مجله دانشکده پزشکی اصفهان
سال بیست و هشتم/شماره ۱۱۸/هفته دوم بهمن ماه ۱۳۸۹

مقاله پژوهشی
تاریخ دریافت: ۸۹/۸/۲۷ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۲۸

اثر آهن و ویتامین E برروی سطح لیپوپروتئین سرم خرگوش نر تغذیه شده با رژیم غنی از کلسترول*

دکتر غلامرضا دشتی[۱]، دکتر مسعود پورمقدس[۲]، دکترمحمد حسین صانعی[۳]،
دکترمحسن حسینی[۴]، سیدمحمد قیومی[۵]

خلاصه

مقدمه: پراکسیداسیون لیپیدی به وسیله ی رادیکال های آزاد، نقش مهمی را در تشکیل پلاک آترواسکلروز ایفا می کند. مشخص شده که آهن می تواند به طور غیر مستقیم سطح آنتی اکسیدان های پلاسما را کاهش دهد و نیز تاثیر قابل توجهی در پراکسیداسیون LDL دارد.ویتامین E به عنوان یک ویتامین محلول در چربی، یک آنتی اکسیدان بسیار مهم است و از طریق محدود کردن پراکسیداسیون لیپیدی، می تواند از بیماری کرونری قلب پیشگیری نماید.در این مطالعه، ما اثر آهن و ویتامین E را روی سطح لیپیدی های سرم در خرگوش نر تغذیه شده با رژیم پر کلسترول بررسی نمودیم.

روش‌ها: سی عدد خرگوش نر، توزین شده و نمونه ی خونی جهت سنجش لیپو پروتئین های سرم، گرفته شد. سپس به طور تصادفی به ۵ گروه ۶ تایی تقسیم شده و برای ۴۲ روز تحت نظر گرفته شدند. گروه اول ،رژیم عادی دریافت نموده، گروه دوم ،رژیم پر کلسترول (۲٪)، گروه سوم، رژیم پر کلسترول و آهن ($۵۰\frac{mg}{kg}$)، گروه چهارم، رژیم پر کلسترول و ویتامین E ($۵۰\frac{mg}{kg}$) و گروه پنجم، رژیم پر کلسترول و آهن ($۵۰\frac{mg}{kg}$) و ویتامین E ($۵۰\frac{mg}{kg}$) دریافت نمودند.سپس گروه ها مجددا توزین شده و نمونه ی خونی جهت سنجش سطح لیپوپروتئین های سرم گرفته شد.

یافته‌ها: اختلاف قابل توجه در سطح لیپوپروتئین های سرم، قبل و بعد از آزمایش در ۵ گروه دیده شد.

نتیجه‌گیری: ویتامین E نقش محافظت کننده در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی داشته اما آهن، سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی پلاسما می شود.

واژگان کلیدی: کلسترول، آترواسکلروز، آهن ، ویتامین E.

مقدمه

آترواسکلروز سر دسته ی علل مرگ و ناتوانی در کشورهای پیشرفته محسوب می شود (۱). فرآیند آتروژنز در انسان چندین دهه طول می کشد (۲). رگه‌ی چربی (Fatty Streak) نمایانگر ضایعه ی اصلی آترواسکلروز است، که از تجمع موضعی لیپوپروتئین‌ها در نواحی از لایه ی انتیمای شریانی ناشی می شود (۳). اکسیداسیون لیپوپروتئین ها و گلیکاسیون غیر آنزیمی آنها، فرآیند آتروژنز را تسریع می کند. به این ترتیب که موجب تجمع لکوسیت ها در لایه ی چربی می شوند(۳). فاگوسیت های تک هسته ای پس از استقرار در انتیما تبدیل به ماکروفاژ شده، و نهایتا ایجاد سلول های انباشته از چربی یا Foam Calls می نمایند. این سلول ها با جذب چربی از فضای خارج سلولی، سبب برداشتن لیپوپروتئین ها از ضایعه در حال تشکیل می شوند. اما اگر ورود لیپید به شریان، بیش از خروج آن توسط فاگوسیت های تک هسته ای باشد، تجمع لیپیدها منجر به ایجاد آتروم می شود

* این مقاله حاصل پایان‌نامه‌ی دوره‌ی دکترای حرفه‌ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می‌باشد.
[۱] دانشیار، گروه علوم تشریح، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۲] استاد، گروه قلب و عروق، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۳] دانشیار، گروه آسیب شناسی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۴] استادیار، گروه اپیدمیولوژی و آمار محیط زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
[۵] دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.
نویسنده‌ی مسؤول: دکتر غلامرضادشتی
dashti@med.mui.ac.irEmail:

