Archive of SID

مجلهٔ پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز
دوره ۲۷ شماره ۳ پاییز ۱۳۸۴ صفحات ۳۹- ۳۵

اثر ویتامین A بر زیست-فراهمی آهن نان لواش در سلولهای Caco-2

بهرام پورقاسم گرگری: دانشجوی PhD علوم تغذیه، گروه تغذیه و بیو شیمی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی _ درمانی تبریز: نویسنده رابط
E-mail: bahrampg@yahoo.com
دکتر سلطانعلی محبوب: استاد تغذیه و بیو شیمی، گروه تغذیه و بیو شیمی، دانشکده بهداشت و تغذیه ، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی _ درمانی تبریز
دکتر سید ولی رضویه: استاد یار تغذیه، گروه تغذیه جامعه، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی _ درمانی تبریز
دکتر بهروز نیک نفس: استادیار آناتومی، دانشکده پزشکی و آزمایشگاه بافت و بیولوژی سلولی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی _ درمانی تبریز
حسین کوشاور: مربی گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت و تغذیه، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی _ درمانی تبریز

دریافت: ۸۳/۳/۱۹، باز نگری نهایی: ۸۳/۷/۲۵، پذیرش: ۸۳/۸/۶

چکیده

زمینه و اهداف: فقر آهن و کمبود دریافت ویتامین A شایعترین مشکلات تغذیه‌ای در دنیا و کشور ما محسوب می‌شوند. تداخل ویتامین A با آهن به اثبات رسیده است، ولی مکانیسم دقیق این تداخل مشخص نیست. یکی از محل‌های احتمالی تداخل ویتامین A با آهن می تواند در مرحله جذب آن باشد. با عنایت به این موضوع و با توجه به اینکه در کشور ما تاکنون مطالعه‌ای جهت بررسی زیست-فراهمی عناصر از جمله آهن انجام نگرفته است، لذا مطالعه حاضر به منظور تعیین میزان زیست-فراهمی آهن نان لواش و اثر ویتامین A بر آن انجام گرفت.

روش بررسی: مطالعه در شرایط آزمایشگاهی، تجربی با استفاده از سلولهای Caco-2 و با هضم نمونه نان تحت شرایط مشابه دستگاه گوارش-هضم معدی و هضم روده‌ای-انجام گرفت. سلولها تحت شرایط استاندارد در روی غشاهای کلاژن‌دار ما بین دو اتاقک حفره‌های پلیت‌های ٦ حفره‌ای کشت شدند. بعد از یکپارچگی کامل سلولی، درصد جذب آهن نمونه نان هضم شده با ویتامین A-۱۰۰۰ میکروگرم درصد گرم و نمونه نان بدون ویتامین A با استفاده از کلرید آهن(III) نشان‌دار اندازه‌گیری شد. زیست-فراهمی آهن بصورت درصدی از آهن نشان‌دار اولیه که توسط سلولها برداشت شده و به محیط تحتانی انتقال یافته اند، تعریف شد.

یافته ها: میانگین و انحراف معیار درصد جذب آهن در نمونه نان فاقد ویتامین A(n=۲۳) و نمونه نان حاوی ویتامین A(n=۲۲) به ترتیب: ۱/۷۱±۲/۷۳ و ۳/۲±٦/٦۲ درصد بود($p<۰/۰۰۱$). با ۹۵ درصد اطمینان حدود درصد جذب آهن نان بدون ویتامین A ، ۳/۴۷-۱/۹۹ و با ویتامین A ، ۸/۰۴-۵/۲ درصد بود . ویتامین A بصورت معنی دار باعث افزایش جذب آهن غیر Hem در نان تا حد ۲/٤برابر می‌شد.

نتیجه‌گیری: زیست-فراهمی آهن موجود در نان لواش در سلولهای Caco-2 پایین است ولی با افزایش ویتامین A زیاد می شود. تشابه نتایج مدل Caco-2 با یافته‌های مطالعات انجام گرفته در شرایط بدن حاکی از آن است که این سلولها مدلی مناسب جهت مطالعات مختلف تغذیه‌ای می‌تواند باشد.

کلید واژه‌ها: زیست-فراهمی آهن، نان، ویتامین A، سلولهای Caco-2.

