تاثیر مکمل‌یاری با ویتامین C بر میزان کلسترول خون در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با رژیم پر کلسترول

میرهادی خیاط نوری *، رضا جعفری بلویردی

خلاصه

سابقه و هدف: هیپرکلسترولمی یکی از فاکتورهای خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی است و افزایش کلسترول خون سلامت عمومی را تحت تاثیر قرار داده و میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی ـ عروقی را افزایش می‌دهد. تغذیه با رژیم پرکلسترول باعث افزایش میزان LDL و همچنین کاهش فعالیت گیرنده‌های LDL در کبد می‌شود. اکسیداسیون لیپوپروتئین موجود در دیواره عروق، باعث پیشرفت بیماری آتروسکلروز می‌شود. شواهد چندی حاکی از آن است که مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها مانع از هیپرکلسترولمی می‌شود. این مطالعه به بررسی اثر مکمل‌یاری ویتامین C بر میزان لیپیدهای خون در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با رژیم پر کلسترول می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: این تحقیق به روش تجربی انجام و از موش‌های صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۵۰ تا ۳۰۰ گرم استفاده گردید. حیوانات به طور تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شدند. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار آنها قرار داشت و در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت ثابت ۲±۲٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. جیره پایه حاوی گندم، ذرت، سویا، متیونین، لیزین و مخلوط ویتامین و مینرال بود. گروه کنترل فقط جیره پایه و دو گروه جیره پایه به اضافه کلسترول ۱ درصد، که یکی از گروه‌ها فقط کلسترول ۱ درصد (Chol) و گروه بعدی ویتامین C (۲۰۰ mg/kg) ماده خشک جیره) به صورت مکمل به مدت یک ماه دریافت کردند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه و به دنبال آن آزمون مقایسه چندگانه توکی استفاده گردید.

نتایج: ارزیابی غلظت‌های TC، LDL، HDL، VLDL و TG نشان داد که در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول به غیر از HDL و VLDL مقادیر TC، LDL و TG در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش نشان دادند (p<۰/۰۵). در مقایسه با گروه تغذیه شده با رژیم پر کلسترول، مکمل‌یاری با ویتامین C مانع از افزایش مقادیر TC و LDL شده (p<۰/۰۵) و مقدار HDL افزایش یافته و به طور غیرمعنی‌داری مانع از افزایش VLDL و TG گردید.

نتیجه‌گیری: مکمل‌یاری ویتامین C در موش‌های دچار هیپرکلسترولمی مانع از افزایش TC، LDL، VLDL و TG و موجب افزایش غلظت HDL می‌شود. این اثر ویتامین C ممکن است به اثر آنتی‌اکسیدانی و اثر مهاری روی مسیر تولید لیپوپروتئین‌ها مرتبط باشد. البته صحت این موضوع در انسان نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

واژگان کلیدی: هیپرکلسترولمی، مکمل‌یاری ویتامین C، موش صحرایی نر، LDL، HDL

مربی گروه علوم پایه (فارماکولوژی)، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز.

* **نویسنده مسوول:** میرهادی خیاط نوری.

آدرس: تبریز، جاده باسمنج، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه.

پست الکترونیک: Khayat_nouri@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱٤ ۳۰۰ ۵۸۵۵

دورنویس: ۰٤۱۱ ٦۳۷۳۹۳۵

تاریخ دریافت: ۸۵/٤/۱۰

تاریخ پذیرش نهایی: ۸۵/۱۰/۲۷

مقدمه

هیپرکلسترولمی یکی از فاکتورهای خطر بیماری‌های قلبی ـ عروقی است و افزایش کلسترول خون سلامت عمومی را تحت تاثیر قرار داده و میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی ـ عروقی را افزایش می‌دهد [۱، ۲]. هیپرکلسترولمی بیشتر در جوامع صنعتی مشاهده می‌شود که علت اصلی آن تغذیه نامناسب با مواد غذایی غنی از چربی‌های اشباع و یا پرکلسترول است. با توجه به اینکه در کشور ما بیماری‌های قلبی ـ عروقی ناشی از هیپرکلسترولمی شایع است، تحقیق در این مورد امری ضروری به نظر می‌رسد. تغذیه با رژیم‌های پرکلسترول باعث افزایش میزان

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-24]

