

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

دکتر غلامرضا دشتی^۱، دکتر مسعود پورمقدس^۲، دکتر محمد حسین صانعی^۳،
دکتر محسن حسینی^۴، سید محمد 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 پلازما 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.

روش ها: 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 ($50 \frac{mg}{kg}$)، گروه چهارم، رژیم پر کلسترول و ویتامین E ($50 \frac{mg}{kg}$) و گروه پنجم، رژیم پر کلسترول و آهن ($50 \frac{mg}{kg}$) و ویتامین E ($50 \frac{mg}{kg}$) دریافت نمودند. سپس گروه ها مجدداً توزین شده و نمونه ی خونی جهت سنجش سطح لیپوپروتئین های سرم گرفته شد.

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

نتیجه گیری: ویتامین E نقش محافظت کننده در مقابل پراکسیداسیون لیپیدی داشته اما آهن، سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی پلازما می شود.

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

مقدمه

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 نهایتاً ایجاد سلول های انباشته از چربی یا Foam Cells 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

آترواسکلروز سر دسته ی علل مرگ و ناتوانی در کشورهای پیشرفته محسوب می شود (۱). فرآیند آتروژنر در انسان چندین دهه طول می کشد (۲). رگه ی چربی (Fatty Streak) نمایانگر ضایعه ی اصلی آترواسکلروز است، که از تجمع موضعی لیپوپروتئین ها در نواحی از لایه ی انتیمای شریانی ناشی می شود (۳). اکسیداسیون لیپوپروتئین ها و گلیکاسیون غیر آنزیمی آنها، فرآیند آتروژنر را تسریع می کند. به این

* این مقاله حاصل پایان نامه ی دوره ی دکترای حرفه ای در دانشگاه علوم پزشکی اصفهان می باشد.

^۱ دانشیار، گروه علوم تشریح، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۲ استاد، گروه قلب و عروق، دانشکده ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

^۳ دانشیار، گروه آسیب شناسی، دانشکده ی 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.

گرفته شده و سپس آنها را به صورت تصادفی در ۵ گروه ۶ تایی تقسیم نموده و به مدت ۶ هفته، گروه‌ها 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) به همراه آهن ($50 \frac{mg}{kg}$) و غذای معمولی، گروه چهارم غذای پر کلسترول (حاوی ۲٪ کلسترول) و ویتامین E ($50 \frac{mg}{kg}$) و غذای معمولی، گروه پنجم غذای پر کلسترول (حاوی ۲٪ کلسترول) به همراه آهن ($50 \frac{mg}{kg}$) و ویتامین E ($50 \frac{mg}{kg}$) و غذای معمولی.

پس از طی شدن زمان فوق‌الذکر، از حیوانات، نمونه‌ی خونی مجدد گرفته شده و سطح سرمی LDL, HDL, TG و کلسترول اندازه‌گیری شد. آزمون آنالیز واریانس یک طرفه داده‌ها بوسیله نرم افزار Spss ورژن ۱۶ انجام گرفت.

یافته‌ها

مقایسه‌ی 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 معنی‌داری وجود داشت ($p < 0.001$). در مقایسه‌ی بین گروه‌های ۱ و ۳ و ۴ با ۵ از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری دیده شد ($P < 0.05$). ولی در باقی گروه‌ها اختلاف معنی‌داری دیده نشد (جدول ۲). مقایسه‌ی میانگین سطح سرمی LDL در بین گروه‌های مورد آزمایش نشان داد که قبل و بعد از آزمایش در گروه‌های ۱ و ۲ و ۳ و ۴ اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0.05$) (جدول ۱).