Archive of SID
www.SID.ir

(۴).پراکسیداسیون اسیدی چرب غیر اشباع از عوامل بسیار مهم در تشکیل پلاک آترواسکلروز هستند که توسط رادیکالهای آزاد رخ می دهد. در مقابل، سیستم دفاعی بدن برای مقابله با این رادیکال های آزاد، بعضی آنزیم ها و ویتامین ها هستند، از جمله ی سیستم های دفاعی، ویتامین E، ویتامین C و کاروتئوئیدها می باشند (۷). در مطالعات invitro دیده شده که آهن یا مس برای اکسیداسیون LDL به وسیله ی آندوتلیال، ماکروفاژها و سلول های عضله ی صاف مورد نیاز است (۹).

آهن می تواند پرولیفراسیون عضله ی صاف را تسهیل کند و نیز به طور غیرمستقیم، با کاهش دادن سطح آنتی اکسیدان های پلاسما در پراکسیداسیون LDL تاثیرگذار باشد (۱۰). تحقیقات اولیه بیان می دارد، که ویتامین E ممکن است به کمک محدود نمودن اکسیداسیون LDL در پیشگیری یا به تأخیر بیماری کرونروی قلب موثر باشد (۱۳). با توجه به شیوع آترواسکروز در کشورمان، و نیز آمار فقر آهن در جامعه ی ایران و با توجه به اثر آنتی اکسیدان ویتامینE بر آن شدیم تا تأثیر ویتامین E با دوز نرمال و آهن با دوز نرمال را روی سطح لیپوپروتئین های سرم خرگوش های نر که با رژیم غنی از کلسترول تغذیه شده اند بررسی نماییم.

روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی و به روش نمونه گیری به صورت تصادفی می باشد. جمعیت مورد مطالعه ی ۳۰ عدد خرگوش نر بالغ با سن متوسط ۸ سال، می باشد. در ابتدا، نمونه ی خونی جهت اندازه گیری سطح سرمی (TG, HDL, LDLو کلسترول) از خرگوش ها گرفته شده وسپس آنها را به صورت تصادفی در ۵ گروه ۶ تایی تقسیم نموده و به مدت ۶ هفته، گروه ها تحت رژیم غذایی مخصوصی به شرح روبرو قرار گرفتند: گروه اول غذای معمولی (شاهد)، گروه دوم غذای پر کلسترول (حاوی ۲٪ کلسترول) به همراه غذای معمولی،گروه سوم غذای پر کلسترول (حاوی ۲٪ کلسترول) بهمراه آهن ($\frac{mg}{kg}$ ۵۰)و غذای معمولی،گروه چهارم غذای پر کلسترول (حاوی ۲٪ کلسترول) و ویتامین E ($\frac{mg}{kg}$ ۵۰) و غذای معمولی، گروه پنجم غذای پر کلسترول (حاوی ۲٪ کلسترول) بهمراه آهن ($\frac{mg}{kg}$۵۰)و ویتامین E ($\frac{mg}{kg}$۵۰) و غذای معمولی.

پس از طی شدن زمان فوق الذکر، از حیوانات، نمونه ی خونی مجددگرفته شده و سطح سرمی LDL, HDL, TG و کلسترول اندازه گیری شد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه داده ها بوسیله نرم افزار Spss ورژن ۱۶ انجام گرفت.

یافته‌ها

مقایسه ی میانگین سطح سرمی کلسترول در گروه‌های مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج آماری نشان دادند که در هر پنج گروه قبل و بعد از آزمایش، اختلاف معنی داری وجود داشت ($p<0.001$).

در مقایسه ی بین گروه های ۱ و ۳ و ۴ با ۵ از لحاظ آماری اختلاف معنی داری دیده شد($P <0.05$). ولی در باقی گروه ها اختلاف معنی داری دیده نشد (جدول ۲).

مقایسه ی میانگین سطح سرمی LDL در بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که قبل و بعد از آزمایش در گروه های ۱ و ۲ و ۳ و ۴ اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < ۰۵.۰$) (جدول ۱).