کلسترول، LDL و تری‌گلیسرید می‌شود [٣]. از طرف دیگر هیپرکلسترولمی فعالیت گیرنده‌های LDL را در کبد کاهش می‌دهد [٣]. همچنین افزایش HDL سرم (بر خلاف LDL) می‌تواند از هیپرکلسترولمی و پیشرفت بیماری‌های قلبی ـ عروقی جلوگیری کند [٤]. افزایش LDL و کاهش HDL سرم، یکی از فاکتورهای خطر اصلی دخیل در بیماری‌های قلبی ـ عروقی به ویژه آتروسکلروز است، که باعث توسعه التهاب و کاهش عملکرد آندوتلیوم و بروز ضایعات گسترده در عروق می‌شود [٥]. اکسیداسیون لیپوپروتئین موجود در دیواره عروق باعث پیشرفت بیماری آتروسکلروز می‌شود. از سوی دیگر، مشخص شده است که مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مختلف وقوع بیماری‌های قلبی ـ عروقی ناشی از هیپرکلسترولمی را در حیوانات آزمایشگاهی کاهش می‌دهد [٦، ٧، ٨]. ویتامین C (اسید آسکوربیک) آنتی‌اکسیدان طبیعی است که نقش بسزایی در مهار اکسیداسیون لیپیدها دارد. بدن انسان به دلیل فقدان آنزیم‌های کلیدی تولید ویتامین C، قادر به تولید این ویتامین نبوده و کمبود این ویتامین باعث ایجاد بیماری‌های مختلف از جمله بیماری‌های قلبی ـ عروقی می‌شود [٩]. ویتامین C یکی از سدهای دفاعی بدن در مقابل پراکسیداسیون لیپیدها بوده و از سوی دیگر موجب احیای شکل غیر فعال ویتامین E به فرم فعال می‌شود [٤]. طی چند سال گذشته برخی از تغییرات سرمی و بافتی مربوط به عوارض ناشی از هیپرکلسترولمی بر روی مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است، که نتایج آنها با یافته‌های بالینی قابل مقایسه است. در یک مطالعه که در سال ١٩٩٨ توسط Gorinstein و همکارانش ارایه گردید، در مدل هیپرکلسترولمی موش صحرایی، تغییرات سرمی لیپوپروتئین مشابه با تغییراتی که در هیپرکلسترولمی انسان بروز می‌نماید، گزارش شد [١٠]. در مطالعه دیگر که توسط Vaskonen و همکارانش در سال ٢٠٠٢ انجام شد، امکان ایجاد آتروسکلروز با جیره خاص هیپرکلسترولمیک در موش صحرایی مهیا گردید [١١] که مشخص شد موش صحرایی می‌تواند علاوه بر مدل‌های هیپرکلسترولمی از نظر مدل‌های آتروسکلروزی نیز حایز اهمیت باشد. اکثر مطالعات انجام یافته در مورد اثرات ویتامین C، بیشتر بر تغییرات بافتی ناشی از هیپرکلسترولمی تاکید داشته‌اند [١٢، ١٣]. در ضمن اکثر مطالعاتی که بر روی هیپرکلسترولمی در مدل‌های موش صحرایی و مدل‌های مختلف دیگر انجام شده است، اثر سایر ویتامین‌ها و یا مواد غذایی مختلف را بررسی کرده است [١٠، ١١، ١٤، ١٥، ١٦]. با توجه به نتایج متناقضی که در مورد مدل‌های مختلف وجود دارد و نیز عدم بررسی تاثیر ویتامین C بر هیپرکلسترولمی موش صحرایی، بر آن شدیم که به بررسی اثر مکمل‌یاری ویتامین C بر میزان کلسترول، LDL، HDL، VLDL و تری‌گلیسرید در موش‌های صحرایی دریافت‌کننده جیره پرکلسترول پرداخته و با بررسی بیوشیمیایی سرم، گامی در جهت درک مکانیسم تاثیر ویتامین C بر هیپرکلسترولمی برداریم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از تعداد ٣٠ سر (n=١٠ برای هر گروه) موش صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ٣٠٠ـ٢٥٠ گرم استفاده گردید. موش‌ها از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه تبریز تهیه شدند. آب و غذا به صورت آزاد در اختیار آنها قرار داشت و در شرایط ١٢ ساعت روشنایی و ١٢ ساعت تاریکی با درجه حرارت ٢±٢٤درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ویتامین C (آسکوربیک اسید)، کلسترول و دی‌اتیل اتر از شرکت Merck خریداری شد. برای اندازه‌گیری پروفایل لیپیدی از کیت‌های آنزیماتیک شرکت زیست‌شیمی استفاده گردید. در ادامه حیوانات به طور تصادفی در ٣ گروه تقسیم شدند، که در هر گروه ١٠ موش قرار داشت. موش‌های گروه کنترل فقط جیره پایه و دو گروه بعدی جیره پایه با کلسترول ١ درصد به ازای جیره پایه دریافت کردند [١٠، ١٤]، به طوری که یکی از دو گروه فقط کلسترول ١ درصد (Chol) و گروه بعدی ویتامین C (٢٠٠mg/kg ماده خشک جیره) به صورت مکمل به مدت یک ماه دریافت کردند. جیره پایه با توجه به احتیاجات غذایی موش‌های صحرایی حاوی گندم، ذرت، سویا، متیونین، لیزین و مخلوط ویتامین و مینرال تهیه شده [١٠] و بدون در نظر گرفتن میزان مصرف غذا و وزن موش‌ها در ابتدا و انتهای مطالعه به طور آزادانه در اختیار موش‌ها قرار گرفت. پس از پایان دوره آزمایش (یک ماه) موش‌ها به مدت ١٦ ساعت شبانه ناشتا مانده و در ساعت ٨ صبح توسط دی‌اتیل اتر بیهوش شده و نمونه خون از دهلیز چپ قلب اخذ گردید [١٠، ١٤]. سرم توسط سانتریفوژ جدا شده و غلظت کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با تراکم بالا (HDL) و تری‌گلیسرید (TG) به روش آنزیمی اندازه‌گیری شده و لیپوپروتئین با تراکم پایین (LDL) و لیپوپروتئین با تراکم بسیار پایین (VLDL) به ترتیب با استفاده از فرمول Friedwald [LDL=TC-HDL-TG/5] [١٧] و Delong [VLDL=TG/6.5] [١٨] به صورت mg/dl محاسبه گردید. از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون‌ها مقایسه‌ای چندگانه Tukey (نرم‌افزار SPSS) جهت تجزیه و تحلیل داده ها استفاده گردید. مقدار $p<0/05$ برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-24]

