

تاثیر مصرف دراز مدت ویتامین ث بر انقباضات حاصل از کلرید پتاسیم و فنیل افرین در آنورت جدا شده موش صحرائی

دکتر صالح زاهدی اصل^۱، ناصر پژوهی^۲، دکتر محمد بدوی^۳، راحله عصایی^۴

خلاصه

سابقه وهدف: ویتامین ث موثرترین آنتی اکسیدان محلول در آب بوده و مطالعات، نشان دهنده‌ی رابطه‌ی معکوس بین مصرف این ویتامین و بیماری‌های قلبی-عروقی می‌باشد. از این رو تحقیق حاضر در سال ۱۳۸۰ به منظور بررسی اثر مصرف خوراکی ویتامین ث بر قابلیت انقباضی آنورت در موش‌های صحرائی انجام گرفت.

مواد وروش‌ها: ۶۰ موش صحرائی ماده از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم، به یک گروه کنترل و ۵ گروه آزمایش (هر گروه ۱۰ موش) تقسیم شدند. به حیوانات گروه آزمایش به ترتیب به مدت ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸ هفته ویتامین ث ۰/۳ درصد محلول در آب آشامیدنی داده شد. پس از بی‌هوش کردن حیوان با پنتوباریتال سدیم، آنورت سینه‌ای خارج و بعد از زدودن آندوتلیوم، در حمام بافت حاوی محلول کربس ۳۷ درجه سانتی‌گراد با پی اچ ۷/۴ و اکسیژن ۱۰۰ درصد قرار گرفت. مواد محرک شامل کلرید پتاسیم و فنیل افرین با غلظت‌های مختلف به ترتیب پس از یک دوره‌ی بهبودی ۹۰ دقیقه‌ای به حمام بافت اضافه شدند. نتایج با استفاده از آمار توصیفی و تحلیلی، آنالیز واریانس و آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج حاصل از کاربرد غلظت‌های مختلف کلرور پتاسیم و فنیل افرین در گروه کنترل با گروه‌های آزمایش با مصرف ۱ و ۲ هفته ویتامین ث اختلاف معنی‌دار نداشتند. پاسخ انقباضی حاصل از کلرید پتاسیم در غلظت‌های ۶۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مول در لیتر در گروه آزمایش ۳ و ۴ هفته به ترتیب ۲/۲±۰/۲، ۲/۲±۰/۲، ۲/۲±۰/۲ و ۲/۳±۰/۲ و ۱/۹۷±۰/۱، ۱/۹±۰/۱، ۱/۹۷±۰/۱ و در گروه آزمایش ۸ هفته به ترتیب ۰/۱±۰/۱، ۱/۶±۰/۱ و ۱/۶±۰/۱ گرم بر میلی‌متر مربع بود. نتایج انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومول در لیتر فنیل افرین در گروه آزمایش ۳ و ۴ هفته به ترتیب ۳/۲±۰/۱، ۳/۵±۰/۲ و ۲/۷±۰/۱، ۲/۷±۰/۱ و ۳±۰/۱ و در گروه آزمایش ۸ هفته به ترتیب ۲/۵±۰/۲ و ۲/۷±۰/۲ گرم بر میلی‌متر مربع بود. پاسخ انقباضی آنورت در تمام موارد ذکر شده در گروه‌های آزمایش به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر از گروه کنترل بود.

نتیجه‌گیری و توصیه‌ها: افزایش مصرف ویتامین ث می‌تواند قدرت انقباضی عضله‌ی صاف آنورت را کاهش دهد.

