# یک ماه مکمل یاری با توت فرنگی غنی از آنتوسیانین ریسک بیماری قلبی عروقی، شاخص های استرس اکسیداتیو و فعالیت پلاکتی در انسان را بهبود می بخشد


## چکیده

توت فرنگی به دلیل محتوای بالای مواد مغذی ضروری و فیتوکمیکال های مفید که به نظر می رسد اثرات مفیدی بر سلامت انسان دارد، میوه ای مهم در رژیم غذایی مدیترانه ای است. افراد سالم داوطلب روزانه با ۵۰۰ گرم توت فرنگی به مدت یک ماه مکمل یاری شدند. پروفایل لیپیدی پلاسما، شاخص های خونی و سلولی وضعیت آنتی اکسیدانی، استرس اکسیداتیو و عملکرد پلاکتی در شروع مطالعه، بعد از ۳۰ روز مصرف توت فرنگی و ۱۵ روز بعد از پایان مطالعه اندازه گیری شدند. مقادیر بالای ویتامین C و آنتوسیانین ها در میوه ها یافت شد. مصرف توت فرنگی تأثیر مفیدی بر پروفایل لیپیدی با کاهش معنی دار سطوح کلسترول تام، لیپوپروتئین با دانسیته پایین و تری گلیسرید (به ترتیب ۸,۷۸٪-، ۱۳,۷۲٪-، ۲۰,۸٪-، P<0.05) در مقایسه با شروع مطالعه داشت. در حالی که لیپوپروتئین با دانسیته بالا بدون تغییر باقی ماند. مکمل یاری با توت فرنگی همچنین سطوح مالون دی آلدهید سرم، ۸-OHdG ادرار و ایزوپروستان (به ترتیب ۳۱,۴٪-، ۲۹,۶۷٪-، ۲۷,۹٪-، P<0.05) را به طور معنی دار کاهش داد. تمام پارامترها بعد از دوره پاکسازی به مقادیر شروع مطالعه برگشتند. بعد از مصرف توت فرنگی افزایش معنی دار سطوح ظرفیت آنتی اکسیدانی تام پلاسما از طریق اندازه گیری توانایی کاهش آهن پلاسما و ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن و سطوح ویتامین C (به ترتیب ۲۴,۹۷٪+، ۴۱,۱۸+، ۴۱,۳۶٪+، P<0.05) مشاهده شد. به علاوه همولیز خود به خودی و اکسیداتیو در مقایسه با ابتدای مطالعه به طور معنی دار کاهش یافت (به ترتیب ۳۱,۷٪-، ۳۹,۰۳٪، P<0.05) که بعد از دوره پاکسازی ثابت باقی ماند. در نهایت، دریافت توت فرنگی تعداد پلاکت های فعال شده را در مقایسه با مقادیر شروع مطالعه و دوره پاکسازی به طور معنی دار کاهش داد (P<0.05). مصرف توت فرنگی پروفایل لیپیدی پلاسما، بیومارکرهای آنتی اکسیدانی، دفاع آنتی همولیتیک و عملکرد پلاکتی را

در افراد سالم بهبود می بخشد که بررسی بیشتر بر روی جمعیت با ریسک بالای بیماری های قلبی عروقی را می طلبد.

---

## ۱. مقدمه

بیماری های قلبی-عروقی (CVD) بزرگترین قاتل در جهان و علت عمده مرگ و میر در میان بیماری های غیرواگیر است (۱). شواهد عمده نشان می دهند که CVD بیماری است که در طول زندگی که با پیشرفت تصلب شرایین تحت بالینی و افزایش پنهانی عوامل خطر شروع می شود و زمانی در مرحله پاتولوژیک قابل تشخیص است که قبل از به اوج خود رسیده است. در نتیجه پیشگیری اولیه و ثانویه از CVD و کنترل اولیه عوامل خطر مرتبط با CVD به طور چشمگیری اولویت فوری بهداشت عمومی است.

رژیم غذایی نقش مهمی در پیشگیری از CVD دارد (۲) و الگوهای رژیمی بر پایه مصرف بالای میوه و سبزیجات مانند رژیم غذایی مدیترانه ای (۲) با امید به زندگی طولانی تر و کاهش قابل توجه بروز و شیوع CVD ارتباط دارد (۳). از آنجا که عدم تعادل استرس اکسیداتیو و دفاع آنتی اکسیدانی آندوژن/اگزوژن بدن در پاتوژنز آن دخیل است، ترکیبات آنتی اکسیدانی میوه و سبزیجات مانند پلی فنول ها که شرح داده شده دارای خواص ضدآترواسکلروتیک است و نقش مهمی در حفاظت از میکرومولکول های سلولی در مقابل گونه های فعال اکسیژن (ROS)/گونه های نیتروژن واکنشی (RNS) ناشی از آسیب و نیز بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی و عملکرد اندوتلیال دارند (۳).

در میان میوه ها، انواع توت های شیرین به دلیل محتوای بالا آنتی اکسیدان فیتوشیمیایی مورد توجه خاص قرار گرفته اند. اگرچه اثبات قاطعانه این که غذاهای خاص می توانند در کاهش خطر بیماری های قلبی-عروقی(CVD) مؤثر باشند مشکل است، برخی مطالعات با مکمل یاری با توت در حال انجام است (۴-۷). یک مکانیسم احتمالی برای توضیح کاهش خطر، به محتوای بالای آنتی اکسیدان مانند پلی فنول ها و ویتامین C موجود در میوه ها مربوط است. اما شواهد رو به افزایشی نشان می دهند که مکانیسم های مستقیم و غیرمستقیم دیگری نیز در اثرات محافظتی ناشی از دریافت میوه دخیل باشند (۳). در میان مکانیسم های پیشنهاد شده اخیر، مصرف منظم انواع توت/توت فرنگی ممکن است عوامل خطر CVD را از

طریق بهبود پروفایل لیپیدی پلاسما، افزایش فعالیت آنتی اکسیدانی پلاسما (۸) و مقاومت لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL) در برابر اکسیداسیون (۳) و بهبود عملکرد اندوتلیال (۹) کاهش دهد. افزایش معنی دار زمان پراکسیداسیون LDL (۹)، همچنین کاهش معنی دار کلسترول تام و LDL-کلسترول، اجزای کوچک LDL (۱۰و۱۱) و تغییرات مطلوب در لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL) و فشارخون (۱۲و۱۳) پس از دوره نسبتاً طولانی مصرف توت فرنگی گزارش شده است.

توجه ویژه به پلاکت ها: پلاکت های فعال شده خون در پیشرفت CVD به عنوان اجزای اصلی ترومبوز که مسدودکننده شریان ها هستند، اهمیت دارند (۱۴). از این رو، عملکرد طبیعی پلاکت ها از طریق کاهش بیش فعالی پلاکت مبتنی بر رژیم غذایی، می تواند رویکرد عملی برای حفظ سلامت قلب و عروق در نظرگرفته شود. اختلال واکنش پذیری پلاکتی در افراد سیگاری و افراد تحت استرس دیده می شود. بنابراین، عملکرد طبیعی پلاکتی می تواند یک رویکرد عملی برای حفظ سلامت قلب و عروق در نظرگرفته شود. با این حال شواهد موجود در مورد اثرات مصرف مواد غذایی خاص، مانند توت فرنگی بر فعالیت پلاکت ها هنوز اندک است.

