

## بررسی اثرات L- آرژینین بر سطح لیپیدهای سرمی در حیوانات هیپرکلسترولمیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در مطالعات In Vitro

دکتر احمد موحدیان\*، فوزیه زادهوش\*\*، دکتر غلامعلی نادری\*\*\*،  
دکتر غلامرضا دشتی\*\*\*\*

\* دانشیار گروه بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات علوم دارویی اصفهان، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
\*\* کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
\*\*\* دانشیار بیوشیمی، مرکز تحقیقات قلب و عروق، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
\*\*\*\* استادیار گروه علوم تشریحی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

تاریخ دریافت: 86/4/3

تاریخ پذیرش: 86/6/20

### چکیده

آنتی‌اکسیدان‌ها نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد و حفاظت در برابر بیماری‌های دژنراتیو نشان داده‌اند. مطالعات قبلی حاکی از نقش آنتی‌اکسیدانی بعضی از لسیدهای آمینه بوده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر L-آرژینین بر غلظت لیپیدهای سرم و میزان پراکسیداسیون لیپیدها در حیوانات هیپرکلسترولمیک و همچنین تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی این لسید آمینه به صورت In vitro انجام گرفت.

مقدمه:

تعداد 15 عدد خرگوش سفید از جنس نر (با وزن 1-1/5 کیلوگرم) انتخاب و پس از طی دو هفته دریافت رژیم پایه به طور تصادفی به سه گروه پنج تایی شامل گروه شاهد طبیعی، گروه شاهد هیپرکلسترولمیک و گروه هیپرکلسترولمیک تحت درمان با L-آرژینین تقسیم شدند. حیوانات به مدت 12 هفته تحت رژیم غذایی خاص قرار گرفته، پس از پایان دوره، میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید، کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین (LDL-C)، کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته‌ی بالا (HDL-C)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (AC)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و دی‌ان‌های کونژوگه (CDS) در نمونه‌های سرمی اندازه‌گیری شد. اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف L-آرژینین به صورت In vitro با استفاده از سیستم اریتروسیت انسانی و هپاتوسیت تهیه شده از کبد رت نیز بررسی گردید.

روش‌ها:

میانگین غلظت‌های کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL-C، MDA، CDS و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (AC) در گروه تحت درمان با L-آرژینین در مقایسه با گروه شاهد هیپرکلسترولمیک کاهش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). میزان HDL-C سرم در گروه تحت درمان با لسید آمینه در مقایسه با گروه شاهد هیپرکلسترولمیک تفاوت معنی‌داری نشان نداد. نتایج مطالعات In vitro، حاکی از افزایش اثرات آنتی‌اکسیدانی L-آرژینین توأم با افزایش غلظت آن در محیط آزمایش بوده، در غلظت  $250 \mu\text{mole/l}$  بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد. این نتیجه تأیید کننده‌ی اثرات آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در بخش مطالعات حیوانی می‌باشد.

یافته‌ها:

نتایج به دست آمده حاکی از تأثیر L-آرژینین بر سطح لیپیدهای سرمی و همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی آن در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک می‌باشد.

نتیجه‌گیری:

هیپرکلسترولمیا، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پراکسیداسیون لیپیدها، L-آرژینین

واژگان کلیدی:

تعداد صفحات: 8  
تعداد جدول‌ها: 2  
تعداد نمودارها: -  
تعداد منابع: 22

دکتر احمد موحدیان، دانشکده‌ی داروسازی، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.  
E-mail: movahedian@pharm.mui.ac.ir

آدرس نویسندهٔ مسؤل:

## مقدمه

در طی سالیان متمادی، هیپرکلسترولمیا، به عنوان یک عامل خطرزای جدی برای آترواسکلروز به شمار آمده است. ارتباط مستقیمی بین بالا بودن سطح کلسترول خون و بیماری‌های قلبی عروقی وجود دارد و تغییر عادات غذایی می‌تواند خطر بروز این بیماری‌ها را کاهش دهد (1-2). کلسترول لیپوپروتئین با دانسیته‌ی پایین (LDL-C)، حامل اصلی کلسترول در پلاسما، می‌تواند در ایجاد و توسعه‌ی بیماری‌های دژنراتیو گوناگون نظیر آترواسکلروز، سکته‌ی قلبی و مغزی، سرطان، پیری و دیابت قندی دخالت داشته باشد (3). تعدادی از محققین عقیده دارند که تغییرات اکسیداتیو LDL، فاکتور مهمی در تغییرات آترواسکلروتیک به شمار می‌آید. تغییرات اکسیداتیو LDL، ساختمان آن را تغییر داده، ذرات LDL را جهت برداشت در معرض گیرنده‌های جاروب‌گر (scavenger) موجود در سطح ماکروفازها، سلول‌های اندوتلیال و سلول‌های عضله صاف قرار می‌دهد و منجر به تشکیل سلول‌های کف مانند سرشار از لیپید که علامت ضایعات اولیه‌ی اترواسکلروز است، می‌گردد (4).