واژگان کلیدی: ویتامین ث، آنورت، موش صحرائی

مقدمه

تبدیل آن‌ها به مواد بی‌خطر می‌تواند در جلوگیری از بروز سرطان نقش داشته باشد (۲). اسید آسکوربیک به عنوان یک پاک‌کننده^۱ قوی رادیکال‌های سوپراکساید (O_2^*) عمل می‌کند. با توجه به این که نیتریک اکساید به سرعت با رادیکال‌های آزاد سوپراکساید واکنش داده و تخریب می‌شود، این اثر ویتامین ث سبب حفظ و نگه‌داری نیتریک اکساید و افزایش تولید آن از سلول‌های آندوتلیال عروق می‌شود (۳، ۴). ویتامین ث سبب شل شدن عضله‌ی صاف جدا شده‌ی برونش

ویتامین ث یا اسید آسکوربیک موثرترین آنتی اکسیدان محلول در آب می‌باشد (۱). این ویتامین اولین بار در سال ۱۹۲۸ توسط زنت-گیورگی از بافت‌های گیاهی و جانوری استخراج و در سال ۱۹۳۳ به طور صنعتی ساخته شد (۲). غلظت طبیعی اسید آسکوربیک در پلاسما خون انسان ۱/۶-۰/۸ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (۲). ویتامین ث با احیای مواد سرطان‌زای موجود در غذا مثل نیتروزآمین‌ها و

^۱ Scavenger

^۱ دکترای فیزیولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

^۲ کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان

^۳ دکترای فیزیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اهواز

^۴ دانشجوی دکترای فیزیولوژی، مربی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

محلول فنیل افرین و استیل کولین: محلول فنیل افرین و استیل کولین به صورت روزانه با استفاده از پودر فنیل افرین و استیل کولین (ساخت شرکت سیگما^۲) و آب مقطر تهیه شد.

محلول کلرید پتاسیم: این محلول با استفاده از پودر کلرور پتاسیم (ساخت کارخانه مرک^۳) و آب مقطر در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰، ۷۵ میلی مول در لیتر تهیه و به صورت ذخیره نگاه‌داری شد.

محلول ویتامین ث: روزانه محلول خوراکی ویتامین ث با غلظت ۰/۳ درصد با استفاده از پودر ویتامین ث (ساخت شرکت راج^۴) و آب آشامیدنی شهر تهیه و در ظروف آب تیره رنگ جهت مصرف در اختیار حیوانات قرار داده می‌شد.

روش تهیه بافت و ثبت انقباض: حیوان‌ها با استفاده از پتوباربتال سدیم با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن و به صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. پس از باز کردن قفسه‌ی سینه‌ی حیوان، آئورت سینه‌ای برداشته و بلافاصله درون پتری حاوی محلول کربس اکسیژنه قرار داده شد. پس از جدا کردن بافت‌های پیوندی اطراف آئورت قطعه‌ای به طول ۵ تا ۶ میلی‌متر از وسط آن جدا و لایه‌ی آندوتلیوم آن به وسیله‌ی مالش آئورت به دور یک قطعه سیم نازک زدوده^۵ شد. سپس نمونه‌ی آئورت در حمام بافت (بیوساینس ۶۱۳۰۰) حاوی محلول کربس هانسلیت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پی‌اچ ۷/۴، بین یک پایه‌ی ثابت و یک مبدل ایزومتریک (دینامومتر، هاروارد، UF₁) ثابت و تحت ۲ گرم کشش اولیه قرار گرفت. محلول کربس حاوی فسفات منیزیم، کلرور سدیم، بیکربنات سدیم، کلرور پتاسیم، کلرور کلسیم، فسفات منوپتاسیم و گلوکز (ساخت کارخانه مرک) به ترتیب به مقدار ۱/۲، ۱۱۳، ۷، ۴/۷، ۲/۵، ۱/۲ و ۱۱/۵ میلی‌مول در لیتر بود و با اکسیژن ۱۰۰ درصد اکسیژنه می‌شد. پس از ۹۰ دقیقه دوره‌ی بهبودی^۶، (مدت زمان مورد نیاز برای