مقدمه

شایعترین مشکل تغذیه ای در دنیا فقر آهن است. حدود ۲ میلیارد انسان به نوعی از عوارض سوء فقر آهن رنج می برند. عواملی چون کمبود دریافت آهن، افزایش نیاز به آهن- به علت مسایل بالینی و فیزیولوژیک- منجر به فقر آهن می شوند (۲-۱). مطالعات در جوامع مختلف و کشور ما حاکی از ان است که دریافت آهن بیشتر از حد نیاز است، ولی با اینحال فقر آهن هنوز مشکل اصلی تغذیه ای محسوب می شود(۵-۳). یکی از دلایل احتمالی این مساله زیست-فراهمی کم آهن دریافتی است(۳). در کشور ما تاکنون مطالعه ای در جهت بررسی زیست-فراهمی عناصر از جمله آهن انجام نگرفته است. کمبود دریافت ویتامین A یکی دیگر از مشکلات شایع تغذیه ای در دنیا و کشور ما محسوب می شود(۳، ۶).

حدود صد سال است که تداخل ویتامین A با آهن و ارتباط آن با فقر آهن و کم خونی فقر آهن نشان داده شده است (۷). در مطالعات مختلفی مکمل ویتامین A به تنهایی یا همراه با آهن باعث بهبودی فقر آهن و کم خونی شده است (۱۰-۸). مکانیسم های متعددی برای توضیح این تداخل اثر مطرح شده است. یکی از این مکانیسم ها تداخل ویتامین A با آهن در مرحله جذب آن است. در بعضی از مطالعات ویتامین A باعث افزایش جذب آهن و زیست-فراهمی آن شده است (١٤-١١). در حالیکه در مطالعات دیگری اثری از ویتامین A بر جذب آهن مشاهده نشده است (۱۷-۱۵).

سلولهای Caco-2 از مخاط کولون مشتق شده و بعد از رشد و تمایز خصوصیات مشابه با سلولهای مخاط روده را پیدا می‌کنند (۲۱-۱۸). از آنجا که مطالعات انسانی جهت بررسی زیست-فراهمی

www.SID.ir

Archive of SID

عناصر از جمله آهن احتیاج به آهن نشان‌دار دارد، لذا استفاده از این مدل در جهت بررسی زیست-فراهمی عناصر مختلف از جمله آهن توصیه شده است. این سلولها در مطالعات مربوط به بررسی زیست-فراهمی آهن و نقش عوامل مختلف بر آن مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۶-۲۲).

با توجه به مطالب فوق در این مطالعه تصمیم گرفته شد تا با استفاده از سلولهای Caco-2 (مدل سلولهای اپیتلیال روده) زیست-فراهمی آهن در یکی از مواد غذایی پر مصرف جامعه ما یعنی نان (۳) تعیین و اثر ویتامین A بر روی آن ارزیابی شود و مدلی مناسب برای بررسی زیست- فراهمی عناصر مختلف از جمله آهن، روی و... ، از مواد غذایی در کشور ایجاد شود.

مواد و روش ها

سلولهای Caco-2 از بانک سلولی ایران واقع در انستیتو پاستور، کلرید آهن نشان دار ($59FeCl_3$) از مرکز تحقیقات هسته‌ای ایران، کیت اندازه‌گیری پروتئین از Bio Rad، فلاسک کشت سلولی، پلیت ٦ حفره‌ای دو خانه و فیلترمحیط کشت از Corning Coster، سرم گوساله گاوی از .Gib Co و بقیه مواد مصرفی تماماً از شرکت Sigma تهیه و خریداری شدند.

