

تأثیر مکمل یاری با ویتامین C بر میزان کلسترول خون در موش‌های صحرایی نر تغذیه شده با رژیم پر کلسترول

*
میرهادی خیاط نوری ، رضا جعفری بلوبردی

خلاصه

سابقه و هدف: هیپرکلسترولمی یکی از فاکتورهای خطر بیماری‌های قلبی - عروقی است و افزایش کلسترول خون سلامت عمومی را تحت تاثیر قرار داده و میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های قلبی - عروقی را افزایش می‌دهد. تغذیه با رژیم پر کلسترول 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 مکمل یاری 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 24 ± 2 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) 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 پر کلسترول به غیر از HDL و VLDL مقادیر TC، LDL و TG در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش نشان دادند ($p < 0.05$). در مقایسه با گروه تغذیه شده با رژیم پر کلسترول، مکمل یاری با ویتامین C مانع از افزایش مقادیر TC و LDL شده (۰.۰۵) و مقدار HDL افزایش یافته و به طور غیرمعنی‌داری مانع از افزایش VLDL و TG گردید.

نتیجه‌گیری: مکمل یاری 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 تولید لیپوپروتئین‌ها مرتبط باشد. البته صحبت این موضوع در انسان نیاز به بررسی‌های بیشتری دارد.

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

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

* نویسنده مسؤول: میرهادی خیاط نوری.

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

پست الکترونیک: Khayat_nouri@yahoo.com

تلفن: ۰۹۱۴ ۳۰۰ ۵۸۰۵

دورنویس: ۰۴۱۱ ۶۳۷۳۹۳۵

جوامع صنعتی مشاهده می‌شود که علت اصلی آن تغذیه نامناسب

با مواد غذایی غنی از چربی‌های اشباع و یا پر کلسترول است. با

توجه به اینکه در کشور ما بیماری‌های قلبی - عروقی ناشی از

هیپرکلسترولمی شایع است، تحقیق در این مورد امری ضروری به

نظر می‌رسد. تغذیه با رژیم‌های پر کلسترول باعث افزایش میزان

مقدمه

هیپرکلسترولمی یکی از فاکتورهای خطر بیماری‌های

قلبی - عروقی است و افزایش کلسترول خون سلامت عمومی را

تحت تاثیر قرار داده و میزان مرگ و میر ناشی از بیماری‌های

قلبی - عروقی را افزایش می‌دهد [۱، ۲]. هیپرکلسترولمی بیشتر در

مکمل باری ویتامین C بر میزان کلسترول، LDL، HDL و VLDL و تری گلیسرید در موش‌های صحرایی دریافت کننده جیره پرکلسترول پرداخته و با بررسی بیوشیمیابی سرم، گامی در جهت درک مکانیسم تاثیر ویتامین C بر هیپرکلسترولیمی برداریم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تجربی از تعداد ۳۰ سر (n=10) برای هر گروه موش صحرایی نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۵۰-۳۰۰ 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 ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با درجه حرارت ۲۴±۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. ویتامین C (آسکوربیک اسید)، کلسترول و دی‌اچ‌ال اتر از شرکت Merck خریداری شد. برای اندازه گیری پروفایل لیپیدی از کیت‌های آنژیماتیک شرکت زیست‌شیمی استفاده گردید. در ادامه حیوانات به طور تصادفی در ۳ گروه تقسیم شدند، که در هر گروه ۱۰ موش قرار داشت. موش‌های گروه کنترل فقط جیره پایه و دو گروه بعدی جیره پایه با کلسترول ۱ درصد به ازای جیره پایه دریافت کردند [۱۰، ۱۴] به طوری که یکی از دو گروه فقط کلسترول ۱ درصد (Chol) و گروه بعدی ویتامین C ۲۰۰mg/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 میترال تهیه شده [۱۰] 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 ۱۶ ساعت شبانه ناشتا مانده و در ساعت ۸ صبح توسط دی‌اچ‌ال اتر بیهودش شده و نمونه خون از دهلیز چپ قلب اخذ گردید [۱۰، ۱۴]. سرم توسط سانتیفوژ جدا شده و غلظت کلسترول تام (TC)، لیپوپروتئین با تراکم بالا (HDL) و تری گلیسرید (TG) به روش آنژیمی اندازه گیری شده و لیپوپروتئین با تراکم پایین (LDL) و لیپوپروتئین با تراکم بسیار پایین (VLDL) به ترتیب با استفاده از فرمول $[\text{LDL} = \text{TC} - \text{HDL} - \text{TG}/5]$ Friedwald [۱۷] و $\text{VLDL} = \text{TG}/6.5$ Delong [۱۸] 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 داده‌ها استفاده گردید. مقدار $p < 0.05$ برای تعیین سطح معنی‌داری بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