پراکسیداسیون لیپیدی شامل مراحل است که رادیکال‌های آزاد با اسیدهای چرب غیر اشباع دارای چند پیوند دوگانه (PUFA) واکنش زنجیری می‌دهند. این واکنش‌های متقابل منجر به نوآرایی‌های مجدد باندهای دوگانه در دی‌ان‌های کونژوگه، تشکیل هیدروپراکسید، تجزیه‌ی لیپید به قسمت‌هایی با وزن مولکولی کم‌تر نظیر کتون‌ها، الکل‌ها، هیدروکربن‌ها، اسیدها و اپوکسیدها و نیز تغییرات در پروتئین آپو-B می‌گردد. میزان پراکسیداسیون لیپید می‌تواند به وسیله‌ی اندازه‌گیری مواد واکنش دهنده با تیوباربتوریک اسید (TBARS) تعیین شود. تعیین مقدار مواد واکنش دهنده

با تیوباربتوریک اسید، توسط واکنش متقابل مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، که محصول دوم تجزیه‌ی هیدروپراکسیدهای لیپیدی با تیوباربتوریک اسید (TBA) است، اندازه‌گیری می‌گردد (5).

بسیاری از گیاهان علفی حاوی ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌باشند و این ترکیبات سلول‌ها را در مقابل اثرات زیان‌آور گونه‌های واکنشی اکسیژن نظیر اکسیژن منفرد، سوپراکسید، رادیکال‌های پراکسیل و هیدروکسیل و پراکسی‌نیتريت محافظت می‌کنند (6-7). از طرفی آنتی‌اکسیدان‌ها گروهی از ترکیبات هستند که تشکیل رادیکال‌های آزاد را مهار کرده، اکسیداسیون ذرات LDL را کاهش می‌دهند (7).

عدم تعادل بین آنتی‌اکسیدان‌ها و گونه‌های واکنشی اکسیژن ناشی از استرس اکسیداتیو، منجر به آسیب سلولی گردیده و بنا به گزارش بسیاری از پژوهشگران، دریافت آنتی‌اکسیدان‌ها، ارتباط معکوسی با بیماری‌های قلبی عروقی و شیوع حملات قلبی داشته است (8). تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که بعضی از اسیدهای آمینه مانند سیستئین (9)، سرین (10)، هیستیدین (11) و تیروزین (12) دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده، قادر به جلوگیری از اکسیداسیون LDL می‌باشند. L-آرژینین نیز یک اسید آمینه‌ی نیمه ضروری است و سوبسترای آنزیم نیتریک‌اکساید سنتاز اندوتلیال (eNOS) و پیش‌ساز اصلی نیتریک‌اکساید (NO<sup>o</sup>) در اندوتلیوم عروق می‌باشد (13). مطالعات انجام شده حاکی از خواص آنتی‌آپوپتوتیک L-آرژینین بوده و نشان داده است که این اسید آمینه باعث افزایش انبساط عضله صاف، مهار بیان مولکول‌های چسبنده و پپتیدهای کموتاکتیک، کاهش بیان اندوتلین I و مهار تجمع پلاکت می‌شود؛ همچنین باعث بهبود عملکرد اندوتلیال در بیماران عروق کرونر گردیده، شریان‌های