در چند سال گذشته، گروه ما چندین مطالعه در مورد مصرف کوتاه مدت و طولانی مدت توت فرنگی با انتخاب انواعی از توت فرنگی که به طور خاص غنی از ترکیبات فیتوشیمیایی هستند، انجام داده اند (۱۵-۱۹). اگرچه یافته های ما چندین اثر مثبت توت فرنگی بر سلامت را نشان می دهند به ویژه بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی پلاسما و مقاومت اریتروسیت به همولیز اکسیداتیو در انسان (۱۶)، داده های بیشتری در مورد اثرات مصرف توت فرنگی به عنوان یک عامل پیشگیری کننده از CVD مورد نیاز است. علاوه براین، در حال حاضر مطالعات اندکی برای تأیید اثرات احتمالی بر سلامت به دنبال مداخله تغذیه ای با توت فرنگی (دوره پاکسازی) وجود دارد.

از آنجا که افزایش شاخص هایی نظیر کلسترول تام، LDL-C و تری گلیسرید زنگ هشداری هستند و از عوامل خطر CVD می باشند، یک مطالعه مفصل تر برای بررسی اثر توت فرنگی بر روی این شاخص ها باید انجام شود که می تواند به عنوان یک هدف مهم جهت روشن کردن این که چگونه مصرف این میوه ها

ممکن است در پیشگیری چنین آسیب هایی مفید باشد، مطرح باشد. تا به حال گروه ما بهبود قابل توجه وضعیت اکسیداتیو در افراد داوطلب پس از مصرف توت فرنگی را نشان داده است، اما اطلاعات دقیق تری در مورد اثرات مصرف توت فرنگی بر روی شاخص های ویژه CVD مورد نیاز است. خصوصاً پروفایل لیپیدی و فعالیت پلاکتی، شاخص هایی هستند که تا به حال در مطالعات ما ارزیابی نشده بودند. بنابراین، هدف مطالعه حاضر بررسی اثرات مفید احتمالی مصرف طولانی مدت میوه های ریز توت فرنگی آلبا بر روی پروفایل لیپیدی سرم، بیومارکرهای وضعیت آنتی اکسیدانی و مقاومت اریتروسیت به همولیز اکسیداتیو و نیز عملکرد پلاکتی در افراد سالم می باشد.

## ۲. مواد و روش ها

### ۲,۱. آنالیز میوه توت فرنگی

انواع تجاری توت فرنگی آلبا، از برنامه پرورش توت فرنگی دانشگاه پلی تکنیک مارکه در آنکونای ایتالیا برای این مطالعه انتخاب شدند. استخراج ترکیبات مطابق با آنالیز مطالعه پیشین انجام شد (۱۹). محتوای فنلی (TPC) با روش Folin-ciocalteu (۲۰)، محتوای فلاونوئید (TFC) با روش اسپکتروفتومتری کلرید آلومینیوم اندازه گیری شد. در حالی که ویتامین C با روش فاز معکوس کروماتوگرافی مایع با عملکرد بالا (HPLC) اندازه گیری شد. استخراج آنتوسیانین ها (ACYs) و آنالیز HPLC-MS/MS همان طور که در مطالعه پیشین قبلاً توضیح داده شده، انجام شد (۲۱). ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) با استفاده از ظرفیت آنتی اکسیدان معادل Trolox و سنجش ظرفیت جذب رادیکال اکسیژن (ORAC) اندازه گیری شد. همه نتایج به ازای وزن مرطوب کل توت فرنگی مصرفی روزانه (۵۰۰ گرم وزن مرطوب [FW]) برای هر فرد در طول آزمون به صورت گرم اسیدگالیک (TPC)، کاتچین (TFC)، ویتامین C (vit C) و میلی گرم پلارگونیدین ۳-گلوکوزید(pg-3-glc) یا سیانیدین۳-گلوکوزید گزارش شد، در حالی که مقادیر TAC به صورت میلی مول معادل Trolox گزارش شد.

### ۲,۲. افراد مورد مطالعه و طراحی مطالعه

بیست و سه داوطلب سالم (۱۱ مرد و ۱۲ زن، سن ۳٫۲±۲۷ سال، وزن kg ۱۲٫۷±۶۳٫۵، با نمایه توده بدنی $kg/m^2$ ۲٫۵±۲۱٫۷۴) وارد مطالعه شدند. مطالعه مطابق با اصول بیانیه هلیستکی که در سال ۲۰۰۰ تجدید نظر شد، انجام شد. پروتکل مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه پلی تکنیک در دانشکده پزشکی مارکه تصویب شد و از هر شرکت کننده رضایتنامه آگاهانه اخذ گردید. افراد سیگاری و افرادی که مکمل ویتامین یا سایر مکمل های رژیمی مصرف می کردند، کسانی که سابقه آلرژی به توت فرنگی یا سایر انواع توت داشتند، سابقه هر گونه بیماری مزمن که احتمالاً مرتبط با استرس اکسیداتیو هستند و نیز وجود علائم از هرگونه بیماری حاد از مطالعه خارج شدند.

شکل ۱ طراحی مطالعه را نشان می دهد. برای استانداردسازی داده های ابتدای مطالعه و جلوگیری از تغییرات رژیمی در طول مطالعه، ۲ هفته قبل از آزمون (دوره پیش از مطالعه) افراد رژیم بدون توت فرنگی و با پلی فنول کم را شروع کردند. لیست غذایی توصیه شده، غذاهای محدود شده و نوشیدنی ها و نیز منع مصرف توت فرنگی به افراد ارائه شد. در ابتدای مطالعه، افراد به مدت ۳۰ روز روزانه ۵۰۰gr توت فرنگی تازه (در طول مطالعه) ترجیحاً در میان وعده صبح یا عصر بین وعده های اصلی غذایی، مصرف کردند. از شرکت کنندگان خواسته شد رژیم غذایی معمول خود را تا پایان مطالعه (دوره پاکسازی) تغییر ندهند و رژیم غذایی روزانه خود را از دوره پیش از مطالعه تا پایان ۳۰ روز مکمل یاری با توت فرنگی ثبت کنند. در طول پاکسازی ۱۵ روزه، افراد نباید توت فرنگی مصرف می کردند. میزان دریافت انرژی، درشت مغذی و ریزمغذی های افراد قبل و در طول مطالعه با نرم افزار Funiber Nutriber (نسخه R4.۱,۱,۱) محاسبه شد. جدول ۱ جزئیات دریافت انرژی، درشت مغذی و ریزمغذی در افراد را پیش از مطالعه و در طول مدت مصرف سهم توت فرنگی روزانه نشان می دهد.

J.M. Alvarez-Suarez et al. / Journal of Nutritional Biochemistry 25 (2014) 289–294

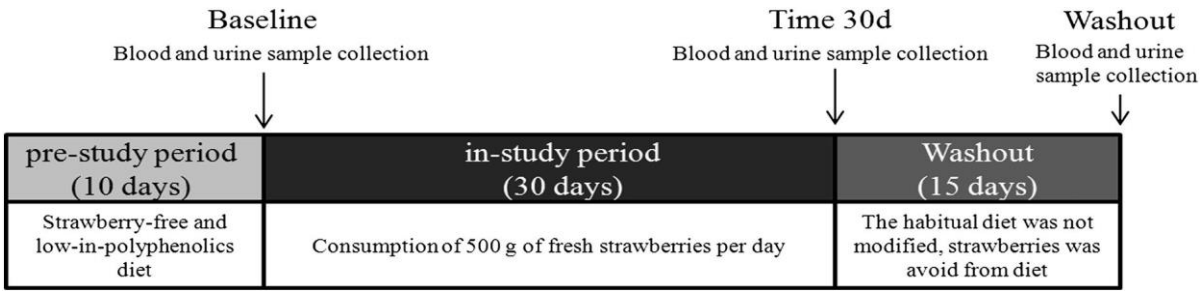



Fig. 1. General scheme of the intervention study.