خوکچه‌ی هندی می‌شود (۵). در محیط کشت، ویتامین ث به صورت مستقیم و هم‌چنین از طریق تأثیر بر ماتریکس خارج سلولی سبب کاهش تکثیر سلول‌های عضله‌ی صاف عروق در خوکچه‌ی هندی می‌شود (۶). کلاژن و الاستین از اجزای ماتریکس خارج سلولی می‌باشند. ویتامین ث در محیط کشت سلول‌های عضله‌ی صاف آئورت خرگوش سبب افزایش سنتز کلاژن و کاهش الاستین می‌شود (۷). گزارش شده است که ویتامین ث در شرایط مختلف اثرات آنتی‌اکسیدانی و یا پراکسیدانی دارد (۲). با توجه به اثرات ویتامین ث در محیط کشت، در این تحقیق اثر مصرف خوراکی ویتامین ث بر قابلیت انقباضی آئورت در موش‌های صحرایی در سال ۱۳۸۰ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش: این تحقیق تجربی در محیط آزمایشگاه به علت عدم دسترسی به موش‌های صحرایی نر بر روی ۶۰ موش صحرایی ماده از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم انجام شد و به منظور کاهش اثرات احتمالی نوسانات هورمون‌های جنسی از تعداد بیشتری حیوان در هر آزمایش استفاده شد. این حیوانات به شش گروه ده‌تایی تقسیم شدند (یک گروه کنترل و پنج گروه آزمایش) و به صورت ۵ تایی در قفس‌های مخصوص در شرایط ۱۲ ساعت نور، ۱۲ ساعت تاریکی و دمای اتاق 22 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد نگاه‌داری شدند. به حیوانات گروه کنترل و آزمایش غذای معمولی داده شد. حیوانات گروه کنترل آب شهر مصرف می‌کردند ولی به حیوانات گروه‌های آزمایش به ترتیب به مدت ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸ هفته آب حاوی ویتامین ث با غلظت ۰/۳ درصد داده شد. حیوانات در تمام مدت به آب و غذا دسترسی داشتند.

^۴Roche

^۵Denuded

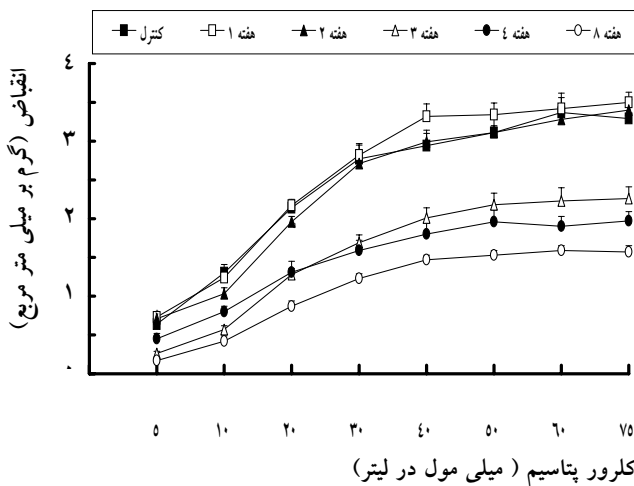
^۶Recovery Period

^۲Sigma

^۳Merk

یافته‌ها

نتایج انقباض‌های حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم بر آنورت: کلرور پتاسیم در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۵ میلی‌مول در لیتر بر بافت آنورت مورد استفاده قرار گرفت. نتایج انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های مختلف کلرور پتاسیم در گروه کنترل با گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی‌دار نداشتند. پاسخ انقباضی حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم در غلظت‌های ۵، ۶۰ و ۷۵ میلی‌مول در لیتر در گروه کنترل به ترتیب $3/1 \pm 0/2$ ، $3/4 \pm 0/3$ و $3/3 \pm 0/2$ گرم بر میلی‌متر مربع بود (تعداد=۱۰). پاسخ انقباضی حاصل از کاربرد غلظت‌های فوق در گروه‌های آزمایش ۳ هفته (تعداد=۹) و ۴ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $2/2 \pm 0/2$ ، $2/3 \pm 0/2$ و $1/96 \pm 0/2$ ، $1/9 \pm 0/1$ ، $1/97 \pm 0/1$ و در گروه آزمایش ۸ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $1/5 \pm 0/1$ ، $1/6 \pm 0/1$ و $1/6 \pm 0/1$ گرم بر میلی‌متر مربع بود. پاسخ انقباضی آنورت به کلرور پتاسیم با استفاده از آزمون توکی و آنالیز واریانس در تمام موارد ذکر شده در گروه‌های آزمایش به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ۱).