نتایج

اندازه‌گیری غلظت سرمی TC، LDL، HDL، VLDL و TG در گروه‌های مورد آزمایش نشان می‌دهد که غلظت TC و LDL در گروه دریافت کننده کلسترول بالا (Chol) افزایش (p<۰/۰۰۱)، غلظت TG افزایش (p<۰/۰۱) و مقدار HDL و VLDL در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب کاهش و افزایش غیرمعنی‌دار می‌یابد. در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول همراه با مکمل‌یاری ویتامین C (Chol/vitC) در مقایسه با گروه Chol مقدار TC و LDL کاهش معنی‌دار (p<۰/۰۰۱)، و مقدار HDL، TG و VLDL در مقایسه با گروه Chol تغییر معنی‌داری نشان نداد (جدول شماره ۱).

جدول ۱- اثر مکمل‌یاری ویتامین C بر میزان TC، LDL، VLDL، HDL و TG در سرم موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با رژیم پرکلسترول (۱ درصد جیره).

Diet	TC	LDL	VLDL	HDL	TG
Control	۱۱۲/۸±۲/٤٤	٤۸/۲±۲/٦۱	۱۰/۱۵±۰/٤۱	۵۱/٤±۱*	۲/۷۲
Chol	۲۰۰/۸±۲/۳۲[a]	۱۳٦/٦±۲/۳۹[a]**	۱۱/۹۲±۰/۳	٤۷/۷±۱/۲۵	۷۷/۵±۲[a]
Chol/ Vit C	۱۳۲/۸±۱/۸۲[ab]	٦۵/٦±۱/۸[ab]	۱۰/۷±۰/۱۹	۵۲/۹±۱/۲۳	٦۹/٦±۱/۲٤

* داده‌ها به صورت mean±SD ارایه شده است (n=۱۰ برای هر گروه).

