Downloaded from hakim.hbi.ir at 2:39 IRDT on Friday March 22nd 2019

بررسی یک روش نمونه‌گیری بافت چربی انسانی و مطالعه ترکیب اسیدهای چرب آن

مریم دارابی‌امین[1*]، دکتر محسن فیروزرای[2]، دکتر فرانک قهرمان‌پور[2]

۱- گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان ۲- گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

دریافت: ۸۵/۶/۵ پذیرش: ۸۶/۱/۳۰

Title: *A method for sampling and study of adipose tissue fatty acid composition in man*

Authors: *Darabi Amin M, (MSc); Firoozrai M, (PhD); Ghahremanpour F, (PhD).*

Introduction: *Adipose tissue plays a central role in many aspects of lipid and carbohydrate metabolism. The fatty acid composition of human adipose tissue is also a useful biomarker of the long-term average dietary fat. Yet, there have been few biochemical studies of this tissue in man, since it requires surgical excision. The present report describes a simple and risk-free method for obtaining small samples of buttock fat for determination of fatty acid composition.*

Methods: *Aspiration was performed with a 20ml syringe and 19G needle. Adipose tissue samples were obtained from 67 healthy subjects aged 32-70. Adipose tissue fatty acids were determined by a temperature-programmed gas chromatography method.*

Results: *A typical pattern of adipose fatty acid composition in healthy adults was established. The procedure caused no more anxiety or discomfort than a routine venipuncture.*

Conclusion: *This method for sampling and determination of fatty acid composition is easy and rapid, and therefore allows application in epidemiological research on the metabolic and nutritional importance of fatty acids.*

Keywords: *Adipose tissue, fatty acids, sampling, gas chromatography.*

Hakim Research Journal 2007; 10(1):56 - 60.

* نویسنده مسؤول: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده داروسازی، گروه بیوشمی. تلفن: ۰۹۱۳ ۳۴۷ ۱۵۰۱ نمابر: ۶۶۸۰۰۱۱ – ۰۳۱۱
پست الکترونیک: mdarabiamin@hotmail.com

Downloaded from hakim.hbi.ir at 2:39 IRDT on Friday March 22nd 2019

چکیده

مقدمه: *بافت چربی در بسیاری از مراحل متابولیسم لیپید و کربوهیدرات نقش مرکزی دارد. همچنین ترکیب اسیدهای چرب بافت چربی یک نشانگر زیستی مناسب برای ارزیابی چربی مصرفی در یک دورهٔ طولانی مدت است. اما به‌دلیل لزوم انجام جراحی برای گرفتن نمونه بافت چربی مطالعات بیوشیمی کمی در مورد این بافت در انسان انجام شده است. این گزارش مربوط به یک روش ساده و بی‌خطر برای گرفتن مقادیر کم بافت چربی از ناحیه باسن و همچنین تعیین ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌ها با روش کروماتوگرافی گازی است.*

روش کار: *در این روش با استفاده از سرنگ ۲۰ml و سر سوزن ۱۹G، چربی زیر پوست آسپیره شد. از ٦٧ نفر فرد سالم با سن ۷۰-۳۲ سال نمونه‌گیری انجام شد. ترکیب اسیدهای چرب نمونه‌های بافت چربی که مجموعا ٢٤ اسید چرب بود با روش کروماتوگرافی گازی و با یک برنامه دمایی مناسب تعیین شد.*

یافته‌ها: *با این روش الگوی اسیدهای چرب بافت چربی در افراد مورد مطالعه تعیین شد. درد یا ناراحتی این روش نمونه‌گیری بافت چربی در افراد مورد مطالعه، بیشتر از نمونه‌گیری معمولی خون وریدی نبود.*

نتیجه‌گیری: *روش ارایه شده در این گزارش برای نمونه‌گیری و مطالعه ترکیب بافت چربی، ساده و سریع بوده و در بسیاری از مطالعات اپیدمیولوژیکی، جهت بررسی اهمیت تغذیه‌ای و متابولیکی اسیدهای چرب مفید است.*