آزمایشات بیوشیمیایی گرفتیم. میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید، HDL-C، LDL-C توسط کیت‌های آزمایشگاهی (زیست شیمی و راندوکس) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (16)، مالون‌دی‌آلدئید (17) و دی‌ان‌های کونژوگه (18) بر اساس روش اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی L-آرژینین به صورت *In vitro*، از دو سیستم اریتروسیت انسانی و هپاتوسیت تهیه شده از کبد رات استفاده گردید. بدین منظور غلظت‌های مختلف L-آرژینین از 0/1 تا 10 برابر غلظت فیزیولوژیک ( $10-1000 \mu\text{mole/l}$ ) مورد استفاده قرار گرفت (19). در روش اول گلوبول‌های قرمز تهیه شده تحت تأثیر 2,2-Azobis (2-AmidinoPropane)- (AAPH) dihydrochloride اکسید شده، میزان لیز گلوبولی در حضور غلظت‌های مختلف L-آرژینین مورد بررسی قرار گرفت (16). در روش دوم هپاتوسیت‌های تهیه شده از کبد رات در مجاور Tert-Butyl Hydroperoxide (tBH) انکوبه شده، در حضور غلظت‌های بالا، L-آرژینین میزان MDA تولید شده به عنوان اندکس پراکسیداسیون لیپیدی به روش تیوباربتوریک اسید (TBARS) اندازه‌گیری گردید (20). نتایج به صورت  $\text{Mean} \pm \text{SEM}$  نشان داده شد. اختلاف بین مقادیر به دست آمده در گروه‌های آزمایشی نسبت به گروه شاهد هیپرکلسترولمیک، توسط نرم‌افزار SPSS (SPSS, Inc. Chicago, IL) و با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون‌های شف و توکی، ارزیابی شد و معیار انتخاب معنی‌دار در تمام آزمایشات  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

کرونی آتروماتوز اپی‌کاردیال انسان را متسع می‌نماید (14). در این زمینه، مطالعه‌ی Nigris و همکاران حاکی از اثرات مفید L-آرژینین و بعضی آنتی‌اکسیدان‌ها بر فعالیت آنزیم نیتریک‌اکساید سنتاز اندوتلیال می‌باشد (15)؛ لذا، در این پژوهش اثر اسید آمینه‌ی L-آرژینین بر میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما و پراکسیداسیون لیپید و میزان لیپیدهای سرم در حیوانات هیپرکلسترولمیک مورد مطالعه قرار گرفته است.

### روش‌ها

در این مطالعه‌ی تجربی، 15 خرگوش سفید از جنس نر از انستیتو پاستور تهران تهیه و حدود دو هفته جهت تطابق با محیط و غذا در لانه‌ی حیوانات دانشکده‌ی داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری شد. پس از توزین، حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه پنج تایی تقسیم شدند و به مدت 12 هفته تحت رژیم‌های غذایی خاص قرار گرفتند. گروه‌ها شامل گروه شاهد طبیعی که رژیم غذایی استاندارد دریافت می‌نمود، گروه شاهد هیپرکلسترولمیک که رژیم غذایی استاندارد حاوی 1% کلسترول دریافت می‌نمود (13) و گروه شاهد هیپرکلسترولمیک تحت درمان با L-آرژینین به میزان 1% در آب آشامیدنی (13) بود؛ میزان غذای مصرفی تحت کنترل بود و به میزان 100 g به ازای هر خرگوش در روز در نظر گرفته شد. پودر خالص کلسترول با کد 103672 و پودر خالص L-آرژینین با کد 101542 ساخت شرکت مرک آلمان مورد استفاده قرار گرفت.

در پایان هفته‌ی دوازدهم، خرگوش‌ها را با تزریق پنتوباربتال (500 mg/kg) بیهوش نموده، از قلب تمامی آنها حدود 10 cc نمونه‌ی خون جهت انجام

## یافته‌ها

در مطالعات *in vitro*، اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف L-آرژینین (10-1000  $\mu\text{mol/L}$ ) با استفاده از دو سیستم اریتروسیت و هپاتوسیت بررسی گردید. نتایج به دست آمده حاکی از آن است که L-آرژینین تا سطح 250  $\mu\text{mole/L}$  منجر به افزایش مهار لیز گلبولی و مهار تولید MDA در هپاتوسیت‌ها گردیده است. این نتایج نشان می‌دهد که در غلظت  $\mu\text{mole/L}$  1000 اثر مهاری مشاهده شده توسط L-آرژینین کاهش یافته است (جدول 2).