کلسترول، LDL و تری گلیسرید می‌شود [۳]. از طرف دیگر هیپرکلسترولیمی فعالیت گیرنده‌های LDL را در کبد کاهش می‌دهد [۳]. همچنین افزایش HDL سرم (برخلاف LDL) می‌تواند از هیپرکلسترولیمی و پیشرفت بیماری‌های قلبی - عروقی جلوگیری کند [۴]. افزایش LDL و کاهش HDL سرم، یکی از فاکتورهای خطر اصلی دخیل در بیماری‌های قلبی - عروقی به ویژه آتروسکلرroz است، که باعث توسعه التهاب و کاهش عملکرد آندوتلیوم و بروز ضایعات گسترشده در عروق می‌شود [۵]. اکسیداسیون لیپوپروتئین موجود در دیواره عروق باعث پیشرفت بیماری آتروسکلرزو ز می‌شود. از سوی دیگر، مشخص شده است که مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مختلف وقوع بیماری‌های قلبی - عروقی ناشی از هیپرکلسترولیمی را در حیوانات آزمایشگاهی کاهش می‌دهد [۶، ۷، ۸]. 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 - عروقی می‌شود [۹]. 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 [۴]. طی چند سال گذشته برخی از تغییرات سرمی و بافتی مربوط به عوارض ناشی از هیپرکلسترولیمی بر روی مدل‌های حیوانی مورد بررسی قرار گرفته است، که نتایج آنها با یافته‌های بالینی قابل مقایسه است. در یک مطالعه که در سال ۱۹۹۸ توسط Gorinstein و همکارانش ارایه گردید، در مدل هیپرکلسترولیمی موش صحرایی، تغییرات سرمی لیپوپروتئین مشابه با تغییراتی که در هیپرکلسترولیمی انسان بروز می‌نماید، گزارش شد [۱۰]. در مطالعه دیگر که توسط Vaskonen و همکارانش در سال ۲۰۰۲ انجام شد، امکان ایجاد آتروسکلرزو ز با جیره خاص هیپرکلسترولیمی در موش صحرایی مهبا گردید [۱۱] که مشخص شد موش صحرایی می‌تواند علاوه بر مدل‌های هیپرکلسترولیمی از نظر مدل‌های آتروسکلرزو ز نیز حایز اهمیت پاشد. اکثر مطالعات انجام یافته در مورد اثرات ویتامین C، پیشتر بر تغییرات بافتی ناشی از هیپرکلسترولیمی تاکید داشته‌اند [۱۲، ۱۳]. در ضمن اکثر مطالعاتی که بر روی هیپرکلسترولیمی در مدل‌های موش صحرایی و مدل‌های مختلف دیگر انجام شده است، اثر سایر ویتامین‌ها و یا مواد غذایی مختلف را بررسی کرده است [۱۰، ۱۱، ۱۴، ۱۵، ۱۶]. با توجه به نتایج متناقضی که در مورد مدل‌های مختلف وجود دارد و نیز عدم بررسی تاثیر ویتامین C بر هیپرکلسترولیمی موش صحرایی، بر آن شدیدم که به بررسی اثر

غیرمعنی دار می باشد. در موش های تغذیه شده با رژیم پر کلسترول همراه با مکمل باری ویتامین C (Chol/vitC) در مقایسه با گروه Chol مقدار TC و LDL کاهش معنی دار ($p<0.001$)، و مقدار VLDL، TG و HDL در مقایسه با گروه Chol تغییر معنی داری نشان نداد (جدول شماره ۱).