گل‌واژگان: *بافت چربی، اسیدهای چرب، نمونه‌گیری، کروماتوگرافی گازی.*

مقدمه

بررسی پرسش‌نامه برنامه غذایی[1]، تعیین ترکیب بافت چربی و اندازه‌گیری غلظت خونی از جمله روش‌های تخمین مصرف اسیدهای چرب می‌باشد. از آنجایی که نیمه‌عمر ترکیب بافت چربی بدن حدود دو سال است (۱ و ۲) ترکیب این بافت معیار مناسبی برای ارزیابی رژیم غذایی یک دوره نسبتاً طولانی محسوب می‌شود (۳ و ۴). از طرف دیگر متابولیسم اسیدهای چرب و رژیم غذایی مصرفی فرد با ابتلا به بیماری‌های قلبی- عروقی، سرطان یا دیابت اصلاح و در نتیجه غلظت خونی اسیدهای چرب و همچنین نتایج حاصل از پرسش‌نامه برنامه غذایی تغییر می‌کند. بنابراین در مطالعات مورد- شاهدی مربوط به این بیماری‌ها، بررسی ترکیب بافت چربی ارزشمند است.

بر اساس مطالعات انجام شده به‌نظر می‌رسد که سطوح پایین اسید لینولئیک و سطوح بالای اسیدهای چرب ترانس بافت چربی زیر پوست با افزایش خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر در ارتباط است (۸ -۵). به‌علاوه بافت چربی به‌عنوان ذخیره بلندمدت انرژی در بسیاری از مراحل متابولیسم لیپید و کربوهیدرات نقش مرکزی دارد.

تهیه بیوپسی بافت چربی، اغلب مشکل و برای افراد مورد مطالعه ناراحت کننده است. در حال حاضر با پیشرفت کروماتوگرافی گاز- مایع[2]، جداسازی و تعیین مقدار اسیدهای چرب نمونه بافت چربی با مقادیر کمتر از یک میلی‌گرم امکان‌پذیر است (۹ و ۱۰). این گزارش مربوط به یک روش ساده و بدون خطر برای گرفتن مقادیر کم بافت چربی از ناحیه باسن و همچنین آنالیز آنها به روش کروماتوگرافی گازی می‌باشد. به‌علاوه در این بررسی، روش الگوی اسیدهای چرب بافت چربی در ۶۷ فرد سالم تعیین شد. از این روش می‌توان برای بررسی ترکیب اسیدهای چرب بافت چربی در مطالعات فراگیر آینده‌نگر یا مقایسه‌ای استفاده نمود.

روش کار

نمونه‌های بافت چربی با آسپیراسیون چربی زیرپوست از ناحیه بالای باسن سمت چپ گرفته شد. ترتیب انجام کار به شرح زیر بود:

- از افراد مورد مطالعه خواسته می‌شد به بغل روی صندلی بنشینند و لباس ناحیه کمر را کنار بزنند تا از بالای باسن نزدیک کمر نمونه چربی گرفته شود.

[1] Food Frequency Quesstionnaires (FFQ)

[2] Gas- Liquid Chromatography (GLC)

Downloaded from hakim.hbi.ir at 2:39 IRDT on Friday March 22nd 2019

– یک میلی‌لیتر سالین استریل به داخل سرنگ ۲۰ میلی‌لیتر با سرسوزن شماره Gauge ۱۹ کشیده می‌شد.

– ناحیه نمونه‌گیری با اتانول ۷۰٪ ضدعفونی می‌شد.

– ناحیه تزریق با یک دست مانند حالت Skin-Fold گرفته می‌شد (با انقباض ماهیچه‌های ناحیه ران توسط فرد مورد مطالعه، بافت چربی از بافت ماهیچه به راحتی قابل تشخیص می‌باشد).

– پس از وارد کردن سوزن با زاویه °۴۵ در بافت چربی سالین تزریق می‌شد. سپس قسمتی از سالین با کشیدن پیستون به عقب و ایجاد خلأ، آسپیره می‌شد. همراه سالین قطرات ریز چربی خارج می‌شد. تا بیرون آمدن کامل سوزن، پیستون سرنگ عقب نگه داشته می‌شد و ۲ تا ۳ بار به آرامی جهت سوزن تغییر داده می‌شد (۱۱).

– محتویات سرنگ به یک لوله شیشه‌ای حاوی ۸ میلی‌لیتر هگزان منتقل و لوله‌ها با درب‌های سرپیچ‌دار با پوششی از جنس تفلون محکم بسته می‌شد.

– نمونه‌های بافت چربی به فلاسک حاوی یخ انتقال می‌یافت و تا زمان استخراج در فریزر °C ۷۰- نگهداری می‌شد.