جدول 2. اثر L-آرژینین بر میزان مهار لیز گلبولی و میزان تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در هپاتوسیت‌ها

غلظت L-آرژینین ( $\mu\text{mol/L}$ )	مهار لیز گلبولی (%)	کاهش MDA (%)
1000	25/0 $\pm$ 0/8	28/0 $\pm$ 0/8
250	38/1 $\pm$ 1/2	31/2 $\pm$ 1/0
125	24/0 $\pm$ 0/7	27/1 $\pm$ 0/7
62/5	20/0 $\pm$ 0/9	25/2 $\pm$ 0/9
10	18/2 $\pm$ 1/1	22/4 $\pm$ 1/5
0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0

نتایج به صورت Mean  $\pm$  SEM نشان داده شده است و هر میانگین حاصل سه بار تکرار آزمایش می‌باشد.

## بحث

مصرف رژیم غذایی غنی از کلسترول، میزان پراکسیداسیون لیپید که خود یکی از مراحل اولیه‌ی

پس از پایان دوره‌ی درمان، فاکتورهای لیپیدی سرم شامل کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL کلسترول، HDL کلسترول و نیز میزان مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه در گروه شاهد هیپرکلسترولمیک در مقایسه با گروه شاهد طبیعی افزایش و میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول 1).

پس از دوازده هفته درمان خرگوش‌ها با L-آرژینین به همراه رژیم پرکلسترول، مقادیر سرمی کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL کلسترول، مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه در گروه تحت درمان با L-آرژینین در مقایسه با گروه شاهد هیپرکلسترولمیک، کاهش معنی‌دار داشت و میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدان سرم افزایش معنی‌داری را نشان داد ( $p < 0/05$ ). میزان HDL کلسترول در گروه تحت درمان با L-آرژینین در مقایسه با گروه شاهد هیپرکلسترولمیک کاهش نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار نبود (جدول 1).

مقایسه‌ی متغیرهای اندازه‌گیری شده در گروه تحت درمان با L-آرژینین با گروه شاهد طبیعی حاکی از اختلاف معنی‌دار در سطح سرمی کلسترول تام، LDL کلسترول و دی‌ان‌های کونژوگه بود (جدول 1).

جدول 1. اثر L-آرژینین بر میزان لیپیدهای سرم، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه در خرگوش‌های هیپر کلسترولمیک

گروه	کلسترول تام (mg/dl)	تری‌گلیسرید (mg/dl)	HDL-C (mg/dl)	LDL-C (mg/dl)	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (%)	مالون دی‌آلدئید ( $\mu\text{mole/L}$ )	دی‌ان‌های کونژوگه ( $\mu\text{mole/L}$ )
شاهد طبیعی (n=5)	235 $\pm$ 17	170 $\pm$ 5	32 $\pm$ 3	167 $\pm$ 18	75/2 $\pm$ 3/7	0/34 $\pm$ 0/03	18/23 $\pm$ 3/45
شاهد (هیپرکلسترولمیک) (n=5)	2400 $\pm$ 351	400 $\pm$ 83	58 $\pm$ 7	2261 $\pm$ 339	23/3 $\pm$ 4/31	1/14 $\pm$ 0/15	80/01 $\pm$ 5/66
تحت درمان با L-آرژینین (n=5)	1435 $\pm$ 201*	220 $\pm$ 19*	39 $\pm$ 3	1351 $\pm$ 199*	58/6 $\pm$ 3/2*	0/33 $\pm$ 0/05*	54/92 $\pm$ 4/03*

\*  $p < 0/05$

+ داده‌ها به صورت Mean  $\pm$  SEM نشان داده شده است.

تحقیق نشان دهنده‌ی تغییر کلی در ذخیره‌ی کلسترول بدن است که احتمال دارد ناشی از مکانیسم‌های جبرانی مانند کاهش در جذب کلسترول اگزوزن یا افزایش در میزان ترشح به مجاری روده‌ای یا هر دو مکانیسم باشد. در مطالعات مختلف اثرات آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در استفاده از مکمل غذایی L-آرژینین به مقدار زیادی به افزایش تولید نیتریک‌اکساید ( $\text{NO}^\circ$ ) نسبت داده شده است (14). در رابطه با اثر آنتی‌اکسیدانی نیتریک‌اکساید ( $\text{NO}^\circ$ ) حاصل از N-گوانیدینینوی انتهایی اسید آمینه‌ی L-آرژینین و اکسیژن مولکولی تحقیقات ثابت کرده‌اند که  $\text{NO}^\circ$ ، یک رادیکال آزاد به نسبت پایدار می‌باشد و در شرایط استرس اکسیداتیو به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بالقوه می‌تواند یک رادیکال آزاد فعال دیگر را خاموش (quench) کرده، از پراکسیداسیون القاء شده به وسیله مس و ماده‌ی اکسیدان AAPH جلوگیری به عمل آورد. احتمال دارد عمل scavenging (جاروب کردن) رادیکال‌های آزاد لیپیدی توسط  $\text{NO}^\circ$  بتواند باعث مهار مراحل آتروژنز به وسیله‌ی مکمل غذایی L-آرژینین گردد (5,21). بر اساس نتایج این پژوهش، به نظر می‌رسد که L-آرژینین به وسیله‌ی ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدی و کاهش تولید مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه توانسته است در شرایط استرس اکسیداتیو در خرگوش‌های هیپرکلسترولمیک اثر آنتی‌اکسیدانی داشته باشد.