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱. آنالیز آماری سطح سرمی پروفایل چربی، قبل و بعد ازرژیم غذایی

ردیف	رژیم	Cholesterol	LDL	HDL	TG
۱	غذای معمولی	-۰.۰۰۱	۰.۲۴۰	-۰.۰۰۱	۰.۷۹۳
۲	پرکلسترول	**0**	۰.۰۰۵	۰.۰۸۹	۰.۵۳۴
۳	پرکلسترول + آهن	۰۱.۰	۰۰۸.۰	۰۷۲.۰	۰۲۴.۰
۴	پرکلسترول + ویتامین **E**	۰۰۲.۰	۰۰۵.۰	۰۰۵.۰	۸۵۴.۰
۵	پرکلسترول + ویتامین **E** + آهن	۰۳۴.۰	۰۲۴.۰	۲۱۶.۰	۱۱۹.۰

جدول ۲. رابطه کلسترول با رژیم غذایی

ردیف	رژیم	پرکلسترول	پرکلسترول + ویتامین E	پرکلسترول + آهن	پرکلسترول + ویتامین و آهن E	غذای معمولی
۱	غذای معمولی	-	-	-	-	-
۲	پرکلسترول	-	۴۳۹.۰	۷۳۹.۰	۹۱۵.۰	۰۰۸.۰
۳	پرکلسترول + آهن	-	-	-	۹۹۴.۰	۰۷۲.۰
۴	پرکلسترول + ویتامین **E**	-	-	۹۸۷.۰	۸۸۸.۰	۱۴۵.۰
۵	پرکلسترول + ویتامین **E** و آهن	-	-	-	-	۰۳۲.۰

مقایسه ی میانگین سطح سرمی HDL در گروه‌های مورد آزمایش در جدول (۱) نشان داده شده است. نتایج آماری نشان می دهد که در گروه های ۲ و۳ و۵ قبل و بعد از آزمایش، اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < ۰۵.۰$). در مقایسه ی زوج ها بین گروه های ۱ و۲ با گروه ۵ از لحاظ آماری اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < ۰۵.۰$). ولی در بین سایر گروه ها اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۴).

مقایسه ی میانگین سطح سرمی TG در گروه های مورد آزمایش در جدول ۱ نشان داده شده است. نتایج آماری نشان دادند که فقط در گروه ۳، قبل و بعد از آزمایش، اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < ۰.۰۵$). در مقایسه گروه ها بین هیچ کدام از گروه های ۱ تا ۵، اختلاف معنی داری دیده نشد (جدول ۵) ($P < ۰۵.۰$).

جدول ۳. رابطه LDL با رژیم غذایی

ردیف	رژیم	پرکلسترول	پرکلسترول + ویتامین E	پرکلسترول + آهن	پرکلسترول + ویتامین **E** و آهن	غذای معمولی
۱	غذای معمولی	-	-	-	-	-
۲	پرکلسترول	-	۹۹۸.۰	۸۸۶.۰	۸۷۷.۰	۰۲۸.۰
۳	پرکلسترول + آهن	-	-	-	۰۰۰.۱	۱۳۱.۰
۴	پرکلسترول + ویتامین **E**	-	-	۹۵۱.۰	۹۴۵.۰	۰۲۵.۰
۵	پرکلسترول + ویتامین **E** و آهن	-	-	-	-	۱۳۶.۰

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۴. رابطه HDL با رژیم غذایی

ردیف	رژیم	پرکلسترول	پرکلسترول+ ویتامین E	پرکلسترول + آهن	پرکلسترول + ویتامین E و آهن	غذای معمولی
۱	غذای معمولی	-	-	-	-	-
۲	پرکلسترول	-	۰۰۰.۱	۴۵۱.۰	۹۷۹.۰	۰۱۴.۰
۳	پرکلسترول + آهن	-	-	-	۰۰۰.۱	۷۸۶.۰
۴	پرکلسترول + ویتامین E	-	-	۴۰۲.۰	۸۹۰.۰	۰۰۷.۰
۵	پرکلسترول + ویتامین E و آهن	-	-	-	-	۷۰۸.۰

جدول ۵. رابطه TG با رژیم غذایی

ردیف	رژیم	پرکلسترول	پرکلسترول+ ویتامین E	پرکلسترول + آهن	پرکلسترول + ویتامین E و آهن	غذای معمولی
۱	غذای معمولی	-	-	-	-	-
۲	پرکلسترول	-	۹۹۹.۰	۹۹۲.۰	۹۷۹.۰	۹۶۶.۰
۳	پرکلسترول + آهن	-	-	-	۰۰۰.۱	۷۸۶.۰
۴	پرکلسترول+ویتامین E	-	-	۹۳۸.۰	۸۹۰.۰	۹۹۳.۰
۵	پرکلسترول +ویتامین E و آهن	-	-	-	-	۷۰۸.۰

بحث

مطالعه ما نشان داد که در خرگوش های دریافت کننده ی ویتامینE به همراه کلسترول، کاهش قابل توجه در سطح لیپوپروتئین سرم دیده می شود و از سوی دیگر، سطح لیپوپروتئین سرم، در گروه دریافت کننده ی آهن به همراه کلسترول پس از ۶ هفته، افزایش یافت.