روش مورد استفاده به تأیید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی ایران رسیده بود و با کسب رضایت از افراد مورد مطالعه انجام شد. به این ترتیب از ۶۷ فرد (۴۵ مرد و ۲۲ زن) به ظاهر سالم که سابقه بیماری قلبی یا اختلالات غدد داخلی نداشتند نمونه بافت چربی گرفته شد. همچنین تکرارپذیری مراحل آزمایش با چند نوبت نمونه‌گیری از یک فرد بررسی شد. با توجه به این‌که از افراد مورد مطالعه علاوه بر بافت چربی نمونه خون وریدی نیز گرفته می‌شد، درد و ناراحتی این دو نوع نمونه‌گیری با سؤال از افراد شرکت‌کننده در مطالعه، مورد مقایسه قرار گرفت.

برای اندازه‌گیری به روش کروماتوگرافی گاز- مایع، اسیدهای چرب غیرفرار باید به استرهای متیله فرار تبدیل شوند. اسیدهای چرب نمونه بافت چربی با ترانس استریفیکاسیون مستقیم و به‌روش لپاژ و روی[1] (۱۲) به استرهای متیل اسید چرب تبدیل شدند. به این ترتیب که پس از تبخیر هگزان به نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر متانول- بنزن (۴:۱) حاوی استاندارد داخلی و سپس ۲۰۰ میکرولیتر استیل کلراید اضافه می‌شد. پس از حرارت دادن نمونه‌ها به‌مدت ۱۲۰ دقیقه در دمای °C۱۰۰، ۵ میلی‌لیتر پتاسیم کربنات ۶٪ اضافه می‌شد و پس از جدا کردن فاز رویی بنزن، یک میکرولیتر آن به دستگاه GLC تزریق می‌شد.

اولین نمونه در هر سری آماده‌سازی نمونه‌ها، یک بلانک آب مقطر بود. با تزریق بلانک نباید هیچ پیکی دیده می‌شد. در هر سری آماده‌سازی نمونه‌ها، یک نمونه بیوپسی بافت چربی (ساکشن شده از ناحیه شکم یک فرد سالم) نیز به عنوان نمونه کنترل، آنالیز می‌شد (۱۳).

اسیدهای چرب نمونه‌های بافت چربی با دستگاه کروماتوگرافی گازی STANG مدل ST200 مجهز به دتکتور یونیزاسیون شعله‌ای (FID) و ستون مویینه سیانوپروپیل با قطبیت بسیار بالا به‌طول ۱۲۰متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر (SGE,BPX70) جداسازی شدند. دمای هر دو Injector و دتکتور °C۲۵۰ بود. از نیتروژن به‌عنوان گاز حامل استفاده شد. فشار گاز حامل ۳۲psi، و سرعت جریان ستون ۲۰cm/s تنظیم شد، از یک برنامه دمایی استفاده شد، به این ترتیب که دمای آون از °C۱۴۰ شروع و با شیب دمایی °C۲/min به °C۲۱۰ می‌رسید و مدت کل کروماتوگرافی، ۷۰ دقیقه تعیین شد. پیک‌های مربوط به استر اسیدهای چرب با استانداردهای تهیه شده شناسایی شدند (۱۰). داده‌ها با نرم افزار SPSS پردازش و اطلاعات در جداول نمایش داده شدند.

نتایج

جهت تعیین الگوی اسیدهای چرب بافت چربی در افراد سالم، ۶۷ نفر فرد سالم با سن ۷۰-۳۲ سال انتخاب شدند همه افراد مورد مطالعه دارای رژیم غذایی معمولی بودند و هیچ سابقه‌ای از بیماری متابولیک یا قلبی نداشتند. توزیع فراوانی بر حسب جنس، میانگین سن و BMI افراد مورد مطالعه در جدول ۱ نمایش داده شده است.

جدول ۱- مشخصات عمومی افراد مورد مطالعه*

سن (سال)	۵۱/۹۱± ۷/۶۲
جنس، مرد (درصد)	۶۷/۲
نمایه توده وزنی(Kg/m^2)	۲۵/۴۶± ۳/۴۴
فشار خون بالا (درصد)	۹
مصرف سیگار (درصد)	۱۴/۹

*مقادیر کمی به‌صورت (انحراف معیار±میانگین) نمایش داده شده‌اند.

با این روش از هر فرد مورد مطالعه مقدار ۱۵ -۵ میلی‌گرم بافت چربی گرفته می‌شد و در صورت عدم موفقیت، این عمل به‌آسانی قابل تکرار بود. نمونه‌گیری از هر فرد حدود ۵ تا ۱۰ دقیقه طول می‌کشید.