مقایسه‌ی متغیرهای اندازه‌گیری شده در گروه تحت درمان با L-آرژینین با گروه شاهد طبیعی حاکی از اختلاف معنی‌دار در سطح سرمی کلسترول تام، LDL کلسترول و دی‌ان‌های کونژوگه می‌باشد؛ شایان ذکر

آترواسکلروز می‌باشد را افزایش می‌دهد (1,4). بر اساس تحقیقات انجام شده، بعضی آنتی‌اکسیدان‌ها به وسیله‌ی جلوگیری از اکسیداسیون LDL، همراه با اثر هیپوکلسترولمیک می‌توانند از آترواسکلروز جلوگیری به عمل آورند (9-12).

نتایج حاصل از این مطالعه حاکی از افزایش فاکتورهای لیپیدی سرم شامل کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL کلسترول، HDL کلسترول و نیز میزان فاکتورهای پراکسیداسیون لیپید شامل مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه و همچنین کاهش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم در گروه شاهد هیپرکلسترولمیک نسبت به گروه شاهد طبیعی می‌باشد (جدول 1). مطالعات انجام شده در این رابطه نشان داده است که رژیم پرکلسترول، منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد (6). در این تحقیق نیز همسو با دیگر تحقیقات، افزایش تولید مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه در گروه هیپرکلسترولمیک تأکیدی بر افزایش روند پراکسیداسیون لیپید متعاقب ایجاد هیپرکلسترولمیا در حیوانات می‌باشد.

پس از طی دوره‌ی درمان خرگوش‌ها با L-آرژینین به همراه رژیم پرکلسترول، مقادیر سرمی پارامترهای کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL کلسترول، مالون‌دی‌آلدئید و دی‌ان‌های کونژوگه در گروه تحت درمان با L-آرژینین در مقایسه با گروه شاهد هیپرکلسترولمیک کاهش معنی‌دار و میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم افزایش معنی‌داری نشان داد ( $p < 0/05$ ). میزان HDL کلسترول در گروه تحت درمان با L-آرژینین در مقایسه با گروه شاهد هیپرکلسترولمیک تغییرات معنی‌داری نشان نداد (جدول 1). اثر هیپوکلسترولمیک L-آرژینین مشاهده شده در این

به نظر می‌رسد در مطالعات *in vitro* مکانیسم‌های توکسیسیته‌ی القاء شده به وسیله‌ی AAPH که یک تولید کننده‌ی رادیکال آزاد محلول در آب است و tBH که یک هیدروپراکسید آلی است، به دلیل القای پراکسیداسیون لیپیدی غشای سلول باشد؛ لذا افزایش میزان درصد مهار لیز گلوبولی و افزایش میزان درصد کاهش MDA توسط L-آرژینین تا سطح  $250 \mu\text{mol/L}$  در این بخش مطالعه، تأییدی بر اثرات آنتی‌اکسیدانی مشاهده شده در بخش مطالعات حیوانی است. مطالعات همه‌گیری شناختی، افزایش دریافت آنتی‌اکسیدان‌ها را با کاهش بیماری‌های قلبی عروقی مرتبط دانسته و نقش اساسی غذاهای حاوی آنتی‌اکسیدان را در جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی، سرطان و بیماری‌های دژنراتیو مشخص ساخته است (7-8). با توجه به اثر آنتی‌اکسیدانی ارزیابی شده در این تحقیق، ممکن است استفاده از L-آرژینین بتواند در ارزیابی و پیگیری بیماری‌های قلبی عروقی که اترواسکلروز در آن نقش به‌سزایی دارد، مفید باشد. از این رو مطالعات بیشتری برای پی‌بردن به عامل مسؤول در فعالیت آنتی‌اکسیدانی و هیپولیپیدمیک L-آرژینین لازم می‌باشد.