کشت سلولهای Caco-2 : سلولهای Caco-2 بحالت فریز در پاساژ ۲۵ خریداری شدند. سلولها ذوب شده و با محیط کشت[1] DMEM حاوی ۱۵٪ سرم گوساله گاوی[2]، ۱٪ محلول آمینواسیدهای غیر ضروری[3]، ۱٪ محلولL-گلوتامین و ۱ ٪ محلول آنتی بیوتیک -آنتی مایکوتیک، شسته شده، سپس با سانتریفوژ جدا شدند. سلولهای جدا شده به داخل فلاسک های کشت سلولی حاوی ۵ سی‌سی محیط اضافه شده و سپس در انکوباتور۳۷ درجه سانتیگراد با ۵ درصدCo2 و ۹۵ درصد جریان هوای معمولی با رطوبت ثابت قرار داده شدند. محیط کشت سلولها هر ۲ روز یکبار عوض شد. بعد از حدود یک هفته سلولها به ۱۰۰-۸۰٪ یکپارچگی در فلاسک‌ها رسیدند. در این مرحله سلولها با محلول تریپسین – EDTA از سطح فلاسک ها جدا شده و به فلاسک های جدید منتقل شدند. عمل پاساژ سلولی حداقل ۱۰ مرتبه انجام شد و از سلولها در پاساژهای ٤٠-۳۵ جهت انجام آزمایشات استفاده شد. سلولها به تعداد $50/000\ cm^2$ به روی غشاهای کلاژن دار شده پلیت های ٦ حفره ای دو خانه منتقل شدند. به قسمت های فوقانی و تحتانی هر حفره۱/۵ و۲/۶ سی سی محیط کشت ریخته و پلیت ها در انکوباتور قرار داده شدند. ۲۱ روز بعد از کشت اولیه، سلولها به یکپارچگی کامل روی غشاهای کلاژن دار رسیده بودند. جهت اطمینان از یکپارچگی کامل سلولی آزمون نشت Phenol red (۲۶) انجام شد. بعد از اطمینان از یکپارچگی کامل سلولی، هضم In vitro نمونه نان انجام شد.

نمونه گیری نان لواش و هضم In vitro نمونه نان: نان لواش از نانوایی گرفته شد. نان گرفته شده در درجه حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۵ ساعت خشک گردید، سپس به صورت کامل با هاون چینی پودر شده و مخلوط گردید. نمونه های یک گرمی از نان پودر شده ، با کلرید سدیم ۱۲۰ میلی مول مخلوط شدند. نمونه ها ۲ قسمت شدند. به قسمتی از آنها ویتامین A به مقدار ۱۰۰۰ میکروگرم درصد گرم- به صورت استر رتینیل استات محلول در آب- اضافه شد. به تمام نمونه ها آهن نشان دار – به مقدار ۰/۱ میکروکوری – اضافه شد. سپس نمونه ها به مدت ۰/۵ ساعت به هم زده شدند. بعد از این عمل هضم معدی به مدت ۲ ساعت با پپسین ـ۱ /۰ گرم پپسین در اسید کلریدریک- و عمل هضم روده ای با محلول پانکراتین و عصاره صفراوی -۰/۱ و ۰/٦ گرم در بی کربنات سدیم- برای مدت ۲ ساعت در انکوباتور شیکر دار انجام گرفت. بعد از انجام کامل عمل هضم نمونه ها سانتریفوژ شده و از محلولهای شفاف فوقانی جهت مطالعه استفاده شد. ۱/۵ سی سی از این محلول به داخل اتاقک فوقانی حفره هااضافه شد. به اتاقک تحتانی ۲/۶ سی سی محلول[4] HBSS با PH=6.7-6.8 ریخته شد. پلیت ها برای یک و نیم ساعت داخل انکوباتور قرار گرفتند. سپس مایعات فوقانی و تحتانی بصورت جداگانه جمع آوری شدند. قسمت فوقانی سلولها با روش Glahn (۲۷) جهت جداسازی آهن جذب نشده ولی واقع در سطح سلولها، شسته شد. خود سلولها با محلول سود ۰/۵ نرمال از غشاها جدا شدند. عمل شمارش آهن نشان دار(شمارش در دقیقه) با گاماکانتر در بیمارستان سینا انجام گرفت. بعد از شمارش رادیو اکتیویته،زیست-فراهمی آهن در گروهها با استفاده از فرمول :

$$\frac{\text{مجموع شمارش در سلول و مایع تحتانی سلول}}{\text{کل شمارش در یک حفره}} \times ۱۰۰$$

محاسبه شد. مقدار پروتئین سلولی در هر حفره با استفاده از کیت پروتئین اندازه‌گیری شد. نتایج جمع آوری و سپس با استفاده از نرم افزار SPSS 11.5 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. میانگین و انحراف معیار زیست-فراهمی آهن درنمونه نان فاقد ویتامینA(n=۲۳) و نمونه نان حاوی ویتامینA(n=۲۲) و همچنین مقدار پروتئین سلولی در سلولهای دو گروه با استفاده از t-test مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته‌ها