[1] Lepage&Roy

Downloaded from hakim.hbi.ir at 2:39 IRDT on Friday March 22nd 2019

بر اساس پرسشی که در مورد مقایسه دو نوع نمونه‌گیری از افراد مورد مطالعه شد، از نظر ۶۳٪ افراد شرکت کننده درد یا ناراحتی این روش بیشتر از نمونه‌گیری خون وریدی نبود. هیچ‌گونه عفونت یا عارضه دیگری در مراجعات بعدی افراد مورد مطالعه مشاهده نشد.

با روش کروماتوگرافی گاز- مایع ۲۴ پیک اسید چرب شناسایی شد. ایزومرهای ترانس اسید پالمیتولئیک، اولئیک و اسید لینولئیک به‌خوبی از ایزومرهای سیس جدا شدند و به‌دلیل جدا نشدن کامل بعضی از ایزومرهای موقعیتی اسید اولئیک مقدار اسیدهای چرب 11t-18:1، 12t-18:1، 9t-18:1، 10t-18:1 مجموعاً و به‌عنوان یک متغیر آنالیز شد. به منظور بررسی تکرارپذیری روش نمونه‌گیری، از یک فرد در سه روز متوالی ۴ بار نمونه‌گیری بافت چربی انجام شد، سپس مراحل آماده‌سازی و اندازه‌گیری اسیدهای چرب با روش کروماتوگرافی در یک روز انجام شد (جدول ۲).

جدول ۲- تکرارپذیری اندازه‌گیری اسیدهای چرب در ۴ نوبت نمونه‌گیری از یک فرد سالم*

اسیدهای چرب	انحراف معیار±میانگین	ضریب تغییرات (%CV)
12:0	۰/۲۱±۰/۰۱۴	۶/۶۷
14:0	۲/۰۵۶±۰/۱۴۷	۷/۱۵
9c-14:1	۰/۳۰۱±۰/۰۲۳	۷/۶۴
15:0	۰/۳۱±۰/۰۲۱	۶/۷۷
16:0	۲۱/۱۱۸±۰/۴۳۳	۲/۰۵
9t-16:1	۰/۱۱۹±۰/۰۰۷	۵/۸۸
7c-16:1	۰/۵۸۸±۰/۰۳۶	۶/۱۲
9c-16:1	۴/۸۱۵±۰/۱۵	۳/۱۲
17:0	۰/۲۵۳±۰/۰۱۹	۷/۵۱
18:0	۲/۴۹۲±۰/۰۶۹	۲/۷۸
9t-18:1	۳/۲۵۸±۰/۰۶۲	۱/۹۰
9c-18:1	۳۵/۷۷۸±۰/۲۶۸	۰/۷۵
11c-18:1	۲/۵۰۲±۰/۱۲۹	۵/۱۶
12c-18:1	۰/۶۶۲±۰/۰۵۲	۷/۸۵
13c-18:1	۰/۳۲۸±۰/۰۱۷	۵/۱۸
15c-18:1+16c-18:1	۰/۴۶۲±۰/۰۲۹	۶/۲۸
9c,13t-18:2+8t,12c-18:2	۰/۵۲۲±۰/۰۳۶	۶/۸۹
9t,12c-18:2	۰/۹۷۷±۰/۰۷۵	۷/۶۸
9c,12c-18:2	۱۹/۴۴۲±۰/۳۶۹	۱/۸۹
9c,12c,15c-18:3	۱/۲۶۳±۰/۰۹۲	۷/۲۸
20:0,20:1,20:2,20:3,20:4	۲/۱۵۵±۰/۱۵۷	۷/۲۸

*مقادیر به‌صورت درصد اسیدهای چرب در کل اسیدهای چرب گزارش شده است.

c= پیوند دوگانه سیس، t= پیوند دوگانه ترانس

جدول ۳ میانگین درصد و انحراف معیار هر اسید چرب یا گروه اسیدهای چرب را در نمونه‌های بافت چربی افراد مورد مطالعه نشان می‌دهد.

بر اساس آزمون آماری تی[1] هیچ‌یک از اسیدهای چرب در بین زنان و مردان مورد مطالعه تفاوت معناداری نداشت، به‌عنوان مثال میانگین و انحراف معیار اسید اولئیک نمونه‌های بافت چربی مردان و زنان به‌ترتیب ۳۵/۱۲±۰/۳۹ و ۳۵/۹۲±۰/۱۷ بود (p= ۰/۱۷).