Table 1
Energy, macronutrient and micronutrient intake of the subjects through the baseline diet and contribution of strawberries daily dose

| Parameter | Baseline diet[b] | Contribution of 500 g/day of fruits to daily overall intake[c] |
|---|---|---|
| Energy (kcal) | 1938.27±192.03 | 160±0.02 |
| Protein (g) | 86.69±7.47 | 3.35±0.01 |
| Total lipid (g) | 51.73±6.81 | 1.5±0.01 |
| Saturated (g) | 12.53±1.68 | 0.075±0.01 |
| Monounsatured (g) | 23.64±2.65 | 0.215±0.01 |
| Polyunsaturated (g) | 9.28±0.54 | 0.775±0.01 |
| Total carbohydrate (g) | 268.18±28.50 | 48.35±0.03 |
| Dietary fiber (g) | 11.51±1.91 | 10±0.02 |
| Folate (μg) | 144.86±28.55 | 120±0.01 |
| Vit C (g/day)[b] | 0.089±0.0 | 0.17±0.01 |
| Vitamin E, α- tocopherol (mg) | 3.32±0.73 | 1.45±0.01 |
| Total phenolic (g/day)[d] | - | 1.13±0.02 |
| Total flavonoid (g/day)[d] | - | 0.47±0.01 |
| Total anthocyanins (mg/day)[d] | - | 307.59±0.01 |
| Cy-3-glucoside | - | 9.51±0.02 |
| Pg 3-glucoside | - | 253.76±0.01 |
| Pg 3-rutinoside | - | 10.44±0.01 |
| Cy 3-malonylglucoside | - | 0.58±0.01 |
| Pg 3-malonylglucoside | - | 32.74±0.02 |
| Pg 3-acetylglucoside | - | 0.56±0.00 |
| TAC (mM TE/day)[d] | - | |
| FRAP | - | 5.53±0.7 |
| ORAC | - | 24.8±1.7 |

جدول ۱ : ارزش تغذیه ای برای مقادیر روزانه(۵۰۰ g) مصرف شده توسط هر شخص در طول آزمون مشابه است.

a کل دریافت روزانه به صورت میانگین ± خطای استاندارد بیان شده است.

b دریافت با استفاده از نرم افزار Funiber Nutriber (نسخه ۱,۱,۱.R4) تعیین شد.

c دریافت با استفاده از پایگاه داده سازمان کشاورزی ایالات متحده و خدمات پژوهشی کشاورزی، مواد غذایی ملی USDA برای منابع استاندارد میوه و آبمیوه برآورد شد (http://www.ars.usda.gov/Services/docs).

D دریافت بر پایه آنالیز شیمیایی میوه توت فرنگی بود.

## ۲,۳. نمونه ها

نمونه خون (۱۰ml) از رگ آرنج به داخل vacutainer سدیم سیترات (BD vacutainer CPTTN) از افراد ناشتا در شروع مطالعه، بعد از ۳۰ روز دوره مکمل یاری (روز سی ام) و ۱۵ روز بعد از پایان مطالعه (دوره پاکسازی) جمع آوری شد. پلاسما جدا شد و در دمای ۸۰°c- برای آنالیزهای بیوشیمیایی نگهداری شد. نمونه ادرار نیز در هر یک از زمان های یاد شده جمع آوری گردید و در دمای ۸۰° c- تا زمان آنالیز منجمد شد.

## ۲,۴. آنالیز بیوشیمیایی و تعیین بیومارکرهای وضعیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو

گلوکز پلاسما (GOD-PAP)، کلسترول تام (CHOD-PAD)، تری گلیسرید (GPO-PAP)، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL-C) و LDL-C (به ترتیب HDL-C نسل سوم و LDL-C نسل دوم) با کیت های تست آنزیمی اندازه گیری شدند. درحالی که آلبومین با کیت تست رنگ سنجی (BCG) اندازه گیری شد. همه کیت های تجاری از شرکت تشخیص روشه مانهایم-آلمان خریداری شد و آنالیز با استفاده از آنالیزر شیمیایی بالینی خودکار روشه/هیتاچی انجام شد. ظرفیت تام آنتی اکسیدانی (TAC) پلاسما با روش ظرفیت ORAC (۲۰) و نیز سنجش توان کاهش آهن پلاسما (FRAP) اندازه گیری شد. غلظت سرمی اسکوربیک و اوریک اسید توسط HPLC به همراه تشخیص الکتروشیمیایی اندازه گیری شد، درحالی که میزان پراکسیداسیون لیپیدی پلاسما با HPLC-UV کمی مالون دی آلدهید (MDA) اندازه گیری شد.

بررسی ۸ هیدروکسی-۲ دی اکسی گوآنوزین ادرار (۸-OHdG) با کیت الایزا رقابتی سنجش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم در شرایط آزمایشگاهی (JalCA، ژاپن) تعیین شد. تعیین سطح ایزوپروستان های ادرار با روش الایزا (نئوژن، کلسینگتون، KY، ایالات متحده آمریکا) آنزیم انجام شد. کل آنالیزها در فاصله ۳ ماه بعد از جمع آوری نمونه ها انجام شد.

دوز روزانه توت فرنگی با مقدار داده شده برای یک فرد ۶۳ کیلوگرم فرضی مشابه است. مقدار کمی توت فرنگی اضافی به ترتیب برای افراد با وزن بیشتر از میانگین مقدار (۶۳kg) برطبق استادارد نسبت مقدار به وزن بدن داده شد.

کیت ایمونواسی (ELISA) (نئوژن، کلسینگتون، KY، ایالات متحده آمریکا) آنالیز در طول ۳ ماه جمع آوری انجام شد.

### ۲,۵. تست همولیز

مقاومت اریتروسیت به همولیز اکسیداتیو و همولیز القا شده شرایط آزمایشگاهی همان طور که قبلاً توضیح داده شد مورد بررسی قرار گرفت (۱۶). به طور خلاصه، پلت گلبول های قرمز خون یک بار با محلول ۰,۹٪ NaCl و سپس سه بار با بافر فسفات (PBS) در دمای اتاق و resuspended (۴٪ هماتوکریت) در بافر PBS (همولیز خود به خودی) یا در ۱۲,۵mMAAp (۲,۲□- آزوبیس- ۲ متیل پروپانامید دی

هیدروکلرید) محلول بافری (AApH ناشی از همولیز) در PH ۷,۴ شستشو داده شد و به مدت ۵ ساعت در دمای $۳۷^{\circ c}$ همراه با تکان دادن ملایم انکوباته شد. همولیز خود به خودی و همولیز القا شده با AApH بعد از ۱، ۳ و ۵ ساعت انکوباسیون گزارش شد و اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۰nm برای هموگلوبین (Hb) آزاد شده از سلول ها در مایع رویی ارزیابی شد. نتایج به صورت درصد همولیز بیان شدند.