پراکسیداسیون لیپیدی یک فرآیند اساسی در آتروژنز است. LDL به وسیله ی واکنش های وابسته به رادیکال های آزاد، دچار تغییر شده و منجر به وقایعی می شود که نقطه ی شروع برای ایجاد و پیشرفت فرآیند آتروژنز است (۱۴).از آنجایی که در پلاسما، آنتی اکسیدان های مختلفی وجود دارد، تصور می شود که اکسیداسیون LDL در گردش خون در حضور تعداد زیادی از آنتی اکسیدان ها محدود می‌شود (۱۴).

تاثیر Vit E روی سطح سرمی لیپوپروتئین ها در چندین مطالعه بررسی شده است (۱۵). در یک مطالعه روی مرغ های نابارور که هایپرلیپیدمی داشتند $\frac{mg}{kg}$ ۱۰۰ ویتامین E، موجب کاهش پراکسیدهای لیپیدی پلاسما گردید. در مطالعه ا ی دیگر (۱۶) به میمون های تغذیه شده با رژیم آتروژنیک، ویتامین E داده شد، که فواید پروفیلاکتیک و درمانی به طوری که هم وقتی در ابتدای مطالعه تجویز گردید و هم بعد از اینکه آترواسکلروز با سونوگرافی کاروتید کشف شد، نشان داده شد.

در یک مطالعه ی اخیر (۱۷) روی خرگوش های تغذیه شده با $\frac{mg}{kg}$ ۳۰ ویتامین E به همراه بتاکاروتن و ویتامین C، کاهش قابل توجهی درسطح سرمی لیپوپروتئین ها در مقایسه با گروه کنترل دیده شد. این یافته ها نشان می دهد درمان با ویتامین E، می تواند به طور مستقل سبب کاهش سطح لیپوپروتئین های پلاسما از طریق کاهش رادیکال های آزاد و

Archive of SID
www.SID.ir

اکسیداسیون LDL گردد. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده که آهن، برای روند پراکسیداسیون لیپیدی توسط سلول های اندوتلیال، ماکروفاژها و عضلات صاف لازم است (۱۸). آهن می تواند به طور غیرمستقیم، از طریق کاهش سطح آنتی اکسیدان های پلاسما، باعث اکسیداسیون LDL شود و یا از طریق تاثیربر روی سطح لیپیدی های گردش خون، باعث پیشرفت آتروژنز شود (۱۹).مطالعات اپیدبیولوژیک به وسیله ی Salonen و همکاران (۲۰) نشان داده که سطح بالای ذخایر آهن اندازه گیری شده با فریتین سرم، ریسک فاکتور مستقلی برای انفارکتوس حاد قلبی است.

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که سطح سرمی لیپوپروتئین خون در حیوانات دریافت کننده ی آهن، افزایش قابل توجهی می یابد. به علاوه ویتامین E، نقش محافظتی در مقابل آترواسکلروز دارد.