آزمون" نشت فنول رد" نشان داد که مقادیر بسیار ناچیز فنول کمتر از ۰/۵ درصد فنول رد محیط فوقانی ـ در محیط تحتانی وجود داشت. متوسط و انحراف معیار مقدار پروتئین سلولی، شمارش رادیواکتیویته در محیط فوقانی، تحتانی، سلولها و کل شمارش رادیو اکتیویته در حفره‌های مربوط به ۲ گروه در جدول ۱ آورده شده است. آزمون آماری حاکی از عدم وجود تفاوت معنی‌دار در میانگین مقدار پروتئین سلولی در بین دو گروه بود. زیست-فراهمی آهن(جمع شمارش در سلول و محیط تحتانی سلول تقسیم برکل آهن نشاندار در هر حفره ضربدر صد) در نان حاوی ویتامینA (n=22) و نان فاقد ویتامین A (n=23) به ترتیب: ۳/٤٠ ± ٦/٦۲ و ۱/۷۱ ± ۲/۷۳ درصد بود. با ۹۵ درصد اطمینان حدود درصد جذب آهن نان بدون ویتامین A،۳/۴۷-۱/۹۹ و با ویتامین A ، ۸/۰۴-۵/۲ درصد بود. که تفاوت از نظر آماری معنی دار می باشد ($p<۰/۰۰۱$). یعنی ویتامین A باعث افزایش جذب آهن تا حد ۲/٤ برابر از نمونه نان می‌شد.

1. DMEM: Dulbeco Modified Eagle Medium
2. FCS: Fetal Calf Serum
3. NEAA: Non Essential Amino Acids
4. HBSS: Hankes Balanced Salt Solution

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار مقدار پروتئین سلولی، شمارش آهن نشان‌دار– در دقیقه– در محیط فوقانی، سلولها ، محیط تحتانی و کل شمارش هر حفره در دو گروه نان حاوی ویتامین A و نان بدون ویتامین A.

شاخص گروهها	پروتئین سلولی (میلی گرم)	شمارش در محیط فوقانی سلول	شمارش در سلولها	شمارش در محیط تحتانی سلول	جمع آهن نشان دار در هر حفره
نان حاوی ویتامین A(n=۲۲)	۱/۳۵ ± ۰/۱۸	۱۱۱۰/۵۵ ± ۱۶۲/۸۸	۶۱/۵۵ ± ۳۲/۹۴	۱۹/۳۶ ± ۱۸/۸۳	۱۱۹۱/۴۵ ± ۱۸۲/۸۷
نان بدون ویتامین A (n=۲۳)	۱/۲۵ ± ۰/۱۷	۱۱۵۷/۷۴ ± ۲۴۱/۴۷	۲۶/۶۱ ± ۲۰/۰۰	۵/۹۱ ± ۴/۱۱	۱۱۹۰/۲۶ ± ۲۴۸/۷۷
تی تست	N S*	N S	p<۰/۰۰	p<۰/۰۰	N S

* غیر معنی دار

بحث

مطالعه از نوع In vitro با استفاده از سلولهای Caco-2 جهت بررسی زیست–فراهمی آهن نان لواش و اثر ویتامین A بر آن بود.سلولهای Caco-2 از مخاط کولون مشتق شده‌اند این سلولها منشأ آدنوکارسینومایی دارند(۱۸). بعد از رشد و تمایز خصوصیات مشابه با سلولهای مخاط روده از قبیل داشتن میکروپرز، ترشح آنزیم‌های مخاطی، اتصالات بین سلولی از نوع اتصالات محکم[1] و بسیاری خصوصیات مشابه دیگر را پیدا می‌کنند (۲۱–۱۹). از آنجا که مطالعات انسانی جهت بررسی زیست–فراهمی عناصر از جمله آهن احتیاج به آهن نشان‌دار دارد و نتایج مطالعات حیوانی چون قابل تعمیم به انسان نیست، لذا استفاده از این مدل در جهت بررسی زیست–فراهمی عناصر مختلف از جمله آهن توصیه شده است. این سلولها در مطالعات مربوط به بررسی زیست–فراهمی آهن و نقش عوامل مختلف بر آن مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۲۶–۲۲).