### ۲,۶. اندازه گیری عملکرد پلاکتی با میکروسکوپ الکترونی

برای مطالعه پلاکت ها، ۱۰ نفر از ۲۳ داوطلب (۵ مرد و ۵ زن) به طور تصادفی انتخاب شدند. برای دستیابی به پلاسمای غنی از پلاکت نمونه ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۲۰۰×g سانتریفوژ شدند و پلت های پلاکت با سانتریفوژ با سرعت ۲۰۰۰×g به مدت ۲۰ دقیقه جدا شدند، در ۲,۵٪ گلوتارآلدهید در ۰,۱M سدیم کاکودیلیت (ph=7.3) فیکس شدند و دو بار با همان بافر شست و شو شدند. بعد از تثبیت بافر ۱٪ تتراکسید اسمیوم پلاکت ها در یک سری درجه بندی اتانول، تحت تأثیر پروپیلنئوکسید و قرارگیری در رزین Durcupan ACM آب خود را از دست دادند. بخش نازک در شبکه مس نصب شده بود و رنگ آمیزی با استات اورانیل و سیترات سرب انجام شد. به طور متوسط به طور تصادفی ۱۳۰ پلاکت از هر نمونه در میکروسکوپ انتقال الکترون EM ۱۰۹ زایس (TEM) انتخاب شد و بر اساس فراساختار خود، به ۳ دسته: استراحت، شاخه مرکزی و دگرانوله شده که به ترتیب نشان دهنده پلاکت ها در حالت بازال، در حال فعال سازی و بعد از فاز فعال سازی هستند طبقه بندی شدند.

### ۲,۷. آنالیز آماری

آنالیز آماری با استفاده از بسته نرم افزاری STATISTICA (statsoft، تولسا، OK، USA) انجام شد. داده های پلاسما، سرم و اریتروسیت ها با آزمون نمونه های زوج ویلکاکسون به دست آمدند. میانگین ۳ آنالیز به کار برده شد و نتایج به صورت میانگین±SEM و درصد تغییرات مقادیر پایه گزارش شد. برای آنالیز اینکه آیا مکمل یاری با توت فرنگی بر عملکرد پلاکتی تأثیر گذاشته، آنالیز واریانس اندازه گیری های تکرار شده در هر دسته از پلاکت ها به کاربرده شد و داده ها به صورت درصد میانگین±SEM گزارش شد. مقادیر P به صورت $P<0.05$ و $P<0.01$ از نظر آماری به ترتیب معنی دار و معنی دار قوی در نظر گرفته شد.

## ۳. نتایج

### ۳,۱. بیومارکرهای وضعیت آنتی اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو

جدول ۲ مقادیر پارامترهای بیوشیمیایی عمومی، بیومارکرهای وضعیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو افراد در طول مطالعه را نشان می دهد. مصرف توت فرنگی تأثیر مثبتی بر روی پروفایل لیپیدی پلاسما گذاشت. سطوح کلسترول تام سرم در روز سی ام به طور معنی داری پایین تر از ابتدای مطالعه بود (۸,۷۸٪، P<۰,۰۵). یافته های مشابهی برای سطوح LDL-C (P<۰,۰۵، ۱۳,۷۲٪) و تری گلیسرید (P<۰,۰۵، ۲۰,۸٪) به دست آمد. اگر چه مقادیر هر دو شاخص بعد از دوره پاکسازی به مقادیر ابتدای مطالعه بازگشتند. مقدار HDL-C در طول مطالعه بدون تغییر باقی ماند.

بهبود مشابهی در چندین شاخص وضعیت آنتی اکسیدانی و استرس اکسیداتیو ادرار پلاسما مشاهده شد. به دنبال ۳۰ روز مصرف توت فرنگی مقدار TAC پلاسما به طور معنی داری با بررسی FRAP (P<۰,۰۵، ۲۴,۹۷٪) و ORAC (P<۰,۰۵، ۴۱,۱۸٪) همراه با افزایش معنی دار غلظت سرمی اسید آسکوربیک (P<۰,۰۱، ۴۱,۳۶٪)، افزایش یافت. تغییر معنی داری در سطح سرمی اسیداوریک در طول دوره مطالعه مشاهده نشد.

همزمان، کاهش معنی داری در MDA پلاسما (P<۰,۰۵،۳۱,۴٪) و ۸-OHdG ادرار و ایزوپروستان (P<۰,۰۵، ۲۹,۶۷٪ و P<۰,۰۵، ۲۷,۹٪) به دنبال مداخله با توت فرنگی در مقایسه با شروع مطالعه مشاهده شد. تمام پارامترها بعد از دوره پاکسازی به مقادیر پایه بازگشتند.

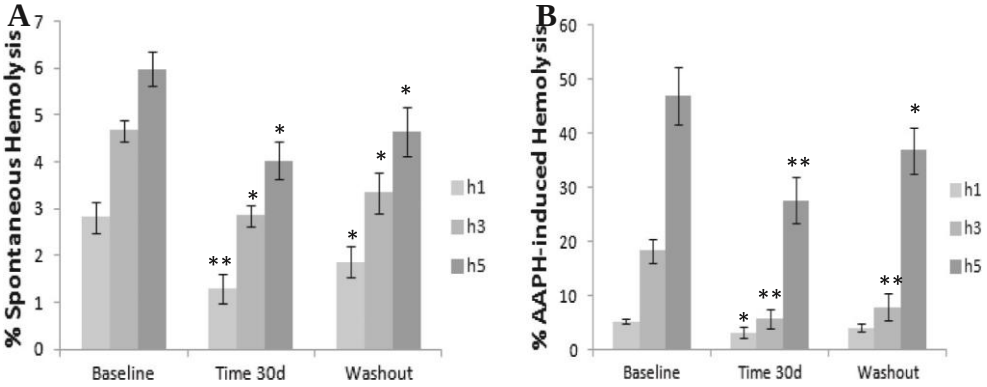
Table 2
Biochemical parameters and biomarkers of antioxidant status and oxidative stress of the volunteers during the study

| Parameters (reference values) | Baseline | Time 30d | Washout |
|---|---|---|---|
| General biochemical analysis | | | |
| Glucose (g/L) | 4.71±0.07[a] | 4.76±0.09[a] | 4.71±0.01[a] |
| Albumin (g/L) | 50.5±0.3[a] | 49.3±0.2[a] | 49.3±0.5[a] |
| Total cholesterol (mmol/L) | 4.58±0.13[a] | 4.18±0.12 [b] | 4.50±0.12[a] |
| HDL-C (mmol/L) | 1.54±0.07[a] | 1.57±0.07[a] | 1.52±0.06[a] |
| LDL-C (mmol/L) | 2.54±0.10[a] | 2.19±0.09[b] | 2.52±0.10[a] |
| Triglycerides (mmol/L) | 0.85±0.09[a] | 0.67±0.06[b] | 0.82±0.06[a] |
| Antioxidant status | | | |
| FRAP (μmol TE/L) | 46.12±5.16[a] | 57.64±4.18[b] | 47.54±6.54[a] |
| ORAC (μmol TE/L) | 16 636±105[a] | 23 487±137[b] | 15 013±121[a] |
| Vit C (μmol/L) | 39.84±2.94[a] | 56.32±2.39[b] | 41. 79±2.67[a] |
| Uric acid (μmol/L) | 248.12±5.65[a] | 246±7.12[a] | 249.54±8.32[a] |
| Biomarkers of oxidative stress | | | |
| MDA (nM/mL) | 1.21±0.13[a] | 0.83±0.01[b] | 1.11±0.02[a] |
| 8-OHdG (ng/mL) | 5.93±0.06[a] | 4.07±0.11[b] | 5.24±0.10[a] |
| Isoprostanes (ng/mL) | 0.86±0.04[a] | 0.62±0.01[b] | 0.79±0.03[a] |

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد (SEM) ارائه شد. حروف بالانویس متفاوت در یک ردیف با اختلاف معنی دار p<0.05 است.