نمودار ۱ - مقایسه‌ی انقباض (میانگین \pm خطای معیار) حاصل از کلرور پتاسیم بر آنورت جدا شده‌ی موش صحرائی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت‌کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸

* اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۲، ۳ و ۴ با $P < 0/05$

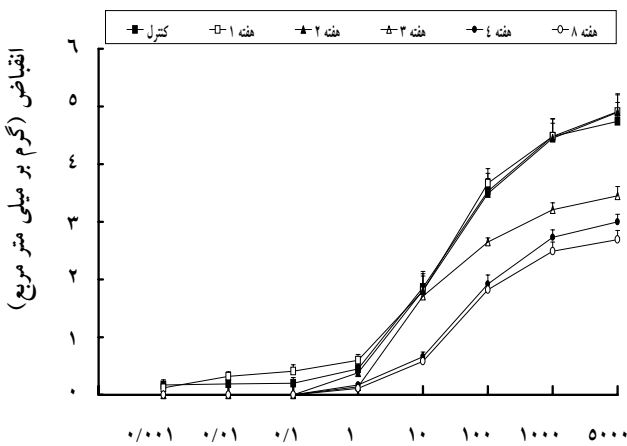
* اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه آزمایش ۸ هفته با $P < 0/05$

از بین رفتن اثرات احتمالی دستکاری نمونه). ابتدا ماده‌ی محرک کلرور پتاسیم در غلظت‌های ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۵ میلی‌مول در لیتر و سپس ماده‌ی محرک فنیل‌افرین در غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۱۰۰ میکرومول و ۱۰، ۱ و ۱۰۰ نانومول، ۱ و ۵ میکرومول در لیتر بر بافت آنورت اعمال شد. پس از ثبت انقباض حاصل از هر غلظت، با استفاده از دستگاه اسیلوگراف (یونیورسال هاروارد)، غلظت جدید یا ماده‌ی جدید پس از طی یک دوره ۴۵-۳۰ دقیقه‌ای (جهت تعادل مجدد بافت) به حمام بافت اضافه می‌شد.

به منظور تایید از بین رفتن لایه‌ی آندوتلیوم، در پایان هر آزمایش ۱ میکرومول در لیتر فنیل‌افرین اضافه شد و پس از رسیدن انقباض حاصل به کفه، ۱۰ میکرومول در لیتر استیل‌کولین اضافه و در صورت عدم کاهش انقباض حاصل، از بین رفتن آندوتلیوم مورد تأیید قرار می‌گرفت.

نحوه‌ی محاسبه‌ی انقباض: پس از پایان آزمایش، طول و وزن نمونه‌ی آنورت تعیین و با استفاده از تقسیم وزن بر حسب میلی‌گرم بر حاصل ضرب دانسیته و طول، مساحت سطح مقطع آن محاسبه می‌شد.

تراکم آنورت ۱/۰۵ میلی‌گرم به ازای میلی‌متر مکعب در نظر گرفته شد. از تقسیم نتایج انقباض ثبت شده بر مقدار سطح مقطع، مقدار انقباض حاصل بر حسب گرم به ازای میلی‌متر مربع محاسبه و مورد مقایسه قرار گرفت. اندازه‌گیری مقادیر مراحل سریع و آهسته‌ی انقباض: منحنی انقباض حاصل از فنیل‌افرین به صورت دو مرحله‌ای می‌باشد. بخش اول منحنی در شروع پاسخ انقباضی که نسبت به زمان خطی می‌باشد، به عنوان مرحله‌ی سریع انقباض در نظر گرفته می‌شود که طول مدت این مرحله حدود ۲۰ ثانیه است. باقی‌مانده‌ی پاسخ انقباضی به عنوان مرحله‌ی آهسته در نظر گرفته می‌شود که این مرحله بعد از ۵ دقیقه حداقل تا ۹۵ درصد تکمیل می‌شود. نتایج به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه و آزمون توکی با استفاده از نرم‌افزار Statistica مقایسه شدند.