عامل مهم که در استفاده از این سلولها باید مورد توجه قرار گیرد رسیدن این سلولها به یکپارچگی کامل بعد از کشت است. روشهای مختلفی جهت بررسی یکپارچگی کامل این سلولها وجود دارد، از جمله آنها می‌توان به آزمون" نشت فنول رد" اشاره کرد. در مطالعات مختلف از این شاخص جهت بررسی یکپارچگی سلولی استفاده شده است(۱۵،۲۳،۲۵،۲۶). مقادیر کمتر از ۲٪ در محیط تحتانی نشانگر یکپارچگی سلولی است (۲۵). ارقام بدست آمده مطالعه ما حاکی از یکپارچگی کامل سلولی است.

اصل مهم دیگر در مطالعات برسی زیست–فراهمی آهن هموژن کردن کامل نمونه با آهن نشان دار است.در حقیقت استفاده از آهن نشان دار در بررسی جذب آهن مواد غذائی بر این اصل استوار است که تمام آهن غیر هم مواد غذائی جهت جذب وارد فضایی میشود که به اصطلاح به آن حوض آهن[2] گفته میشود وچون آهن تنها عنصری است که میزان جذب آن تقریباً با میزان زیست–فراهمی آن برابر است (۲۸)،لذا در اکثر مطالعات از "زیست–فراهمی آهن "عوض "جذب آهن" استفاده میشود. آهن غیر هم در مواد غذائی عمدتاً از نوع فریک است(۲۹) لذا در مطالعه از Fe^{3+} نشان دار استفاده شد.

مطالعه ما نشان داد که متوسط درصد جذب آهن نان لواش۲/۷۳٪ (با حدود اطمینان ۹۵ درصد: ۳/۴۷–۱/۹۹) است. درصد جذب آهن غیرهم مواد غذایی کمتر از یک درصد تا صددرصد برآورده شده است(۲۸). نتایج مطالعات مربوط به میزان جذب آهن نان بسیار متفاوت است. Widdowson و همکارانش (۳۰) با روش تعادل دینامیکی جذب آهن نان سفید را در افراد مختلف ۱۴/۰–۲/۳ درصد نشان دادند. Hussain و همکاران (۳۱) با استفاده از آهن نشان دار ۴/۵ ٪(۷/۴–۱/۱) جذب آهن نان سفید را گزارش کرده اند در مطالعه دیگری توسط Callender و همکاران (۳۲) نتایجی شبیه یافته‌های ما بدست آمد. محققین فوق در مطالعه برروی ا فراد سالم و مبتلا به فقر آهن نشان دادند که در افراد سالم ۵/٤–۰ درصد (میانگین ۲/٦٪) و در افراد مبتلا به فقر آهن۱۸/۳–۰ (میانگین ۷ ٪) آهن از نان سفید جذب می‌شود.در مطالعه دیگری (۳۳) آهن از نان حاوی ۱۰٪ سبوس به میزان ۱/۲۶ ٪ جذب شده است. Brune و همکارانش(۳۴) با استفاده از آهن نشاندار جذب آهن نان تهیه شده از آرد ۵۵٪ و۸۵٪ را به ترتیب ۲۲٪ و۸/۹ ٪ نشان دادند. درصد جذب آهن نان با توجه به حضور عوامل مداخله گر در جذب آهن چون اسید فیتیک، پولی فنولها ، ویتامین C ، برخی اسید آمینه ها و ... ، شرایط دستگاه گوارش و نیاز بدن متغیر است(۲۸،۲۹). نتایج مطالعه ما در حد نتایج مطالعات انسانی است.

نتایج مطالعه ما حاکی از اثر معنی‌دار ویتامین A به صورت رتینیل استات ـ۱۰۰۰ میکروگرم به ازای صدگرم ـ در افزایش جذب آهن بود . Garcia – Casal و همکاران (۱۵) در مطالعه‌ای روی سلولهای Caco-2 اثری از ویتامین A ـ بصورت رتینول پالمیتات ـ را در جذب آهن مشاهده نکردند. در این مطالعه بدون حضور عوامل مداخله‌گر در جذب آهن چون اسید فیتیک و اسید تانیک اثر ویتامین A بر جذب آهن بررسی شده و آهن مورد استفاده از نوع آهن فرو ـ بصورت فروس فومارات ـ است .در این مطالعه B– کاروتن حتی با حضور عوامل مداخله‌گر در جذب آهن باعث افزایش جذب آهن شده است.