است اگر چه مکمل غذایی L-آرژینین منجر به کاهش معنی‌دار عوامل بالا در مقایسه با گروه هیپرکلسترولمیک شده است، ولی نتوانسته است مقادیر مربوط را به سطح سرمی گروه شاهد طبیعی برساند.

نتایج مطالعات *in vitro* نشان می‌دهد که با افزایش غلظت L-آرژینین در محیط آزمایش تا  $250 \mu\text{mol/L}$  میزان درصد مهار لیز گلوبولی و میزان درصد کاهش MDA افزایش می‌یابد، در حالی که در غلظت  $1000 \mu\text{mol/L}$  از این ماده اثر مهاری مشاهده شده کاهش یافته است (جدول 2). این نتایج حاکی از آن است که غلظت‌های بالای L-آرژینین ممکن است نه تنها اثر آنتی‌اکسیدانی نداشته باشد بلکه به عنوان اکسیدان عمل نماید. این اثر می‌تواند به دلیل تولید بیشتر  $\text{NO}^\circ$  به وسیله آنزیم نیتریک اکساید سنتتاز قابل القاء (iNOS) باشد.  $\text{NO}^\circ$  تولید شده توسط iNOS که قسمتی از مراحل التهاب است، با رادیکال سوپراکسید واکنش داده، منجر به تولید رادیکال پراکسی‌نیتريت می‌گردد. رادیکال پراکسی‌نیتريت برای غشاهای سلولی بسیار سمی است و منجر به نیتروزیل شدن پروتئین‌ها، لیز سلول‌های اندوتلیال، اثرات زیان‌آور عروقی و توسعه‌ی روند آترواسکلروز می‌گردد (22).

## منابع

1. Plutzky J. Inflammatory pathways in atherosclerosis and acute coronary syndromes. *Am J Cardiol* 2001; 88(8A):10K-15K.
2. Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354(15):1601-13.
3. Steinberg D. Low density lipoprotein oxidation and its pathobiological significance. *J Biol Chem* 1997; 272(34):20963-66.
4. Keaney JF, Jr. Atherosclerosis: from lesion formation to plaque activation and endothelial

dysfunction. *Mol Aspects Med* 2000; 21(4-5): 99-166.

5. Pinchuk I, Lichtenberg D. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation, evaluation based on kinetic experiments. *Prog Lipid Res* 2002; 41(4):279-314.
6. Hakimoglu F, Kizil G, Kanay Z, Kizil M, Isi H. The effect of ethanol extract of *Hypericum lysimachoides* on lipid profile in hypercholesterolemic rabbits and its *in vitro* antioxidant activity. *Atherosclerosis* 2007; 192 (1): 113-22.