جدول ۳- درصد اسیدهای چرب بافت چربی در۶۷ فرد مورد مطالعه*

12:0	۰/۲۳۶±۰/۰۸۸
14:0	۲/۲۳۷±۰/۵۴۴
9c-14:1	۰/۶۶۶±۰/۲۶۱
15:0	۰/۳۸۲±۰/۱۲۶
16:0	۱۹/۸۹۲±۲/۲۱۱
9t-16:1	۰/۵۱۱±۰/۲۶۱
7c-16:1	۰/۶۳۷±۰/۲۱۰
9c-16:1	۶/۹۷۲±۱/۷۴۵
17:0	۰/۴۳۶±۰/۲۰۹
18:0	۲/۹۴۰±۰/۹۵۴
Total t-18:1	۶/۱۰۱±۱/۹۰۱
9c-18:1	۳۵/۳۶۹±۲/۲۳۸
11c-18:1	۲/۳۶۴±۰/۶۹۶
13c-18:1	۱/۳۳۴±۰/۴۸۷
15c-18:1+16c-18:1	۰/۴۵۱±۰/۳۱۵
9c,13t-18:2+8t,12c-18:2	۰/۷۷۱±۰/۳۷۶
9t,12c-18:2	۰/۹۱۰±۰/۲۹۶
9c,12c-18:2	۱۴/۲۱۰±۰/۳۴۳
9c,12c,15c-18:3	۰/۷۶۹±۰/۲۶۵
20:0,20:1,20:2,20:3,20:4	۲/۴۳۱±۰/۵۶۰
Total tFA	۷/۷۶۹±۲/۰۸۳
Saturated FA	۲۵/۱۲۲±۲/۸۶۲
Polyunsaturated FA	۱۴/۹۷۹±۳/۳۴۶
Monounsaturated FA	۴۷/۱۲۷±۳/۲۱۷
USFA /SFA	۲/۴۱۴±۰/۳۵۷
Total tFA/ cisFA	۰/۱۲۵±۰/۰۳۷۷

*اعداد به صورت انحراف معیار±میانگین نمایش داده شده‌اند.

*c= پیوند دوگانه سیس، t= پیوند دوگانه ترانس، USFA = اسیدهای چرب غیراشباع، SFA=اسیدهای چرب اشباع، tFA= اسیدهای چرب ترانس.

[1] t-test

Downloaded from hakim.hbi.ir at 2:39 IRDT on Friday March 22nd 2019

بحث

با توجه به اهمیت بالقوه استفاده از بیوپسی چربی در بررسی‌های تغذیه‌ای، در این مطالعه جنبه‌های مختلف یک روش ساده نمونه‌گیری و تعیین ترکیب بافت چربی بررسی شد. روش نمونه‌گیری بافت چربی که در این مطالعه ارایه شده یک روش ساده و بی‌خطر برای گرفتن مقادیر کم بافت چربی زیر پوست است.

نتایج بررسی ترکیب اسیدهای چرب غذای مصرفی به‌وسیله پرسش‌نامه برنامه غذایی در روزهای مختلف متفاوت است و در بررسی‌های مربوط به یک بازه زمانی طولانی یادآوری غذایی افراد معمولاً قابل اعتماد نیست. در مقابل، ترکیب اسیدهای چرب بافت چربی، شاخص میانگین الگوی اسیدهای چرب رژیم غذایی در یک دوره یک تا سه سال است (۳ و ۴).

انجام جراحی برای گرفتن نمونه بافت چربی مشکل و پرخطر است. به‌علاوه در برخی از مطالعات تغییر ترکیب بافت چربی بر اساس محل نمونه‌گیری گزارش شده است (۱۲ و ۱۴) که کنترل این حالت در جراحی آسان نیست. هیرش[1] و همکارانش (۱۱) در سال ۱۹۶۰ یک روش نمونه‌گیری بافت چربی با سرنگ ارایه دادند که به‌دلیل استفاده از مواد بی‌حس کننده احتمال ایجاد حساسیت در افراد مورد مطالعه وجود داشت. اما با روش ارایه شده در این گزارش، هیچ ماده بی‌حس کننده‌ای استفاده نشد و در مقایسه با مطالعه بِینن[2] و همکارانش (۱۵) به‌دلیل استفاده از سرنگ ۲۰ میلی‌لیتر به‌جای ۵۰ میلی‌لیتر و سر سوزن ۱۹G به‌جای ۱۷G این روش کمتر تهاجمی به‌نظر می‌رسد. ارزان و در دسترس بودن لوازم مورد نیاز و همچنین قابلیت انجام آن توسط همه پرسنل بهداشتی از مزایای این روش محسوب می‌شود.