### ۳,۲. حساسیت اریتروسیت ها به همولیز

شکل ۲ درصد همولیز را بعد از ۱، ۳ و ۵ ساعت انکوباسیون در PBS (٪ همولیز خود به خودی، شکل ۲A) و در محلول AAPH (همولیز القا شده با ٪AAPH، شکل ۲B) نشان می دهد. افزایش مقاومت در برابر همولیز در روز سی ام برای هر دو همولیز خود به خودی و القا شده با AAPH در مقایسه با ابتدای مطالعه مشاهده شد. همان طور که در شکل ۲A نشان داده شده، کاهش معنی دار درصد همولیز خود به خودی بعد از ۵ ساعت انکوباسیون در روز سی ام در مقایسه با مقدار پایه (P<۰,۰۵، ۳۱,۷٪) مشاهده شد که حتی بعد از دوره پاکسازی نیز پایین تر از مقادیر پایه باقی ماند (P<۰,۰۵، ۲۲,۴٪). به طور مشابه، در مورد اریتروسیت های در معرض AAPH در روز سی ام بعد از مصرف توت فرنگی در مقایسه با زمان شروع مطالعه پاسخ بهتری به آسیب اکسیداتیو مشاهده شد (شکل ۲B) و کاهش معنی داری در درصد همولیز القا شده با ٪AAPH (P<۰,۰۵، ۳۹,۰۳٪) مشاهده شد. مقاومت اریتروسیت ها به همولیز در مقایسه با شروع مطالعه بعد از ۱۵ روز پاکسازی نیز با کاهش معنی دار درصد همولیز (P<۰,۰۵، ۲۱,۵٪) بالاتر بود که نشان دهنده اثر طولانی مدت سینرژیسم (هم افزایی) بین ترکیبات توت فرنگی و غشای اریتروسیت می باشد.




شکل.۲. درصد همولیز خود به خودی (A) و ناشی از AAPH (B) در شروع مطالعه، روز سی ام دریافت توت فرنگی و بعد از دوره پاکسازی. داده ها به صورت درصد همولیز ارزیابی شده بعد از ۱، ۳ و ۵ ساعت انکوباسیون در کنترل(PBS) یا محلول حاوی AAPH ارائه شد. نشان ستاره اختلاف معنی دار در مقایسه با ستون مرتبط با نقطه زمانی شروع مطالعه نشان می دهد. *اختلاف معنی دار p<0.05؛ **اختلاف معنی دار زیاد p<0.001.

## ۳,۳. تعیین فعالیت پلاکتی

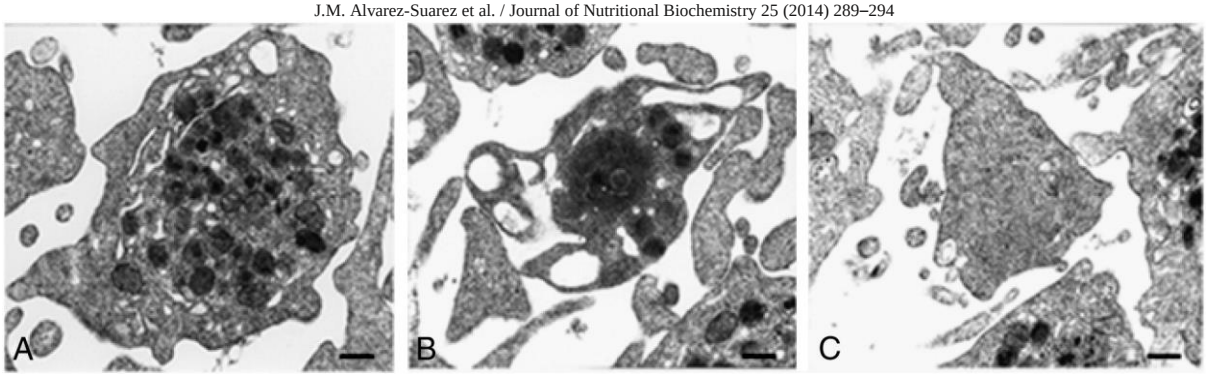
جدول ۳ بررسی پلاکت ها در هر نقطه زمانی با توجه به ویژگی های فوق ساختاری و سطح فعالیت طبقه بندی شده: استراحت (A)، خوشه مرکزی (B) و پلاکت های دگرانوله شده (C) مشاهده شده در TEM را نشان می دهد. این دسته بندی بیان کننده سه وضعیت فیزیولوژیکی متفاوت پلاکت ها است: استراحت به معنی پلاکت های تحریک نشده، خوشه مرکزی به پلاکت های فعال شده و پلاکت دگرانوله شده به مرحله نهایی فعالیت پلاکتی اشاره دارد (شکل ۳). روز سی ام کاهش معنی دار در تعداد پلاکت های خوشه مرکزی در مقایسه با مقادیر پایه و دوره پاکسازی مشاهده شد (P<۰,۰۵). به علاوه تغییر معنی داری در دو گروه مورد بررسی دیگر یعنی استراحت و پلاکت های دگرانوله شده بین سه زمان مطالعه مشاهده نشد که نشان می دهد مکمل یاری با توت فرنگی اثر مطلوبی بر عملکرد پلاکتی دارد.

Table 3
Percentage of platelets in the different functional categories at each time point

| Platelet classification | Baseline | Time 30d | Washout |
|---|---|---|---|
| Resting | 99.05±0.86 | 99.34±1.25 | 98.61±1.57 |
| Central clustered | 0.29±0.03 | 0.09±0.02* | 0.42±0.03 |
| Degranulated | 0.66±0.02 | 0.57±0.03 | 0.97±0.28 |

داده ها به صورت میانگین ± SEM بیان شدند. (n=10)

* اختلاف معنی دار p<0.05 در برابر پلاکت های خوشه مرکزی در شروع مطالعه و دوره پاکسازی.




شکل.۳. ویژگی های فوق ساختاری استراحت، خوشه مرکزی و پلاکت های دگرانوله شده. (A) پلاکت در مرحله استراحت: شکل قرص مانند است، شمار زیادی از گرانول ها و بعضی از حفره های سیستم طولی باز می تواند داخل سلول مشاهده شود. (B) پلاکت خوشه مرکزی مرتبط با فاز فعالیت: گرانول ها در توده متراکم الکترونی در مرکز آمیخته شدند و سیستم طولی باز کاملا متسع شد. (C) پلاکت های دگرانوله شده کامل در پایان فرآیندهای فعالیت. Bar=0.25 μm.

