаницима ће се узимати анамнеза и физикални преглед, као и мерење телесне тежине, висине у Дневној болници Одељења реуматологије Клиничког Центра Крагујевац.

Анализе крви би се узимале на почетку и након три месеца.

У Централној лабораторији Клиничког Центра Крагујевац би одређивали Ц реактивни протеин, седиментацију еритроцита, комплетну крвну слику, липидограм, реуматоидни фактор, антитела на циклични цитрулисани пептид.

У лабораторији Факултета медицинских наука би се одређивали параметри оксидационог стреса (супероксид дисмутаза (SOD), каталаза (CAT), глутатитон



пероксидаза (GSHPx), супероксид анион радикал (O_2^-), водоник пероксид (H_2O_2), азот моноксид (NO), индекс липидне пероксидације (TBARS), масне киселине фосфолипида- арахидонска и еикосапентаноична киселина (AA, EPA) и цитокини (TNF-alfa, IL1,2,6,17).

У Хематолошкој лабораторији КЦ Крагујевац ће се одређивати степен агрегације тромбоцита, хомоцистеин, фон Вилебрандов фактор.

При статистичкој обради резултата биће коришћен програм СПСС 10.0. Тестирање значајности разлике између група ће се обавити на основу коришћења Т теста за два независна узорка. Уколико се подаци буду дистрибуирали непараметријски, користиће се Вилкоксон-Ман Витни тест. Користиће се и други тестови у секундарној анализи као нпр. Хи квадрат тест за тестирање разлике категоријалних варијабли између група и корелациона анализа за тестирање повезаности појединих варијабли.

Прорачун величине узорка је извршен на основу резултата претходно објављене студије (7-11). Прорачун студијског узорка је заснован на подацима о вредностима примарног исхода, степена активности болести (ДАС 28) инструмента клиничке процене и очекиваног ефекта суплементације на активност болести. На основу раније студије је претпостављени скор ДАС 28 од 5.75 са око 20% стандардне девијације одн. 1.15 а очекивани ефекат суплементације је умерен, са активношћу ДАС 28 скором од 4.75 и стандардном девијацијом 0.95. При томе је коришћен компјутерски програм PC Sample Size и статистички тест за примарну варијаблу, за т-тест два независна узорка, са алфа грешком од 5% и снагом студије од 80%, алокацијом 1:1 је израчунат најмањи узорак од 18 испитаника по групи. Узорак је увећан за претпоставку непараметријске расподеле тако да је укупан студијски узорак утврђен на 50 испитаника, у једној груп 30 а у другој 20 испитаника.

Истраживање ће истовремено бити пријављено Етичком комитету КЦ Крагујевац.

А. Етички аспект

Студија ће се спроводити према принципима Добре клиничке праксе и Хелсиншке декларације (последње важеће верзије) и регулаторним прописима. При укључивању болесника у студију обезбедиће се одобрење надлежног Етичког комитета и добровољни пристанак испитаника уз пуну обавештеност.

Б. Истраживачи и организациони аспект

Главни истраживач клиничког дела студије ће бити лекар који ће бити одговоран за одабир испитаника и њихово праћење у складу са планом-протоколом испитивања и клиничком проценом. Остали истраживачи ће вршити и прикупљање свих потребних података у тест листе, обраду и анализу добијених резултата. Сви истраживачи ће дати писани пристанак за учешће у студији који подразумева и поштовање плана/протокола



испитивања и преузете обавезе посебно у делу етичких норми везаних за клиничка истраживања и одлуке Етичког комитета. Организациони аспект студије ће бити описан у посебним документима.