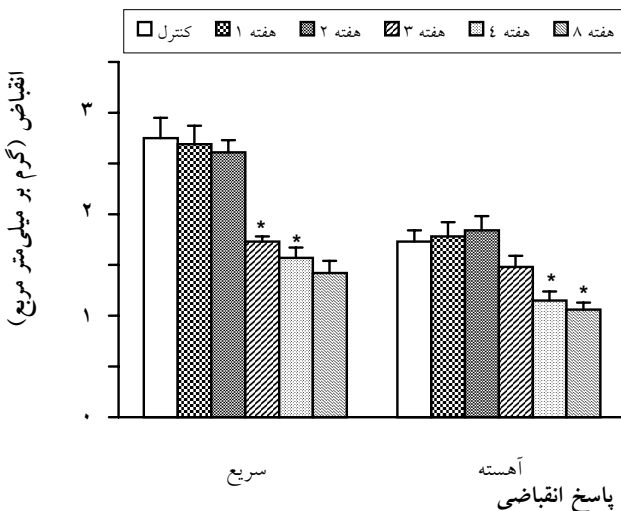


فنیل افرین (نانومول در لیتر)

نمودار ۲ - مقایسه‌ی انقباض (میانگین \pm خطای معیار) حاصل از فنیل افرین بر آنورت جدا شده‌ی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸

* اختلاف معنی دار بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۴ و ۸ هفته با $P < 0/05$

* اختلاف معنی دار بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته با $P < 0/05$



پاسخ انقباضی

نمودار ۳ - مقایسه‌ی پاسخ انقباضی سریع و آهسته‌ی (میانگین \pm خطای معیار) حاصل از فنیل افرین با غلظت ۱ میکرومول بر آنورت جدا شده‌ی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸

* $P < 0/05$

نتایج انقباض حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم با غلظت ۳۰ میلی مولار در گروه‌های کنترل و آزمایش: نتایج انقباض حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم با غلظت ۳۰ میلی مولار در

نتایج انقباض‌های حاصل از کاربرد فنیل افرین بر آنورت:

فنیل افرین در غلظت‌های ۱، ۱۰، ۱۰۰ میکرومول، ۱، ۱۰، ۱۰۰ نانومول، و ۵ میکرومول در لیتر بر بافت آنورت اعمال شد. نتایج انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های مختلف فنیل افرین در گروه کنترل با گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی دار نداشتند. نتایج انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومول در لیتر فنیل افرین در گروه کنترل به ترتیب، $4/5 \pm 0/3$ و $4/7 \pm 0/3$ گرم بر میلی متر مربع بود (تعداد=۱۰). پاسخ انقباضی حاصل از کاربرد غلظت‌های فوق در گروه‌های آزمون ۳ هفته (تعداد=۹) و ۴ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $3/2 \pm 0/1$ ، $3/5 \pm 0/2$ و $2/7 \pm 0/1$ ، $3 \pm 0/1$ و در گروه آزمایش ۸ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $2/5 \pm 0/2$ و $2/7 \pm 0/2$ گرم بر میلی متر مربع بود. پاسخ انقباضی آنورت به فنیل افرین در تمام موارد ذکر شده در گروه‌های آزمایش به طور معنی داری ($P < 0/0005$) کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ۲).

نتایج مراحل مختلف منحنی انقباض حاصل از کاربرد

فنیل افرین در غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومولار: نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی انقباض حاصل از کاربرد فنیل افرین در غلظت ۱ میکرومول در لیتر در گروه‌های کنترل و آزمایش ۴ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $1/7 \pm 0/1$ ، $1/7 \pm 0/1$ ، $2/8 \pm 0/2$ و در گروه آزمایش ۸ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $1/2 \pm 0/1$ و $1/4 \pm 0/1$ گرم بر میلی متر مربع بود (نمودار ۳). نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی انقباض حاصل از کاربرد فنیل افرین در غلظت ۵ میکرومول در لیتر در گروه‌های کنترل و آزمایش ۴ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $1/9 \pm 0/1$ ، $1/9 \pm 0/1$ ، $1/9 \pm 0/1$ و در گروه آزمایش ۸ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب $1/6 \pm 0/1$ و $1/1 \pm 0/1$ گرم بر میلی متر مربع بود (نمودار ۴).