7. Tribble DL. AHA Science Advisory. Antioxidant consumption and risk of coronary heart disease: emphasis on vitamin C, vitamin E, and beta-carotene: A statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation* 1999; 99(4):591-95.
8. Kritharides L, Stocker R. The use of antioxidant supplements in coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2002; 164(2):211-219.
9. Patterson RA, Leake DS. Human serum, cysteine and histidine inhibit the oxidation of low density lipoprotein less at acidic pH. *FEBS-lett.* 1998; 434(3): 317-21.
10. Movahedian A, Naderi GA, Dashti GR, Asgari S, Zadhoosh F. Antioxidant effects of L-Serine against fatty streak formation in hypercholesterolemic animals. *ARIA Atherosclerosis Journal* 2006; 2(3): 126-29.
11. Wade AM, Tucker HN. Antioxidant characteristics of L-Histidine. *J Nutr Biochem* 1998; 9: 308-15.
12. Kapiotis S, Hermann M, Held I, Muhl A, Gmeiner B. Tyrosine: an inhibitor of LDL oxidation and endothelial cell cytotoxicity initiated by superoxide / nitric oxide radicals. *FEBS-lett* 1997; 409: 223-26.
13. Böger RH, Bode-Böger SM, Phivthong-ngam L, Brandes RP, Schwedhelm E, Mügge A, Böhme M, Tsikas D, Frölich JC. Dietary L-arginine and alpha-tocopherol reduce vascular oxidative stress and preserve endothelial function in hypercholesterolemic rabbits via different mechanisms. *Atherosclerosis* 1998; 141(1):31-43.
14. Tousoulis D, Boger RH, Antoniadis C, Siasos G, Stefanadi E, Stefanadis C. Mechanisms of Disease: L-arginine in coronary atherosclerosis-a clinical perspective. *Nature* 2007; 4: 274-283.
15. de Nigris F, Lerman LO, Ignarro SW, Sica G, Lerman A, Palinski W, Ignarro LJ, Napoli C. Beneficial effects of antioxidants and L-Arginine on oxidation sensitive gene expression and endothelial NO synthase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(3): 1420-25.
16. Koga T, Moro K, Terao J. Protective effect of a vitamin E analog, phosphatidylchromanol, against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Lipids* 1998; 33(6):589-95.
17. Görög P, Kotak DC, Kovacs IB. Simple and specific test for measuring lipid peroxides in plasma. *J Clin Pathol* 1991; 44(9):765-67.
18. Kostner K, Hornykewycz S, Yang P, Neunteufl T, Glogar D, Weidinger F, Maurer G, Huber K. Is oxidative stress causally linked to unstable angina pectoris? A study in 100 CAD patients and matched controls. *Cardiovasc Res* 1997; 36(3):330-36.
19. Lehmann CA, Saunders Manual of Clinical Laboratory Sciences. 1st edition. Philadelphia: Saunders Company. 1998: 20-1.
20. Joyeux M, Rolland A, Fleurentin J, Mortier F, Dorfman P. tert-Butyl hydroperoxide-induced injury in isolated rat hepatocytes: a model for studying anti-hepatotoxic crude drugs. *Planta Med* 1990; 56(2):171-74.
21. Adams MR, Phu CV, Stocker R, Celermajer DS. Lack of antioxidant activity of the antiatherogenic compound L-arginine. *Atherosclerosis* 1999; 146(2):329-35.
22. Kleinert H, Pautz A, Linker K, Schwarz PM. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. *Eur J Pharmacol* 2004; 500(1-3): 255-66.

Received: 24.6.2007

Accepted: 11.9.2007

## The Effects of L-Arginine on Serum Lipid Levels in Hypercholesterolemic Rabbits and its In vitro Antioxidant Activity

Ahmad Movahedian PhD\*, Fuzieh Zadhoosh \*\*, Gholam Ali Naderi PhD\*\*, Gholam Reza Dashti PhD\*\*\*.

\*Associate Professor of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences

\*\*MSc of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences

\*\*\* Associate Professor of Biochemistry, Isfahan Cardiovascular Research Center, Isfahan University of Medical Sciences

\*\*\*\*Assistant Professor of Anatomy, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences

Background:

### Abstract

Antioxidants play an important role in scavenging of free radicals and protection against degenerative diseases. Previous studies have reported high antioxidant activity in some amino acids. In this study, the effect of L- Arginine (L-Arg) on serum lipid levels and serum lipid peroxidation were investigated in hypercholesterolemic rabbits.

Methods:

A number of 15 rabbits (0.5-1.5 kg) were randomly divided into three groups (n=5) fed high-cholesterol diet (hypercholesterolemic control group), high-cholesterol diet + L-Arg (treatment group), and normal diet (normal control) for twelve weeks and then blood samples were obtained at the end of the experiment to analysis of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), antioxidant capacity (AC), malondialdehyde (MDA), and conjugated diens (CD<sub>s</sub>). Antioxidant effects of L-Arg were investigated by use of erythrocyte and hepatocyte systems.

Findings:

Significant differences were found in serum levels of TC, TG, LDL, AC, MDA, and CDs between L-Arg treatment group and hypercholesterolemic control group. HDL level in treatment group showed no significant difference in comparison to hypercholesterolemic control group. The results of *In vitro* studies also showed increasing L-Arg antioxidant effects with increasing its concentration and the most antioxidant capacity was seen in 250 μmol/L. This finding confirms the observed antioxidant effects of L-Arg in animal studies.

Conclusion:

The findings indicate that L-Arg has reduced effect on serum lipid levels and antioxidant activity in hypercholesterolemic rabbits.

Key words:

**Hypercholesterolemia, antioxidant activity, lipid peroxidation, L-Arginine**

Page count:

8

Tables:

2

Figures:

0

References:

22

Address of Correspondence:

Ahmad Movahedian MD, Associate Professor of Clinical Biochemistry, Isfahan Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy, Isfahan University of Medical Sciences, Iran.  
E-mail: movahedian@pharm.mui.ac.ir