## ۴. بحث

در مطالعه حاضر توت فرنگی «آلبا» با توجه به ویژگی های تغذیه ای بالا انتخاب شد (۱۵-۱۹). افزایش همزمان سطوح TAC و ویتامین C پلاسما موافق با نتایج قبلی ما بود (۱۵و۱۶). به علاوه، برگشت موازی به مقادیر پایه بعد از دوره پاکسازی همسو با گزارشات قبلی ما می باشد (۱۵و۱۶) و این فرضیه که سهم اصلی مصرف توت فرنگی برای بالا بردن TAC پلاسما، همراه با افزایش دریافت و زیست دسترسی ویتامین C زودگذر است، مطح می باشد. بدیهی است که باید در نظر داشت در سال های اخیر، سایر فیتوکمیکال های توت فرنگی به دلیل پتانسیئل افزایش TAC پلاسما همراه با اثر سینرژیک با ویتامین C توجهات رو به خود جلب کرده اند. چند دسته از پلی فنول (شامل فلاونول، بعضی فلاوانول ها مانند آنتوسیانین ها و الاگیتانین ها) یا ترکیبات طعم دهنده (مانند ۲و۵ دی متیل-۴-هیدروکسی-۳-[H] فورانون که اخیراً مورد توجه قرار گرفته اند) جز این ترکیبات می باشند (۴). با این حال اثرات این ترکیبات غیرمغذی در محیط in vivo با در نظر گرفتن میزان زیست فراهمی و bioefficacy آنتی اکسیدانی هنوز فاقد حمایت علمی کافی است. در مطالعه حاضر، غلظت MDA پلاسما، ۸-OHdG ادرار و ایزوپروستان به منظور بررسی میزان آسیب اکسیداتیو چربی ها و DNA و تغییرات احتمالی با مصرف توت فرنگی اندازه گیری شدند. یافته های مطالعه حاضر از این فرضیه که رژیم غنی از توت فرنگی ممکن است با کاهش اکسیداسیون لیپید پراکسیداسیون و

محافظت از DNA سلول به طور معنی دار سبب بهبود شاخص های استرس اکسیداتیو شود، حمایت می کند.

جالب توجه است که مصرف توت فرنگی همچنین با بهبود کلی سطح لیپیدهای سرم افراد از طریق کاهش سطوح کلسترول تام، LDL-C و تری گلیسرید است همان طور که قبلا گزارش شده است، ارتباط دارد (۳۰و۳۱) که نشان می دهد برخی از ترکیبات موجود در میوه به تنهایی یا همراه با هم تأثیر قابل توجهی بر پروفایل لیپیدی پلاسما دارند.

با آنالیز میوه محتوای بالای ویتامین C نشان داده شد و در میان پلی فنول ها، ACY به طور کمی نماینده دسته فلاونوئیدها بود که تقریباً ۶۵,۳۱٪ از محتوای کل فلاونوئیدها همراه با pg-3-glc به عنوان آنتوسیانین اصلی را شامل می شد. سهم g/day ۵۰۰ توت فرنگی تقریباً ۰,۱۷g/day و ۳۰۷/۵۹mg/day به ترتیب ویتامین C و ACY فراهم می کند (جدول ۱). شواهد قانع کننده ای وجود دارد که نشان می دهد ویتامین C به دلیل مهار رادیکال های آزاد و دیگر گونه های واکنشی و جلوگیری از تعامل آن ها با LDL اکسید شده، یک مهارکننده قوی اکسیداسیون LDL و یک عامل شناخته شده در پاتوژنز و پیشرفت آترواسکلروز در انسان می باشد (۳). همچنین نشان داده شده است که ACY اثرات سودمندی در برابر اکسیداسیون LDL دارد. در مطالعات in vitro نشان داده است که آنتوسیانین میوه اقطی، از اندوتلیال سلول ها در برابر چندین عامل استرس اکسیداتیو محافظت می کند (۳۲) که نشان می دهد احتمالاً اندوتلیال سلول ها می تواند آنتوسیانین ها را به غشا و سیتوزول وارد کنند و از این نظریه که آنتی اکسیدان های توت فرنگی می تواند عملکرد اندوتلیال را حفظ و از شروع تغییرات سلول های اندوتلیال مرتبط با CVD جلوگیری کند، حمایت می کند. مکمل یاری رژیمی با عصاره ی استخراج شده غنی از آنتوسیانین زغال اخته منجر به مهار قابل توجه رشد پلاک آترواسکلروتیک در موش های با کمبود Apo E شد، با این حال هیچ تأثیری روی ظرفیت آنتی اکسیدانی تام نداشت (۱۰). بعد از مکمل یاری با عصاره غنی از آنتوسیانین زغال اخته در موش با کمبود Apo E، آنالیزهای نوتریژنومیک ۱۲۶۱ ژن دخیل در چندین فرآیند سلولی را از قبیل استرس اکسیداتیو، چسبندگی مولکولی و آنژیوژنز شناسایی کردند که بیان ژن آن

ها توسط آنتوسیانین زغال اخته در آئورت تعدیل شد (۱۱) که نشان می دهد که اثرات ACYs بر قلب و عروق عمدتاً مربوط به خصوصیات تعدیل کننده در سطح بیان ژن است تا خصوصیات آنتی اکسیدانی آن. اگر چه بین زغال اخته و توت فرنگی از نظر ترکیبات نسبی ACYs تفاوت هایی وجود دارد، برخی از آن ها در هر دو به عنوان مشتقات سیانیدین مشترک هستند که دومین ترکیب به لحاظ فراوانی در توت فرنگی می باشد. بنابراین یافته های فوق دلگرم کننده است و می تواند نقطه آغازی برای مطالعات آینده بر روی توت فرنگی باشد. زیرا در حال حاضر مطالعات در دسترس کمی با توجه به دریافت توت فرنگی با این رویکرد وجود دارد.

اگر چه تجزیه و تحلیل اثر یک ترکیب واحد در رژیم غذایی بر سلامت دشوار است، مطالعات اخیر بر روی اثر آنتوسیانین های غذایی بر سلامت انسان، از نتایج بیان شده حمایت می کند. در مطالعه ای که توسط شین و همکاران انجام شد (۳۳)، مکمل یاری با ۱۶۰ mg آنتوسیانین (مخلوطی از آنتوسیانین گلیکوزیله از قبیل 3-o-b گالاکتوزید و 3-o-b آرابینوزیدهای سیانیدین، پتونیدین، پئونیدین، مالویدین و دلفینیدین) دو بار در روز یا دارونما به مدت ۱۲ هفته در افراد دچار دیس لیپیدمی در قالب کارآزمایی بالینی تصادفی دوسوکور، مشاهده شد که مصرف آنتوسیانین، غلظت HDL-C (۱۳,۷٪ و ۲,۸٪) و غلظت LDL-C (۱۳,۶٪ و ۲۰,۶٪) در گروه های آنتوسیانین و پلاسبو به ترتیب افزایش و کاهش داد. نتایج متاآنالیز اخیری که توسط cassidy و همکاران بر روی ۹۳۶۰۰ زن ۴۲-۲۵ ساله انجام شد، نشان داد دریافت بالای آنتوسیانین با کاهش خطر انفارکتوس میوکارد (MI) در زنان جوان و میانسال ارتباط دارد (۳۴). در این مطالعه یک ارتباط معکوس بین دریافت بالای آنتوسیانین و خطر MI مشاهده شد. مصرف همزمان ۲ ماده غذایی غنی از آنتوسیانین یعنی زغال اخته و توت فرنگی، زمانی که بیش از ۳ سرویسنگ در هفته مصرف شوند در مقایسه با دریافت کمتر از این میزان، با کاهش خطر MI ارتباط دارد. به ازای هر ۱۵ mg افزایش مصرف آنتوسیانین ها خطر نسبی MI ۱۷٪ کاهش یافت. به علاوه مصرف سایر زیرگروه های فلاونوئیدها ارتباط معنی داری با خطر MI نداشتند. بنابراین با توجه به داده های به دست آمده در این مطالعه و چندین مطالعه دیگر فوق

الذکر، به نظر می رسد پلی فنول ها و ویتامین C موجود در میوه بیشترین اثر احتمالی را در پیشگیری از خطر CVD دارند.