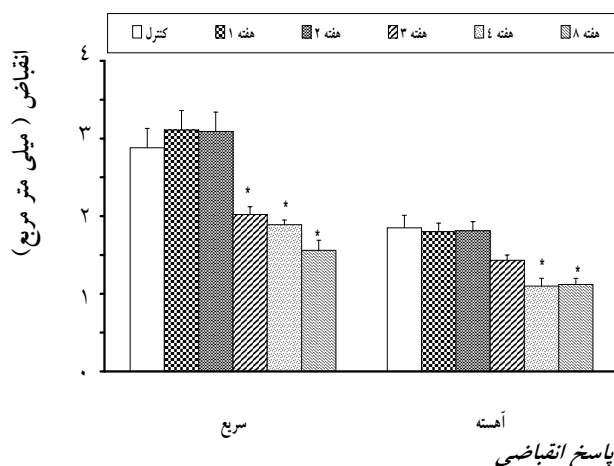
نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی انقباض حاصل از کاربرد فنیل افرین در غلظت‌های ۵ و ۱ میکرومول در لیتر در گروه‌های آزمایش ۴ و ۸ هفته به طور معنی داری ($P < 0/05$) کمتر از گروه کنترل بود (نمودارهای ۳ و ۴).

نتایج انقباض در گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته به طور معنی‌داری ($P < 0/0005$) کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ۵). نتایج انقباض بین گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی‌دار نداشت. پاسخ انقباضی بین گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت.

بحث

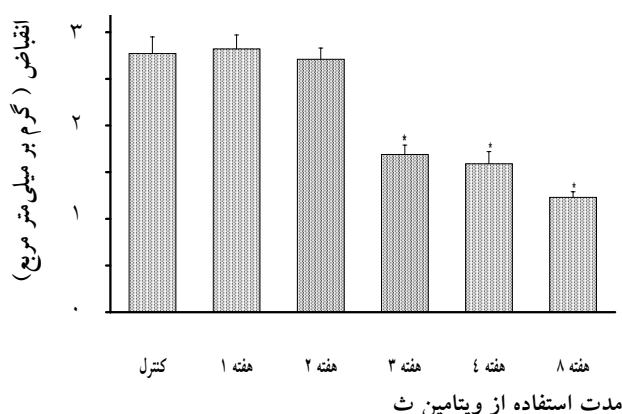
نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که پاسخ انقباضی حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم در غلظت‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰، ۶۰ و ۷۵ میلی‌مول در لیتر در گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته به طور معنی‌داری ($p < 0/05$) کمتر از گروه کنترل بود. افزایش پتاسیم خارج سلولی در اثر افزودن کلرور پتاسیم به حمام بافت سبب دپولاریزه شدن سلول عضله صاف و باز شدن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (کانال‌های کلسیمی نوع L) موجود در غشای سلول عضله صاف جدار آئورت می‌شود (۸). با افزایش غلظت کلرور پتاسیم، سلول‌های عضلانی، بیشتر دپولاریزه شده و کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ بیشتری باز می‌شوند، در نتیجه کلسیم بیشتری به سیتوپلاسم سلول عضله صاف وارد می‌شود (۸). در غلظت‌های بالاتر کلرور پتاسیم، تمامی کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ غشاء باز می‌شوند. از این رو پاسخ انقباضی در غلظت‌های بالاتر یکسان بوده و شکل منحنی انقباض حاصل به صورت کفه در می‌آید (نمودار ۱).

گزارش شده است که ویتامین ث سبب هیپرپولاریزاسیون سلول‌های بتسای پانکراس می‌شود (۹). بنابراین احتمالاً ویتامین ث از طریق هیپرپولاریزاسیون سلول‌های عضله صاف آئورت باعث کاهش قدرت انقباضی آن شده است. گزارش شده است که ویتامین ث موجب مهار کانال‌های کلسیمی نوع تی در سلول‌های پانکراس می‌شود (۱۰). هم‌چنین واسدو و هم‌کاران (۱۱) دریافتند که مصرف خوراکی ویتامین ث سبب کاهش کلسیم سیتوزولی در موش‌های صحرائی مبتلا به فشار خون بالا می‌شود. بنابراین احتمالاً ویتامین ث از طریق مهار کانال‌های کلسیمی، سبب کاهش