ساجدیان فرد و همکاران (۱٦) در مطالعه بر روی رتهای کم خون اثری از ویتامین A در جذب آهن مشاهده نکردند. در این مطالعه تفاوتی در درمان کم خونی با مصرف سولفات فرو و ویتامین A از راههای مختلف چون تزریقی و دهانی وجود نداشت، لذا محققین مطالعه بیان داشتند که احتمالاً ویتامین A اثری در جذب آهن ندارد. عدم وجود تفاوت در نتیجه مداخلات جهت درمان کم خونی بیانگر اثر ویتامین A در افزایش جذب آهن از دستگاه گوارش می‌تواند باشد، زیرا که در حالت عادی جذب سولفات فرو از دستگاه گوارش کمتر از مقدار تزریقی است.

Mejia و همکارانش (۱۷) در رت مبتلا به کمبود ویتامین A اثری از مکمل ویتامین A بر جذب آهن را نشان ندادند. در مطالعات

1. Tight Junction
2. Iron Pool

www.SID.ir

Archive of SID

مختلف مدل حیوانی به عنوان مدلی مناسب جهت بررسی عوامل موثر در جذب آهن و تعمیم آنها به انسان گزارش نشده است (۳۵). بر خلاف مطالعات فوق در مطالعات دیگر نتایج شبیه به مطالعه ما بدست آمده است. Layrisse وهمکارانش (۱۱) در مطالعه بر روی انسان اثر بارز ویتامین A را در افزایش جذب آهن نان نشان دادند. در این مطالعه زیست-فراهمی آهن نان غنی شده با ویتامین A بیشتر از نان غنی نشده، حتی در حالتی که با قهوه مصرف می‌شد، بوده است.

Garscia – Casal و همکاران (۱۲) اثر معنی‌دار ویتامین A را در افزایش جذب آهن در انسان نشان دادند. در مطالعه آنها ویتامین A باعث افزایش جذب آهن برنج، گندم و ذرت به ترتیب ۲/۰، ۰/۸ و ۱/٤ برابر می‌شد. اثر B- کاروتن حتی بیشتر بود. مقدار افزایش جذب در اثر B ـ کاروتن برای سه نمونه فوق به ترتیب :۳/۰، ۱/۸ و ۱/۸ برابر بود. Layrisse و همکاران (۱۳) در مطالعه دیگری نشان دادند که ویتامین A می‌تواند باعث کاهش اثرات ممانعتی فیتات و پولی فنولها در جذب آهن شود. افزایش جذب آهن غنی شده در اثر ویتامین A در مطالعه دیگری در روی انسان نشان داده شده است (١٤).

با توجه به نتایج مطالعه ما و مطالعات فوق به نظر می‌رسد که ویتامین A اثرات ممانعتی فیتات را در جذب آهن کاهش می‌دهد . Gascia – Casal و همکاران (۱۲و۱۴) و Layrisse وهمکاران (۱۱و۱۳) بیان داشته اند که احتمالاً ویتامین A در طی هضم با آهن کمپلکس تشکیل داده و در نتیجه از تشکیل کمپلکس فیتات یا سایر عوامل کاهنده با آهن جلوگیری می‌کند. مکانیسم دوم می تواند تشکیل کمپلکس ویتامین A با خود فیتات و پولی فنولها باشد. با توجه به جدید بودن نظریه نقش ویتامین A در جذب آهن موضوع احتیاج به مطالعات بیشتر دارد.

مطالعه ما از لحاظ بررسی درصد جذب آهن نان و کشت سلولهای Caco-2 در پلیت‌های دو حفره‌ای بر روی غشاء کلاژن‌دار و ایجاد محیط مشابه غشای مخاطی روده برای اولین بار در کشور حایز اهمیت است. با ایجاد این مدل امکان انجام مطالعات تغذیه‌ای و حتی دارویی فراهم می‌شود.