(۴). پراکسیداسیون اسیدی چرب غیر اشباع از عوامل بسیار مهم در تشکیل پلاک آترواسکلروز هستند که توسط رادیکالهای آزاد رخ می‌دهد. در مقابل، سیستم دفاعی بدن برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد، بعضی آنزیم‌ها و ویتامین‌ها هستند، از جمله‌ی سیستم‌های دفاعی، ویتامین E، ویتامین C و کاروتنوئیدها می‌باشند (۷). در مطالعات *invitro* دیده شده که آهن یا مس برای اکسیداسیون LDL به وسیله‌ی آندوتلیال، ماکروفاژها و سلول‌های عضله‌ی صاف مورد نیاز است (۹).

آهن می‌تواند پرولیفراسیون عضله‌ی صاف را تسهیل کند و نیز به طور غیرمستقیم، با کاهش دادن سطح آنتی‌اکسیدان‌های پلاسما در پراکسیداسیون LDL تاثیرگذار باشد (۱۰). تحقیقات اولیه بیان می‌دارد، که ویتامین E ممکن است به کمک محدود نمودن اکسیداسیون LDL در پیشگیری یا به تأخیر بیماری کرونری قلب موثر باشد (۱۳). با توجه به شیوع آترواسکلروز در کشورمان، و نیز آمار فقر آهن در جامعه‌ی ایران و با توجه به اثر آنتی‌اکسیدان ویتامین E بر آن شدید تا تأثیر ویتامین E با دوز نرمال و آهن با دوز نرمال را روی سطح لیپوپروتئین‌های سرم خرگوش‌های نر که با رژیم غنی از کلسترول تغذیه شده‌اند بررسی نماییم.

روش‌ها

این مطالعه از نوع تجربی و به روش نمونه‌گیری به صورت تصادفی می‌باشد. جمعیت مورد مطالعه‌ی ۳۰ عدد خرگوش نر بالغ با سن متوسط ۸ سال، می‌باشد. در ابتدا، نمونه‌ی خونی جهت اندازه‌گیری سطح سرمی (LDL, HDL, TG و کلسترول) از خرگوش‌ها

جدول ۱. آنالیز آماری سطح سرمی پروفایل چربی، قبل و بعد از رژیم 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	۰.۱۰	۰.۰۸۰	۰.۷۲۰	۰.۲۴۰
۴	پرکلسترول + ویتامین E	۰.۰۲۰	۰.۰۵۰	۰.۰۵۰	۱۵۴.۰
۵	پرکلسترول + ویتامین E + آهن	۰.۳۴۰	۰.۲۴۰	۰.۲۱۶	۱۱۹.۰

جدول ۲. رابطه کلسترول با رژیم غذایی

ردیف	رژیم	پرکلسترول	پرکلسترول + ویتامین E	پرکلسترول + آهن	پرکلسترول + ویتامین E و آهن	غذای معمولی
۱	غذای معمولی	-	-	-	-	-
۲	پرکلسترول	-	۴۳۹.۰	۷۳۹.۰	۹۱۵.۰	۰.۰۸۰
۳	پرکلسترول + آهن	-	-	-	۹۹۴.۰	۰.۷۲۰
۴	پرکلسترول + ویتامین E	-	-	۹۸۷.۰	۸۸۸.۰	۱۴۵.۰
۵	پرکلسترول + ویتامین E و آهن	-	-	-	-	۰.۳۲۰

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 و ۳ و ۵ قبل و بعد از آزمایش، اختلاف معنی داری وجود دارد ($P < 0.05$). در مقایسه ی زوج ها بین گروه های ۱ و ۲ با گروه ۵ از لحاظ آماری اختلاف معنی داری وجود داشت ($P < 0.05$). 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 ($P < 0.05$). در مقایسه گروه ها بین هیچ کدام از گروه های ۱ تا ۵، اختلاف معنی داری دیده نشد (جدول ۵) ($P < 0.05$).