نمودار ۴ - مقایسه‌ی پاسخ انقباضی سریع و آهسته‌ی (میانگین \pm خطای معیار) حاصل از فنیل افرین با غلظت ۵ میکرو مول بر آئورت جدا شده‌ی موش صحرائی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت‌کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸

گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸ هفته به ترتیب $1/2 \pm 0/1$ ، $2/8 \pm 0/2$ ، $2/7 \pm 0/1$ ، $1/7 \pm 0/1$ ، $1/6 \pm 0/1$ و $1/2 \pm 0/1$ گرم بر میلی‌متر مربع بود (تعداد گروه‌های آزمایش ۲ و ۳ هفته ۹ و تعداد گروه‌های آزمایش ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸ و کنترل ۱۰ عدد بود). بین انقباض گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



نمودار ۵ - مقایسه‌ی انقباض (میانگین \pm خطای معیار) ناشی از کلرور پتاسیم با غلظت ۳۰ میلی‌مول در لیتر بر آئورت جدا شده‌ی موش صحرائی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت‌کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸

* $P < 0/0005$

انقباض در منحنی انقباضی آئورت به دنبال کاربرد فنیل افرین مربوط به رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی می‌باشد. در حالی که مرحله‌ی آهسته انقباض در نتیجه‌ی ورود کلسیم از منابع خارج سلولی از طریق کانال‌های کلسیمی وابسته به گیرنده‌ی موجود در غشای سلول عضله‌ی صاف آئورت می‌باشد (۱۵). پاسخ انقباضی آئورت به فنیل افرین به صورت وابسته به دوز می‌باشد. افزایش قدرت انقباضی آئورت به علت افزایش بیشتر کلسیم سیتوزولی از منابع داخلی و خارج سلولی می‌باشد. با توجه به این که منحنی‌های حاصل از ثبت انقباض در اثر غلظت‌های افزایش‌یافته‌ی فنیل افرین در گروه‌های آزمایش، بدون شیفت دادن به راست، پایین‌تر از منحنی مربوط به گروه کنترل قرار دارند (نمودار ۲)، می‌توان نتیجه گرفت که کاهش پاسخ دهی آئورت به فنیل افرین در گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته نسبت به گروه کنترل ناشی از تغییر یا کاهش گیرنده‌ی فنیل افرین نبوده است. این کاهش احتمالاً همانند کاهش پاسخ‌دهی آئورت به محرک کلرور پتاسیم ناشی از کاهش ماشین انقباضی سلول از جمله کاهش تعداد سلول‌های عضله‌ی صاف و یا کاهش کلسیم داخل سلولی می‌باشد.

مقایسه‌ی نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی منحنی انقباضی حاصل از فنیل افرین در غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومول در گروه‌های آزمایش ۴ و ۸ هفته نشان می‌دهد که همراه با کاهش معنی‌دار پاسخ انقباضی کل، مراحل سریع و آهسته‌ی پاسخ انقباضی نیز نسبت به مراحل سریع و آهسته‌ی پاسخ انقباضی گروه کنترل کم شده است. این کاهش معنی‌دار توأم در مراحل سریع و آهسته‌ی در گروه‌های آزمایش ۴ و ۸ هفته نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد که رهایش کلسیم هم از منابع داخل سلولی و هم از منابع خارج سلولی کاهش یافته است. این کاهش قدرت انقباضی آئورت احتمالاً به علت کاهش تعداد سلول‌های عضله‌ی صاف یا مکانیسم‌های دیگر می‌باشد.

مقایسه‌ی نتایج حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم در غلظت ۳۰

ورود کلسیم به سلول‌های عضله‌ی صاف جدار آئورت و کاهش قدرت انقباضی آئورت در گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته شده است.