در ارتباط با بهبود سطح کلسترول، فیبر به عنوان ماده ای که بر کاهش کلسترول مؤثر است شناخته شده است (۳۵). کاهش کلسترول تام که در مطالعه ما مشاهده شد، ممکن است حداقل تا اندازه ای به دلیل افزایش دریافت فیبر در طول سی روز باشد. توت فرنگی حدود ۲ گرم فیبر به ازای هر ۱۰۰ گرم میوه تازه فراهم می کند. بنابراین، هر داوطلب حدود ۱۰ گرم فیبر اضافی در روز در طول ۴ هفته مدت مطالعه دریافت کرد و این مورد ممکن است به اثرات کاهندگی کلسترول توت فرنگی کمک کرده باشد.

آسیب اکسیداتیو غشای گلبول قرمز به دلیل پراکسیداسیون لیپید ها رخ می دهد زیرا این مورد ممکن است از طریق تغییر سیالیت غشا و تغییر عملکرد آنزیم های متصل به غشا و گیرنده ها، سبب اختلال عملکرد غشا شود. این مورد به عنوان یک مکانیسم کلی برای همولیز RBC مطرح می باشد (۳۶). ما اخیراً افزایش معنی دار مقاومت اریتروسیت به همولیز بعد از دوره پاکسازی را گزارش کردیم (۱۶). این فرضیه مطرح شد که ترکیبات بالقوه فعال زیستی که با مصرف توت فرنگی به دست می آیند، زمانی که جذب و متابولیزه می شوند می توانند از طریق اتصال به هسته چربی دوست غشا، در غشای سلولی متجمع شده و سبب تغییر ترکیبات غشایی، سیالیت و عملکرد آن شوند (۳۶و۳۷).

داده های بیشتری برای حمایت از این فرضیه که رژیم غذایی غنی از فیتوکمیکال سبب تغییر در ساختار و عملکرد غشای RBC می شود، لازم است: با این حال اثر مفید توت فرنگی بر RBC در برابر آسیب اکسیداتیو به وضوح مشهود بود.

مطالعات متعددی برای درک اثرات مکمل یاری با توت فرنگی بر عملکرد پلاکتی انجام شده است. اما تا به امروز نتیجه قطعی گرفته نشده است. زیرا تفاوت های مهمی را با توجه به وضعیت سلامت جمعیت مورد مطالعه، مصرف طولانی مدت در برابر دریافت کوتاه مدت توت فرنگی بر ارزیابی عملکرد پلاکتی نشان می دهند (۱۲و۳۸و۳۹). رویکرد ما آنالیز فعالیت پایه پلاکت در افراد سالم بعد از مصرف توت فرنگی بدون دستکاری خارجی، به عنوان یک عامل بازدارنده CVD از طریق رژیم غذایی غنی از آنتی اکسیدان بود.

اگرچه همان طور که انتظار می رفت اکثر پلاکت ها بعد از مداخله در وضعیت استراحت باقی ماندند، ما تغییر معنی داری را در طول دوره مکمل یاری به صورت کاهش معنی دار تعداد پلاکت های فعال شده در مقایسه با مقادیر پایه و دوره پاکسازی مشاهده کردیم. این یافته نشان می دهد که احتمالاً ترکیبات موجود در میوه اثر مطلوبی بر عملکرد پلاکتی اعمال می کند، به این صورت که این سلول ها پاسخ کمتری به تحریک فعال سازی می دهند. اگرچه این تغییر کوچک است، نشان دهنده اثر ویژه ای از درمان می باشد. کاهش معنی دار پلاکت خوشه ای مرکزی بعد از مکمل یاری با توت فرنگی به طور همزمان با کاهش پلاکت دگرانوله شده در مدت مشابه رخ نداد. پلاکت های دگرانوله شده نشان دهنده مرحله بعدی خوشه مرکزی است (۲۷). در حقیقت بعد از فعال سازی که در ساختار توده تاریک مرکزی داخل پلاکت انجام می شود، پلاکت گرانول ها را از دست می دهد. این دو مرحله در زمان مشابه انجام نمی شوند، مرحله خوشه مرکزی بسیار سریع است در حالی که مرحله دگرانوله شدن پلاکت می تواند طولانی تر شود. پلاکت های دگرانوله شده به سرعت P-سلکتین سطحی را از دست می دهند اما هم چنان در گردش خون حضور دارند و به عملکرد خود ادامه می دهد (۳۹). بنابراین ممکن است کاهش پلاکت های فعال شده با کاهش پلاکت های دگرانوله شده مطابقت نداشته باشد.

در طول مطالعه حاضر ما شواهد مناسب جدیدی رو مبنی بر اثرات ۳۰ روز مصرف توت فرنگی بر بهبود کلی وضعیت آنتی اکسیدانی پلاسما نشان دادیم و نقش بالقوه مفید آن را بر بیومارکرهای وضعیت آنتی اکسیدانی، پروفایل لیپیدی و عملکرد پلاکتی مشخص کردیم. به علاوه، اثر بالقوه دریافت توت فرنگی را بر بهبود وضعیت آنتی اکسیدانی RBCها و اثر محافظتی آن را در برابر اکسیداسیون ثابت کردیم. یافته های ارائه شده در اینجا جالب است. زیرا ممکن است تا حدی نقش محافظتی رژیم غنی از میوه و سبزی را در پیشگیری از CVD و سایر بیماری های مزمن وابسته به استرس اکسیداتیو توضیح دهد.

تشکر و قدردانی

ما برای نقد متن مقاله به پروفسور Manuel Villalb (دانشگاه de cordoba) مدیون هستیم. نویسندگان از خانم Belinda Giorgetti برای آماده سازی نمونه ها جهت بررسی با میکروسکوپ الکترونی و خانم

Monica Glebocki برای ویراستاری گسترده متن مقاله کمال تشکر را دارند.

## References


[1] Butler D. UN targets top killers. Nature 2011;477:260–1.

[2] Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, et al, Mediterranean Diet Foundation Expert Group. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. Public Health Nutr 2011;14:2274–84.

[3] Kaliora AC, Dedoussis GVZ, Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. Atherosclerosis 2006;187:1–17.

[4] Giampieri F, Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Quiles JL, Mezzetti B, Battino M. The strawberry: composition, nutritional quality, and impact on human health. Nutrition 2012;28:9–19.

[5] Kalea AZ, Clark K, Schuschke DA,Kristo AS, Klimis-Zacas DJ. Dietary enrichmentwith wild blueberries(Vaccinium angustifolium)affectsthevascular reactivityintheaorta of young spontaneously hypertensive rats. J Nutr Biochem 2010;21:14–22.