نتایج

اندازه گیری غلظت سرمی TC، LDL، HDL، TG و TG در گروه های مورد آزمایش نشان می دهد که غلظت TC و LDL در گروه دریافت کننده کلسترول بالا (Chol) افزایش ($p<0.001$)، غلظت TG افزایش ($p<0.01$) و مقدار HDL و VLDL در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب کاهش و افزایش

جدول ۱- اثر مکمل باری ویتامین C بر میزان TC، LDL، HDL، VLDL و TG در سرم موش های صحرابی نر تغذیه شده با رژیم پر کلسترول (۱ درصد جیره).

| Diet | TC | LDL | VLDL | HDL | TG |
|-------------|-------------------------|----------------------------|------------|-----------|---------------------|
| Control | ۱۱۲/۸±۲/۴۴ | ۴۸/۲±۲/۶۱ | ۱۰/۱۵±۰/۴۱ | ۵۱/۴±۱* | ۲/۷۲ |
| Chol | ۲۰۰/۸±۲/۳۲ ^a | ۱۳۷/۶±۲/۹ ^{a, **} | ۱۱/۹۲±۰/۳ | ۴۷/۷±۱/۲۵ | ۷۷/۵±۲ ^a |
| Chol/ Vit C | ۱۳۲/۸±۱/۸ ^{ab} | ۶۵/۶±۱/ ^{ab} | ۱۰/۷±۰/۱۹ | ۵۲/۹±۱/۲۳ | ۶۹/۶±۱/۲۴ |

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

^a: $p<0.05$ در مقایسه با گروه کنترل و ^b: $p<0.05$ در مقایسه با گروه Chol است.

Chol:Abbreviations Rژیم پر کلسترول، TC، LDL، VLDL لیپوپروتئین با تراکم پایین، HDL لیپوپروتئین با تراکم بالا، TG تری گلیسرید.

paraoxonase می شود [۲۷]. یک استراز وابسته به کلسیم می باشد 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 می کند [۲۳]. از طرف دیگر، ویتامین C موجب کاهش بیان ژن آنزیم های مهم دخیل در تولید کلسترول و تری گلیسرید در کبد می شود [۲۰]. نقش فعال کننده ویتامین E (احیای رادیکال توکوفروکسیل به توکوفرون) توسط ویتامین C به خوبی شناخته شده است [۲۰، ۲۱]. برخی یافته های بالینی اشاره به نقش حمایتی ویتامین C نسبت به نیتروک اکساید (NO) داشته و معتقدند که ویتامین C با عمل حفاظتی خود، موجب تحریک اتساع رگی شده و از تجمع اکسیده در عروق جلوگیری می کند [۲۱]. از این رو نتایج حاصل از این تحقیق ممکن است با تداخل در مکانیسم های فوق باشد.

نتیجه گیری

یافته های این مطالعه بیانگر آن است که تجویز ویتامین C در موش های دچار هیپر کلسترولی مانع از افزایش LDL، TC و TG و موجب افزایش HDL می شود. البته نقش این ویتامین برای جلوگیری از هیپر کلسترولی در انسان نیاز به بررسی های بیشتر دارد.

بحث

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اضافه کردن کلسترول به میزان ۱ درصد در ماده خشک جیره به مدت یک ماه، می تواند غلظت لپیدهای خون را تغییر دهد و در موش های تغذیه شده با رژیم پر کلسترول مقادیر LDL و TC افزایش معنی داری نشان می دهد. این نتایج با یافته های Gorinstein [۱۰] و Vaskonen [۱۱] که نشان دادند مقدار LDL و TC در موش های تغذیه شده با جیره پر کلسترول افزایش می باشد، در توافق است. این عامل وسیعی برای ایجاد مدل های حیوانی هیپر کلسترولی ناشی از جیره پر کلسترول به کار برده می شود، که زمینه ای را برای مقایسه ماهیت مواد مختلف فراهم می کند. در این مطالعه، ویتامین C (آنتی اکسیدان هیدروفیلیک) مانع افزایش LDL، VLDL و TG شده و غلظت HDL را افزایش می دهد. این نتایج با نتایج Beetens و همکارانش که نشان دادند ویتامین C مانع افزایش کلسترول سرم در خرگوش های تغذیه شده با جیره پر کلسترول شده و از توسعه زخم های عروقی ناشی از آتروسکلروز جلوگیری می کند، در توافق است [۱۳]. Jialal [۱۳] و همکارانش در سال ۱۹۹۱ نشان دادند که ویتامین C مانع افزایش LDL سرم در مدل های حیوانی استرس اکسیداتیو می شود [۱۹]. افزایش اکسیداسیون LDL یکی از عوارض اصلی هیپر کلسترولی بوده و فرد را مستعد آتروسکلروز می کند [۲۰، ۲۱]. در مطالعه ای که Jarvik و همکارانش در سال ۲۰۰۲ انجام دادند، مشخص گردید که ویتامین C و E موجب افزایش فعالیت آنزیم

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. Vehyeyen 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] Tikkainen 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. Pichler 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 atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2006; 187: 1-17.