نتیجه‌گیری

آهن موجود در نان لواش زیست-فراهمی پایینی دارد. عواملی چون ویتامین A می‌تواند باعث افزایش درصد جذب آهن نان در مدل In vitro با استفاده از سلولهای Caco-2 شود. از آنجا که امروز برنامه غنی‌سازی مواد غذایی با آهن در مرحله اجرا است، لزوم بازنگری در این برنامه ها جهت بررسی امکان غنی سازی همزمان آهن و ویتامین A احساس می‌شود، حتی امکان افزایش زیست-فراهمی آهن مواد غذایی تنها با اضافه کردن ویتامین A بایستی ارزیابی شود.

تقدیر و تشکر

انجام دهندگان این تحقیق مراتب تقدیر و سپاس خود را از امنیت غذا و تغذیه استان آذربایجان شرقی که حمایت مالی طرح را برعهده داشت و آزما یشگاه بافت و بیولوزی سلولی مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز که بدون همکاریهای ارزنده‌شان انجام این طرح مقدور نبود، ابراز می‌دارند.

References

1. Mahan LK, Escott – Stump S. Krause's Food, Nutrition, & Diet Therapy. 10 th edition. *W B Saunders Company*, 2000; PP: 70-74,125-131, 782-788.
2. Stoltzfus RJ, Dreyfuss ML. *Guidelines for the use of iron supplements to prevent and treat iron deficiency anemia*. INACG, Washington DC, ILSI press, 2002; PP: 1-2.

۳. قاسمی ح . امنیت غذا و تغذیه کشور، مطالعات الگوی برنامه‌ریزی و اجرا "ماما"، گزارش نهایی طرح. انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، سازمان برنامه و بودجه، تهران، دی‌ماه ۱۳۷۷، صفحات: ۱۵۱،۱۱۸،۹۸،۹۷،۵۴،۲۹.

4. Pourghassem GB, Kimiagar SM, Abolfathi AA, Vallaii N, Gafarour M. Prevalence of iron deficiency, anemia and iron deficiency anemia in high school students in Jolfa, East Azarbaijan. *Food & Nut Bullet* 2000; **21**(3): 301-304.

۵. رسایی ب ، کشاورز ع ، جزایری ۱، غفارپور م . بررسی کیفیت رژیم غذایی بر اساس چگالی ماده مغذی در هفت استان کشور، خلاصه مقالات پنجمین کنگره تغذیه ایران: امنیت غذا و تغذیه خانوار، انستیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور، چاپ اول، تهران ۱۳۷۸، صفحه :۵۱.

6. Reddy V. Vitamin A and iron interactions .International vitamin A consultative group *(IVACG) statement*. USA, 1998.
7. Koessler K, Mauer S, Loughlin R .The relation of anemia primary and secondary to vitamin A deficiency. *J Am Med Assoc* 1926; **87**: 476-82.
8. Mejia LA, Chew F. Hematological effect of supplementing anemic children with vitamin A alone and in combination with iron. *Am J Clin Nutr* 1988; **48**(3): 595-600.
9. Mwanri L, Worsley A, Ryan P, Masika J. Supplemental vitamin A improve anemia and growth in anemic school children in Tanzania. *J Nutr* 2000; **130**: 2691-2696.
10. Ahmed F, Rahman khan M, Jackson AA. Concomitant supplemental vitamin A enhances the response to weekly supplemental iron and folic acid in anemic teenagers in urban Bangladesh. *Am J Clin Nutr* 2001; **74**:108-115.
11. Layrisse M, Garcia-Casal MN, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera, D, et al. The role of