در این مطالعه، الگوی طبیعی اسیدهای چرب بافت چربی ۶۷ فرد سالم با یک روش کروماتوگرافی گازی مستقیم تعیین شد. در این روش با استفاده از یک برنامه دمایی مناسب، ۲۱ اسید چرب که شامل ایزومرهای ترانس نیز بود، به‌خوبی جداسازی و اندازه‌گیری شد. بر اساس نتایج این مطالعه و مطابق مطالعات مشابه (۳ و ۱۵)، اسید اولئیک بیشترین اسید چرب و اسیدهای چرب با یک پیوند دوگانه حدود نیمی از اسیدهای چرب بافت چربی را تشکیل می‌دادند.

نتیجه‌گیری

با روش ارایه شده در این مطالعه، نمونه‌های زیاد بافت چربی انسان را می‌توان به‌سرعت و به‌دقت بررسی کرد که در بسیاری از مطالعات بیوشیمیایی و تغذیه‌ای قابل استفاده است. این روش به‌ویژه در مطالعات اپیدمیولوژیکی که ارتباط بین مصرف اسیدهای چرب خاصی مانند اسیدهای چرب ترانس و سلامتی را در یک دوره طولانی‌مدت ارزیابی می‌کنند، بسیار مفید است.

[1] Hirsch
[2] Beynen

References

1- Baylin A, Kabagambe EK, Siles X, et al. Adipose tissue biomarkers of fatty acid intake. Am J Clin Nutr 2002; 76:750-7.
2- Hudgins LC, Hirsch J. Changes in abdominal and gluteal adipose-tissue fatty acid compositions in obese subjects after weight gain and weight loss. Am J Clin Nutr 1991; 53:1372-7.
3- London SJ, Sacks FM, Caesar J, et al. Fatty acid composition of subcutaneous adipose tissue and diet in postmenopausal US women. Am J Clin Nutr 1991; 54:340-5.
4- Willett WC, Sampson L, Stampfer MJ, et al. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. Am J Epidemiol 1985; 122(1):51-7.
5- Hudgins LC, Hirsch J, Emken EA. Correlation of isomeric fatty acids in human adipose tissue with clinical risk factors for cardiovascular disease. Am J Clin Nutr 1991; 53:474-82.
6- Riemersma RA, Wood DA, Bulter S. Linoleic acid content in adipose tissue and coronary heart disease. Bio Med J 1986; 292: 1423-7.
۷- قهرمان‌پور ف، فیروزرأی م، دارابی م و همکاران. اسیدهای چرب ترانس بافت چربی و خطر ابتلا به بیماری عروق کرونر. مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران ۱۳۸۵؛ ۵۰: ۱۴۴-۱۳۵.
8- Clifton PM, Keogh JB, Noakes M. Trans fatty acids in adipose tissue and the food supply are associated with myocardial infarction. J Nutr 2004; 134(4):874-79.
9- Fennema OR, Karel M, Sanderson GW, et al. Food lipids: chemistry, nutrition, and biotechnology. 2nd edition. New York: Marcel Dekker; 2002: 1-15.
10- American Oil Chemists Society. Official methods and recommended practices of the American oil chemists society. 4th ed. AOCS, Chap.2a-94. Champign IL; 2002.
11- Hirsch J, Farquhar JW, Ahrens HE, et al. Study of adipose tissue in men: A microtechnic for sampling and analysis. Am J Clin Nutr 1960; 8:499-511.
12- Lepage G, Roy CC. Direct transesterification of all classes of lipids in a one-step reaction. J Lipid Res 1986; 27:114-19.
13- Barwick VJ. Sources of uncertainty in gas chromatography and high-performance liquid chromatography. J Chrom A 1999; 849:13-33.
14- Allison DB, Denke MA, Dietschy MA, et al. Trans fatty acids and coronary heart disease risk:Report of the expert panel on trans fatty acids and coronary heart disease. Am J Clin Nutr 1995; 62: 655s-708s.
15- Beynen AC, Katan MB. Rapid sampling and long- term storage of subcutaneous adipose-tissue biopsies for fatty acid composition. Am J Clin Nutr 1985; 42:317-22.