** a: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه کنترل و b: p<۰/۰۵ در مقایسه با گروه Chol است.

Abbreviations: Chol رژیم پرکلسترول، TC کلسترول تام، LDL لیپوپروتئین با تراکم پایین، VLDL لیپوپروتئین با تراکم بسیار پایین، HDL لیپوپروتئین با تراکم بالا، TG تری گلیسرید.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اضافه کردن کلسترول به میزان ۱ درصد در ماده خشک جیره به مدت یک ماه، می‌تواند غلظت لیپیدهای خون را تغییر دهد و در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول مقادیر TC و LDL افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد. این نتایج با یافته‌های Gorinstein [۱۰] و Vaskonen [۱۱] که نشان دادند مقدار TC و LDL در موش‌های تغذیه شده با جیره پرکلسترول افزایش می‌یابد، در توافق است. این عامل وسیعا برای ایجاد مدل‌های حیوانی هیپرکلسترولمی ناشی از جیره پرکلسترول به کار برده می‌شود، که زمینه‌ای را برای مقایسه ماهیت مواد مختلف فراهم می‌کند. در این مطالعه، ویتامین C (آنتی‌اکسیدان هیدروفیلیک) مانع افزایش TC، LDL، VLDL و TG شده و غلظت HDL را افزایش می‌دهد. این نتایج با نتایج Beetens و همکارانش که نشان دادند ویتامین C مانع افزایش کلسترول سرم در خرگوش‌های تغذیه شده با جیره پرکلسترول شده و از توسعه زخم‌های عروقی ناشی از آتروسکلروز جلوگیری می‌کند، در توافق است [۱۳]. Jialal و همکارانش در سال ۱۹۹۱ نشان دادند که ویتامین C مانع افزایش LDL سرم در مدل‌های حیوانی استرس اکسیداتیو می‌شود [۱۹]. افزایش اکسیداسیون LDL یکی از عوارض اصلی هیپرکلسترولمی بوده و فرد را مستعد آتروسکلروز می‌کند [۵، ۲۰، ۲۱]. در مطالعه‌ای که Jarvik و همکارانش در سال ۲۰۰۲ انجام دادند، مشخص گردید که ویتامین C و E موجب افزایش فعالیت آنزیم paraoxonase می‌شود [۲۲]. Paraoxonase یک استراز وابسته به کلسیم می‌باشد که در ساختمان HDL وجود دارد [۲۱، ۲۲]. همچنین Siow و همکارانش در سال ۱۹۹۸ نشان دادند که paraoxonase با مهار تجمع رادیکالهای آزاد و اکسیداسیون LDL از پیشرفت بیماریهای عروقی جلوگیری میکند [۲۳]. از طرف دیگر، ویتامین C موجب کاهش بیان ژن آنزیم‌های مهم دخیل در تولید کلسترول و تری‌گلیسرید در کبد میشود [۲۰]. نقش فعال‌کنندگی ویتامین E (احیای رادیکال توکوفروکسیل به توکوفرول) توسط ویتامین C به خوبی شناخته شده است [٤، ۲۰، ۲٤]. برخی یافتههای بالینی اشاره به نقش حمایتی ویتامین C نسبت به نیتریک اکساید (NO) داشته و معتقدند که ویتامین C با عمل حفاظتی خود، موجب تحریک اتساع رگی شده و از تجمع LDL اکسیده در عروق جلوگیری می‌کند [۲۱، ۲٤]. از این رو نتایج حاصل از این تحقیق ممکن است با تداخل در مکانیسم‌های فوق باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های این مطالعه بیانگر آن است که تجویز ویتامین C در موش‌های دچار هیپرکلسترولمی مانع از افزایش TC، LDL، VLDL و TG و موجب افزایش HDL می‌شود. البته نقش این ویتامین برای جلوگیری از هیپرکلسترولمی در انسان نیاز به بررسی‌های بیشتر دارد.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-24]

References:

[1] Anonymous. Executive summary of the third report of national cholesterol education program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III). ***J Am Med Assoc*** 2001; 285: 2486-2497.
[2] Verschuren WM. Jacobs DR. Bloemberg BP. Kromhout D. Menotti A. AraVanis C. et al. Serum total cholesterol and long-term coronary heart disease mortality in different cultures. Twenty-five-year follow-up of the seven countries study. ***JAMA*** 1995; 274: 131-136.
[3] Grundy SM. Denke MA. Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. ***J Lipid Res*** 1990; 31: 1149-1172.
[4] Devlin TM. Text book of biochemistry with clinical correlations. Third ed. New York: John Wiley: 2006. 256-258.
[5] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990. ***Nature*** 1993; 362: 801-809.
[6] Berliner JA. Navab M. Fogelman AM. Frank JS. Demer LL. Edwards PA. et al. Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics. ***Circulation*** 1995; 91: 2488-2496.
[7] Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. ***N Engl J Med*** 1999; 340: 115-126.
[8] Steinberg D. Parthasarathy S. Carew TE. Khoo JC. Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. ***N Engl J Med*** 1989; 320: 915-924.
[9] Prasad K. Katra J. Oxygen free radicals and hypercholesterolemic atherosclerosis: effect of vitamin E. ***Am Heart J*** 1993; 125: 958-973.
[10] Gorinstein S. Bartnikowska E. Kulasek G. Zemser M. Trakhtenberg S. Dietary persimmon improves lipid metabolism in rats fed diets containing cholesterol. ***J Nutr*** 1998; 128: 2023-2027.
[11] Vaskonen T. Mervaala E. Krogerus L. Karppanen H. Supplementation of plant sterols and minerals benefits obese Zucker rats fed an atherogenic diet. ***J Nutr*** 2002; 132: 231-237.
[12] Hayashi E. Yamada J. Kunitomo M. Terada M. Sato M. Fundamental studies on physiological and pharmacological actions of L-ascorbate 2-sulfate. V. On the hypolipidemic and antiatherosclerotic effects of L-ascorbate 2-sulfate in rabbits. ***Jpn J Pharmacol*** 1978; 28: 61-72.
[13] Beetens JR. Coene MC. Veheyen A. Zonnekeyn L. Herman AG. Vitamin C increases the prostacyclin production and decreases the vascular lesions in experimental atherosclerosis in rabbits. ***Prostaglandins*** 1986; 32: 335-352.
[14] Anderson JW. Jones AE. Riddell-Mason S. Ten different dietary fibers have significantly different effects on serum and liver lipids of cholesterol-fed rats. ***J Nutr*** 1994; 124: 78-83.
[15] Davidson MH. Dugan LD. Burns JH. The hypocholesterolemic effects of beta-glucan in oatmeal and oat bran. A dose-controlled study. ***JAMA*** 1991; 265: 1833-1839.
[16] Tikkanen MJ. Hogstrom P. Toumilehto J. Keinanen-Kiukaanniemi S. Sundvall J. Karppanen H. Effect of a diet based on low-fat foods enriched with nonesterified plant sterols and mineral nutrients on serum cholesterol. ***Am J Cardiol*** 2001; 88: 1157-1162.
[17] Friedwald WT. Levy RI. Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. ***Clin Chem*** 1972; 18: 499-502.
[18] Delong DM. Delong ER. Wood PD. Lippel K. Rifkind BM. A comparison of methods for the estimation of plasma low- and very low-density lipoprotein cholesterol. The Lipid Research Clinics Prevalence Study. ***JAMA*** 1986; 256: 2372-2377.
[19] Jialal I. Grundy SM. Preservation of the endogenous antioxidants in low density lipoprotein by ascorbate but not probucol during oxidative modification. ***J Clin Invest*** 1991; 87: 597-601.
[20] Jacob RA. Sotoudeh G. Vitamin C function and status in chronic disease. ***Nutr Clin Care*** 2002; 5: 66-74.
[21] Asplund K. Antioxidant vitamins in the prevention of cardiovascular disease: a systematic review. ***J Intern Med*** 2002; 251: 372-392.
[22] Jarvik GP. Tsai NT. Mckinstry A. Wani R. Brophy VH. Pichter RJ. Vitamin C and E intake is associated with increased paraoxonase activity. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 2002; 22: 1329-1333.
[23] Siow RC. Sato H. Leake DS. Pearson JD. Bannai S. Mann GE. Vitamin C protects human arterial smooth muscle cells against atherogenic lipoproteins: effects of antioxidant vitamins C and E on oxidized LDL-induced adaptive increases in cystine transport and glutathione. ***Arterioscler Thromb Vasc Biol*** 1998; 18: 1662-1670.
[24] Kaliora AC. Dedoussis GV. Schmidt H. Dietary antioxidants in preventing atherogenesis. ***Atherosclerosis*** 2006; 187: 1-17.

[Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2024-04-24]