References

1. Gerrity RG, Antoniv AS. The pathogenesis of atherosclerosis. Diabetolog ia1997;40: 108110.
2. Glass Ck, Wittum JL. The road a head of call. Atherosclerosis 2001;104:503.
3. Libby P et al: Inflammation and Atherosclerosis . Circulation 2002;105:11- 32.
4. Hansson G, Libby P: The role of the lymphocyte in fuster V,Rose R, topol E (eds):Atherosclerosis and coronary artery disease. Vol 1.New York Lippincott - Raven, 1996.
5. Devies Mj, woolfN, Rowles PM, Pepper J. Morphology of endothelium over atherosclerosis plaques in human coronary arteries. Br Heart J 1988;60:459.
6. Falk E, shah PK, Fuster V. Coronary plaque distruption. Circulation 1998;92:115-126.
7. Leak DS, Rankin SM. The oxidative modification of low density Lipoproteins by macrophages. Bio Chem J 1990;270:741-748.
8. Chalerjea SN.Clin chemistry , Jay pee publishers, medical publications, New Delhi, 1999.
9. Martin A, Frei B. Both Intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cell.
10. Porreca E, Ucchio S, Di Febbo G, Di Bartolome N, Angelucci D Napditano AM. Antiproliferative effect of desferrioxamine on vascular smooth muscle cells invitro and invivo. Biochem J1994;300:799-803.
11. Traber MG and packer L. vitamin E: Beyond antioxidant function. Am J clin Nutr 1995;62:15015-95.
12. Bender DA: Nutritional Biochemistre of Vitamins , 2 nd edition. Cambridge university press. 2003.
13. Jalal I and Fuller CJ. Effect of vitamin E, Vitamin C and beta-carotene on LDL oxidation and atherosclerosis. Can J cardiol 1995;11 suppl G: 976-1036.
14. 14-Manttari M, Manninen V, Huttunen JK, Palosuo T, Ehnholm OP, Heinonen OP, et al. Serum ferritin and ceruloplasmin as coronary risk factors. Eur Heart J 1994;15:1599-603.
15. Singh RB, Niaz MA, Ghosh S, Agrawal P, Ahmad S, Beegom R, Onouchi Z, Jummerow FA. Randomized, controlled trial of antioxidant vitamins and cardioprotective dier on hyperlipidemia, oxidative stress and development of experimental atherosclerosis: The Diet and Antioxidant Trial on Atherosclerosis. Cardiovasc Drug Ther 1995;9:763-771.
16. Gerrity RG, Antoniv AS. The pathogenesis of atherosclerosis.
17. Diabetolog ia , 1997;40: 108-110.
18. Hoff HF. Apolipoprotein localization in human cranial arteries coronary arteries and the aorta. Stroke 1967;7 (4):390-393.
19. Hansson G, Libby P: The role of the lymphocyte in fuster V, Rose R, topol E (eds): Atherosclerosis and coronary artery disease. Vol 1.New York Lippincott - Raven, 1996.
20. Emeson EE, Robertson AL Jr: T Lymphocytes in aortic and coronary in timas. Am J pathol 1988;130:169-376.
21. Devies MJ, WoolfN,Rowles PM, Pepper J. Morphology of endothelium over atherosclerosis plaques in human coronary arteries. Br Heart J 1988; 60:459.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Isfahan Medical School Original Article

Vol 28, No 118, 2nd week, February 2011 Received: 18.11.2010 Accepted: 18.1.2011

Effect of Ferrous and Vitamin E on Rabbit Serum Lipoproteins*

Gholamreza Dashti MD[1], Masoud Poormoghadas MD[2], Mohammad Hosein Sanei MD[3], Mohsen Hoseini MD[4], Seyed Mohammad Ghayoomi[5]

Abstract

Background: Fatty streaks are the primary lesions to form atherosclerosis. Lipid per oxidation by free- radicals, plays an important role in plaque formation. Vitamin E, as a lipid in soluble vitamin, is an important antioxidant and may prevent or delay the coronary heart disease by limiting LDL oxidation. Our goal was to evaluate the effect of vitamin E and iron on blood serum lipids in male rabbits fed high – cholestrol diet.

Method: Thirty white male rabbits were weighed and blood serum samples were taken for analysis of serum lipoproteins. They were randomly divided in to 5 groups each Containing 6 rabbits for 42 days. Group1 was given normal diet, Group2 fed with high cholesterol (%2) diet, Group3fed with high cholesterol diet with iron (50 kg/mg), Group4 fed with high cholesterol diet with vitamin E (50 kg/mg) ,Group5 fed with high cholesterol diet with iron (50 kg/mg) and vitamin E (50 kg/mg). These groups were again weighed and blood samples were taken for analysis of serum lipoproteins after 42 days.

Results: Significant difference in cholesterol, LDL, HDL, TG, VLDL, were seen before and after the experiment in all 5 groups,($p<0/000$).

Conclusion: The significant difference was observed between all groups in relation to the effect of iron and vitamin E on lipid metabolism. While vitamin E has a protective role in atherosclerosis, it seems that iron has a provocation role in serum lipids.

Archive of SID

*This paper drived from a medical Doctorate thesis in Isfahan University of Medical Sciences.

1 Associate Profesor, Department of Anatomical Sciences, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[2] Professor, Department of Cardiovascular, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[3] Associate Professor, Department of Pathology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[4] Associate Professor, Department of Epidemiology & Biostastics, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
[5] Medical Student, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran.
Corresponding Author: Gholamreza Dashti MD, Email: dashti@med.mui.ac.ir

www.SID.ir