ОЧЕКИВАНИ РЕЗУЛТАТИ И ЗНАЧАЈ СТУДИЈЕ

Пацијенти са реуматоидним артритисом који су узимали у периоду од 3 месеца суплементацију концентрованог рибљег уља са 1200 мг омега-3 масним киселинама би имали значајно смањење активности болести (смањење броја отечених и болних зглобова, краћа јутарња укоченост) у односу на групу пацијената који су узимали суплементацију концентрованог рибљег уља са 3000 мг омега-3 масним киселинама и на групу пацијента који нису узимали суплементацију. Очекује се у групи испитаника који су узимали суплементацију смањење нивоа параметара оскидативног стреса и проинфламаторних цитокина. Резултати студије би требало да укажу на значај исхране богате високим дозама омега-3 масних киселина код пацијената са реуматоидним артритисом као додатак фармаколошком лечењу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Henderson B, Pettipher ER, Higgs GA. Mediators of rheumatoid arthritis. *Br Med Bull.* 1987 Apr;43(2):415-28.
2. Arend WP, Dayer JM. Inhibition of the production and effects of interleukin-1 and tumor necrosis factor alpha in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1995 Feb;38(2):151-60.
3. Elliott MJ, Maini RN, Feldmann M, Kalden JR, Antoni C, Smolen JS, Leeb B, Breedveld FC, Macfarlane JD, Bijl H, et al. Randomised double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumour necrosis factor alpha (cA2) versus placebo in rheumatoid arthritis. *Lancet.* 1994 Oct 22;344(8930):1105-10.
4. Caughey GE, Mantzioris E, Gibson RA, Cleland LG, James MJ. The effect on human tumor necrosis factor alpha and interleukin 1 beta production of diets enriched in n-3 fatty acids from vegetable oil or fish oil. *Am J Clin Nutr.* 1996 Jan;63(1):116-22.
5. Kremer JM, Lawrence DA, Jubiz W, et al. Dietary fish oil and olive oil supplementation in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1990;33:810-20.
6. Sales C, Oliviero F, Spinella P. Role of omega-3 polyunsaturated fatty acids on the diet of patients with rheumatic disease. *Reumatismo* 2008;60:95-101.
7. Kremer JM, Lawrence DA, Gayle FP et al. Effects of high dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Clinical and Immuno Correlates* 1995;38(8):1107-14.
8. Volker D, Fitzgerald P, major J. Efficacy of fish oil concentrate in the treatment of rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2000;27:2343-6.
9. Adam O, Beringer C, Kless T, Lemmen C, Adam A, Wiseman M, Adam P, Klimmek R, Forth W. Anti-inflammatory effects of a low arachidonic acid diet and fish oil in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2003 Jan;23(1):27-36.
10. Sundrarjun T, Komindr S, Archararit N, Dahlan W, Puchaiwatananon O, Angthararak S, Udomsuppayakul U, Chuncharunee S. Effects of n-3 fatty acids on serum



- interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and soluble tumour necrosis factor receptor p55 in active rheumatoid arthritis. *J Int Med Res.* 2004 Sep-Oct;32(5):443-54.
11. Yamanaka H, Tanaka Y, Inoue E, Hoshi D, Momohara S, Hanami K, Yunoue N, Saito K, Amano K, Kameda H, Takeuchi T. Efficacy and tolerability of tocilizumab in rheumatoid arthritis patients seen in daily clinical practice in Japan: results from a retrospective study (REACTION study). *Mod Rheumatol.* 2011 Apr;21(2):122-33.
 12. Efthimiou P, Kukar M. Complementary and alternative medicine use in rheumatoid arthritis: proposed mechanism of action and efficacy of commonly used modalities. *Rheumatol Int.* 2010 Mar;30(5):571-86.
 13. Proudman SM, James MJ, Spargo LD, Metcalf RG, Sullivan TR, Rischmueller M, Flabouris K, Wechalekar MD, Lee AT, Cleland LG. Fish oil in recent onset rheumatoid arthritis: a randomised, double-blind controlled trial within algorithm-based drug use. *Ann Rheum Dis.* 2013 Sep 30. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-204145
 14. Kremer JM, Lawrence DA, Pettilo GF, Litts LL, Mullaly PM, Rynes RI, Stocker RP, Parhami N, Greenstein NS, Fuchs BR, et al. Effects of high-dose fish oil on rheumatoid arthritis after stopping nonsteroidal antiinflammatory drugs. Clinical and immune correlates. *Arthritis Rheum.* 1995 Aug;38(8):1107-14.
 15. Cleland LG, Caughey GE, James MJ, Proudman SM. Reduction of cardiovascular risk factors with longterm fish oil treatment in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2006 Oct;33(10):1973-9.