[6] Youdim KA, McDonald J, Kalt W, Joseph JA. Potential role of dietary flavonoids in reducing microvascular endothelium vulnerability to oxidative and inflammatory insults. J Nutr Biochem 2002;13:282–8.

[7] Vendrame S, Daugherty A, Kristo AS, Riso P, Klimis-Zacas D. Wild blueberry (Vaccinium angustifolium) consumption improves inflammatory status in the obese Zucker rat model of the metabolic syndrome. J Nutr Biochem 2013. http:// dx.doi.org/10.1016/j.jnutbio.2012.12.010 [Epub ahead of print].

[8] Henning SM, Seeram NP, Zhang Y, Li L, Gao K, Lee RP, et al. Strawberry consumption is associated with increased antioxidant capacity in serum. J Med Food 2010;13:116–22.

[9] Franzini L, Ardigò D, Valtueña S, Pellegrini N, Del Rio D, Bianchi MA, et al. Food selection based on high total antioxidant capacity improves endothelial function in a low cardiovascular risk population. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2012;22:50–7.

[10] Mauray A, Milenkovic D, Besson C, Caccia N, Morand C, Michel F, et al. Atheroprotective effects of bilberry extracts in apo E-deficient mice. J Agric Food Chem 2009;57:11106–11.

[11] Mauray A, Felgines C, Morand A, Mazur A, Scalbert A, Milenkovic D. Bilberry anthocyanin-rich extract alters expression of genes related to atherosclerosis development in aorta of apo E-deficient mice. Nutr Metab Cardiovasc Dis 2012;22:72–80.

[12] Erlund I, Koli R, Alfthan G, Marniemi J, Puukka P, Mustonen P, et al. Favorable effects of berry consumption on platelet function, blood pressure, and HDL cholesterol. Am J Clin Nutr 2008;7:323–31.

[13] Jenkins DJA, Nguyen TH, Kendall CWC, et al. The effect of strawberries in a cholesterol-lowering dietary portfolio. Metabolism 2008;57:1636–44.

[14] Vorchheimer DA, Becker R. Platelets in atherothrombosis. Clin Proc 2006;8:59–68.

[15] Tulipani S, Romandini S, Busco F, Bompadre S, Mezzetti B, Battino M. Ascorbate, not urate, modulates the plasma antioxidant capacity after strawberry intake. Food Chem 2009;117:181–8.

[16] Tulipani S, Alvarez-Suarez JM, Busco F, Bompadre S, Quiles JL, Mezzetti B, et al. Strawberry consumption improves plasma antioxidant status and erythrocyte resistance to oxidative haemolysis in humans. Food Chem 2011;128:180–6.

[17] Tulipani S, Romandini S, Alvarez-Suareza JM, Capocasa F, Mezzetti B, Busco F, et al. Folate content in different strawberry genotypes and folate status in healthy subjects after strawberry consumption. BioFactors 2008;34:47–55.

[18] Tulipani S, Marzban G, Herndl A, Laimer M, Mezzetti B, Battino M. Influence of environmental and genetic factors on health-related compounds in strawberry. Food Chem 2011;124:906–13.

[19] Tulipani S, Mezzetti B, Capocasa F, Bompadre S, Beekwilder J, de Vos CH, et al. Antioxidants, phenolic compounds, and nutritional quality of different strawberry genotypes. J Agric Food Chem 2008;56:696–704.

[20] Slinkard K, Singleton VL. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. Am J Enol Vitic 1977;28:49–55.

[21] Lopes da Silva F, Escribano-Bailon MT, Perez Alonso JJ, Rivas-Gonzalo J, SantosBuelga C. Anthocyanin pigments in strawberry. LWT Food Sci Technol 2007;40: 374–82.
[22] Bompadre S, Leone L, Politi A, Battino MA. Improved FIA-ABTS method for antioxidant capacity determination in different biological samples. Free Radic Res 2004;38:831–8.
[23] Gillespie KM, Chae JM, Ainsworth EA. Rapid measurement of total antioxidant capacity in plant. Nat Protoc 2007;2:867–70.
[24] Benzie IFF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. Anal Biochem 1996;239:70–6.
[25] Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high-performance liquid chromatography. Anal Biochem 2002;311:76–9.
[26] Cesquini M, Torsoni MA, Stoppa GR, Ogo SH. T-BOOH-induced oxidative damage in sickle red blood cells and the role of flavonoids. Biomed Pharmacother 2003;57: 124–9.
[27] Olcay L, Erdemli E, Kesimer M, Büyükasik Y, Okur H, Kalkanoglu HS, et al. High cystine in platelets from patients with nephropathic cystinosis: a chemical, ultrastructural, and functional evaluation. J Clin Pathol 2005;58:939–45.
[28] Bast A, Haenen GR. Ten misconceptions about antioxidants. Trends Pharmacol Sci 2013;34:430–6.
[29] Collins AR, Azqueta A, Langie SA. Effects of micronutrients on DNA repair. Eur J Nutr 2012;51:261–79.
[30] Zunino SJ, Parelman MA, Freytag TL, Stephensen CB, Kelley DS, Mackey BE, et al. Effects of dietary strawberry powder on blood lipids and inflammatory markers in obese human subjects. Br J Nutr 2011;9:1–10.
[31] Basu A, Fu DX, Wilkinson M, Simmons B, Wu M, Betts NM, et al. Strawberries decrease atherosclerotic markers in subjects with metabolic syndrome. Nutr Res 2010;30:462–9.
[32] Youdim KA, Martin A, Joseph JA. Incorporation of the elderberry anthocyanins by endothelial cells increases protection against oxidative stress. Free Radic Biol Med 2000;29:51–60.
[33] Qin Y, Xia M, Ma J, Hao YT, Liu J, Mou HY, et al. Anthocyanin supplementation improves serum LDL- and HDL-cholesterol concentrations associated with the inhibition of cholesteryl ester transfer protein in dyslipidemic subjects. Am J Clin Nutr 2009;90:485–92.
[34] Cassidy A, Mukamal KJ, Liu L, Franz M, Eliassen AH, Rimm EB. High anthocyanin intake is associated with a reduced risk of myocardial infarction in young and middle-aged women. Circulation 2013;127:188–96.
[35] Erkkila AT, Lichtenstein AH. Fiber and cardiovascular disease risk: how strong is the evidence? J Cardiovasc Nurs 2006;21:3–8.
[36] Youdim KA, Shukitt-Hale B, MacKinnon S, Kalt W, Joseph JA. Polyphenolics enhance red blood cell resistance to oxidative stress: in vitro and in vivo. Biochim Biophys Acta 2000;1523:117–22.
[37] Tedesco I, Russo M, Russo P, Iacomino G, Russo GL, et al. Antioxidant effect of red wine polyphenols on red blood cells. J Nutr Biochem 2000;11:114–9.
[38] Ostertag LM, O'Kennedy N, Kroon PA, Duthie GG, de Roos B. Impact of dietary polyphenols on human platelet function—a critical review of controlled dietary intervention studies. Mol Nutr Food Res 2010;54:60–81.
[39] Ellis CL, Edirisinghe I, Kappagoda T, Burton-Freeman B. Attenuation of mealinduced inflammatory and thrombotic responses in overweight men and women