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	۰.۲۸۰
۳	پرکلسترول + آهن	-	-	-	۰.۰۰۱	۱۳۱.۰
۴	پرکلسترول + ویتامین E	-	-	۹۵۱.۰	۹۴۵.۰	۰.۲۵۰
۵	پرکلسترول + ویتامین E و آهن	-	-	-	-	۱۳۶.۰

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 ویتامین E 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 می شود (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 $100 \frac{mg}{kg}$ ویتامین E، موجب کاهش پراکسیدهای لیپیدی پلاسما گردید. در مطالعه ای 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 $30 \frac{mg}{kg}$ ویتامین E به همراه بتاکاروتن و ویتامین C، کاهش قابل توجهی در سطح 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

بالای ذخایر آهن اندازه گیری شده با فریتین سرم، ریسک فاکتور مستقلی برای انفارکتوس حاد قلبی است.

نتیجه گیری

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.

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 تاثیر بر روی سطح لیپیدی های گردش خون، باعث پیشرفت آتروژنز شود (۱۹). مطالعات اپیدمیولوژیک به وسیله ی Salonen و همکاران (۲۰) نشان داده که سطح

References

- Gerrity RG, Antoniv AS. The pathogenesis of atherosclerosis. *Diabetologia* 1997;40: 108-110.
- Glass CK, Wittum JL. The road a head of call. *Atherosclerosis* 2001;104:503.
- Libby P et al: Inflammation and Atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:11- 32.
- 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.
- Devies MJ, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of endothelium over atherosclerosis plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1988;60:459.
- Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1998;92:115-126.
- Leak DS, Rankin SM. The oxidative modification of low density lipoproteins by macrophages. *Bio Chem J* 1990;270:741-748.
- Chalerjea SN. *Clin chemistry*, Jay pee publishers, medical publications, New Delhi, 1999.
- Martin A, Frei B. Both Intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cell.
- Porreca E, Uccio S, Di Febbo G, Di Bartolomeo N, Angelucci D, Napditano AM. Antiproliferative effect of desferrioxamine on vascular smooth muscle cells invitro and invivo. *Biochem J* 1994;300:799-803.
- Traber MG and packer L. vitamin E: Beyond antioxidant function. *Am J clin Nutr* 1995;62:15015-95.
- Bender DA: *Nutritional Biochemiste of Vitamins*, 2 nd edition. Cambridge university press. 2003.
- 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-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.
- Singh RB, Niaz MA, Ghosh S, Agrawal P, Ahmad S, Beegom R, Onouchi Z, Jumnerow FA. Randomized, controlled trial of antioxidant vitamins and cardioprotective diet on hyperlipidemia, oxidative stress and development of experimental atherosclerosis: The Diet and Antioxidant Trial on Atherosclerosis. *Cardiovasc Drug Ther* 1995;9:763-771.
- Gerrity RG, Antoniv AS. The pathogenesis of atherosclerosis.
- Diabetologia*, 1997;40: 108-110.
- Hoff HF. Apolipoprotein localization in human cranial arteries coronary arteries and the aorta. *Stroke* 1967;7 (4):390-393.
- 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.
- Emeson EE, Robertson AL Jr: T Lymphocytes in aortic and coronary in timas. *Am J pathol* 1988;130:169-376.
- Devies MJ, Woolf N, Rowles PM, Pepper J. Morphology of endothelium over atherosclerosis plaques in human coronary arteries. *Br Heart J* 1988; 60:459.

Effect of Ferrous and Vitamin E on Rabbit Serum Lipoproteins*

Gholamreza Dashti MD¹, Masoud Poormoghadas MD², Mohammad Hosein Sanei MD³,
Mohsen Hoseini MD⁴, Seyed Mohammad Ghayoomi⁵

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 – cholesterol 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, Group3 fed with high cholesterol diet with iron (50 mg/kg), Group4 fed with high cholesterol diet with vitamin E (50 mg/kg), Group5 fed with high cholesterol diet with iron (50 mg/kg) and vitamin E (50 mg/kg). 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.

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

¹ Associate Professor, 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 & Biostatistics, 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