www.SID.ir

Archive of SID

vitamin A on the inhibitors of nonheme iron absorption: preliminary results. *J Nutr Biochem* 1997; **8**: 61-67.
12. Garcia- Casal MN, Layrisse M, Solano L, Baron MA, Arguello F, Llovera D, et al. vitamin A and B –carotene can improve nonheme iron absorption from rice, wheat and corn by humans. *J Nutr*. 1998; **128**(3): 646-650
13. Layrisse M, Garcia- Casal MN, Solano L, Baro MA, Arguello F, Liover D, et al. Vitamin A reduces the inhibition of iron absorption by phytates and polyphenols. *Food & Nutrition Bullet* 1998; **19**(1): 3-5.
14. Garcia- Casal MN, Layrisse M, Pena- Rosas JP, Ramirez J, Leets I, Matus P. Iron absorption from elemental iron – fortified corn flakes in humans. Role of vitamins A and C. *Nutrition Research* 2003; **23**: 451-463.
15. Garcia- Casal MN, Leets I, Layrisse M. B-Carotene and inhibitors of iron absorption modify iron uptake by Caco-2 cells. J Nutr 2000; **130**(1): 5-9.
16. Sajedianfard J, Boroujeni HM, Habibzadeh F. Therapeutic values of different routes of administration of vitamin A with ferrous sulfate in treating deferoxamin- induced iron deficiency anemia. *J Nutr Sci Vitaminol* 1999; **45**(1): 31-7.
17. Mejia LA, Hodges RE, Rucker RB. Role of vitamin A in the absorption, retention and distribution of iron in the rat. *J Nutr* 1979; **109**: 129-137.
18. Fogh J, Wright WC, Loveless JD. Absence of Hela cell contamination in 169 cell lines derived from human tumors. *J Natl cancer Inst* 1997; **58**(2): 209-214.
19. Pinto M, Robine – Leon S, Appay MD, Kedinger M, Triadou N, Dussaulx E , et al. . Enterocyte- like differentiation and polarization of the human colon carcinoma cell line Caco-2 in culture. *Biol cell* 1983; **47**: 323-330.
20. Hidalgo IJ, Raub TJ, Borchardt RT. Characterization of the human colon carcinoma cell line (Caco-2) as a model system for intestinal epithelial permeability. *Gastroenterology* 1989; **96**: 736-749.
21. Delie F, Rubas W.A human colonic cell line sharing similarities with enterocytes as a model to examine oral absorption: advantages and limitations of the Caco-2 model. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems* 1997; **14**(3): 221-286.
22. Alvarez–Hernandez X, Nichols GM, Glass J. Caco-2 cell line: a system for studying intestinal iron transport across epithelial cell monolayers. *Biochimica et Biophysica Acta* 1991; **1070**: 205-208.
23. Garcia MN, Flowers C, Cook JD. The Caco-2 cell culture system can be used as a model to study food iron availability. *J Nutr* 1996; **126**: 251-58.
24. Glahn RP, Wien EM, Van Campen DR, Miller DD.Caco-2 cell iron uptake from meat and casein digests parallels in vivo studies: use of a novel in vitro method for rapid estimation of iron bioavailability. *J Nutr* 1996; **126**: 332-339.
25. Ismil M. The use of Caco-2 cells as an in vitro method to study bioavailability of iron. *Mal J Nutr* 1999; **5**: 31-45.
26. Au AP, Reddy MB. Caco-2 cells can be used to assess human iron bioavailability from a semi purified meal. *J Nutr* 2000; **130**:1329-1334.
27. Glahn RP, Gangloff MB, Van Campen DR, Miller DD, Wien EM, Norvell WA. Removal of surface-bound iron from Caco-2 cell monolayers. *The FASEB J*, 1995; **9**(4): A 984.
28. Hurrell RF. Bioavailability of iron. *Eur J Clin Nutr* 1999; **51**(supl 1): S4-S8.
29. Benito P, Miller D. Iron absorption and bioavailability: An updated review. *Nutrition research* 1998; **18** (3): 581-603.
30. Widdowson EM, Mc Cance RA. Iron exchanges of adults on white and brown bread diets. *The Lancet* 1942; **16**: 588-590.
31. Hussain R, Walker RB, Layrisse M, Clark P, Finch CA. Nutritive value of food iron. *Am J Clin Nutr* 1965; **16**: 464-471.
32. Callender ST, Warner GT. Iron absorption from bread. *Haematologia* 1971; **5**(4): 369- 375.
33. Bjorn – Rasmnssen E. Iron absorption from wheat bread influence of various amounts of bran. *Nutr Metab* 1974; **16**:101-110.
34. Brune M, Rossander-Hulten L, Halberg L, Gleerup A, Sandberg AS. Iron absorption from bread in humans: inhibiting effects of cereal fiber, phytate and inositol phosphates with different numbers of phosphate groups. *J Nutr* 1992; **122**: 442-449.
35. Reddy MB, Cook JD: Assessment of dietary determinants of nonheme – iron absorption in humans and rats. *Am J Clin Nutr* 1991; **54**: 723 – 728.

www.SID.ir