ایوانوف و هم‌کاران (۶) در مطالعات خود به این نتیجه رسیدند که ویتامین ث هم به طور مستقیم و هم از طریق تأثیر بر ماتریکس خارج سلولی سبب مهار رشد سلول‌های عضله‌ی صاف جدا شده‌ی آئورت خوکچه‌ی هندی در محیط کشت می‌شود. کاهش سنتز دی ان آ در سلول‌های عضله‌ی صاف آئورت در حضور ویتامین ث، مشابه تغییرات در تعداد سلول‌های عضلانی می‌باشد که نشان می‌دهد ویتامین ث اثر خود را بر سلول‌های عضلانی از طریق مهار سنتز دی ان آ اعمال می‌کند (۶).

عامل دیگر در تکثیر سلول‌های عضله‌ی صاف، فرم اکسید ال دی ال می‌باشد. ویتامین ث به عنوان عامل آنتی‌اکسیدان می‌تواند مانع اکسیداسیون ال دی ال توسط رادیکال آزاد شود (۲). نیتریک اکساید سبب مهار تکثیر سلول‌های عضله‌ی صاف عروق می‌شود (۱۲). از سوی دیگر نشان داده شده است که ویتامین ث می‌تواند سبب محافظت نیتریک اکساید از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد شود (۱۳). بنابراین احتمال دارد که افزایش نیتریک اکساید و کاهش فرم اکسید ال دی ال به علت مصرف ویتامین ث سبب مهار تکثیر سلول‌های عضله‌ی صاف جدار آئورت و کاهش تعداد آنها و در نتیجه کاهش قدرت انقباضی آئورت در گروه‌های آزمایش دریافت‌کننده‌ی ویتامین ث شده باشد.

در این تحقیق انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومول در لیتر در گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته به طور معنی‌داری ($P < 0/0005$) کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ۲). اتصال فنیل افرین به گیرنده‌ی خود در غشای سلول عضله‌ی صاف سبب افزایش اینوزیتول تری فسفات (IP_3) و دی‌اسیل گلیسرول (DAG) می‌شود. اینوزیتول تری فسفات سبب رهایش کلسیم از شبکه‌ی سارکوپلاسمی داخل سلولی می‌شود و دی‌اسیل گلیسرول سبب ورود کلسیم از مایع خارج سلولی به سلول می‌شود (۱۴). مرحله‌ی سریع

پتاسیم حداقل ۳ هفته می‌باشد و افزایش مدت زمان مصرف ویتامین ث تأثیر بیشتری در کاهش قدرت انقباضی آئورت نداشته است. نتایج این بررسی نشان داد که ویتامین ث منجر به کاهش قدرت انقباضی آئورت شده است. طراحی و اجرای آزمایشات بیشتری برای تعیین اثرات احتمالی این ویتامین در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های عروقی توصیه می‌شود.

میلی‌مول در لیتر بین گروه‌های آزمایش ۱، ۲، ۳، ۴ و ۸ هفته نشان داد که پاسخ انقباضی گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی‌داری ($P < 0/0005$) با گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته دارند. هم‌چنین نتایج انقباض بین گروه‌های آزمایش ۳، ۴ و ۸ هفته تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که مدت زمان اثر ویتامین ث خوراکی جهت کاهش دادن قدرت انقباضی آئورت به محرک کلرور

منابع

- 1- Martin A, Frei B. Both intracellular and extracellular vitamin C inhibit atherogenic modification of LDL by human vascular endothelial cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(8):1583-90.
- 2- Gutteridge JMC, Halliwell B. *Antioxidants in Nutrition, Health and Disease*. Oxford: Oxford University Press; 1994:30-72.
- 3- Heller R, Munscher cher-paulig F, Grabner R, Till U. L-Ascorbic acid potentiate nitric oxide synthesis in endothelial cells. *J Biol Chem* 1999; 274(12):8254-60.
- 4 - Dudgeon S, Benson DP, Mackenzie A, Zyszkiewies K, Martin W. Recovery by ascorbate of impaired nitric oxide-dependent relaxation resulting from oxidant stress in rat aorta. *Br J Pharmacol* 1998;125:782-6.
- 5- Sipahi E, Ercan ZS. The mechanism of the relaxing effect of ascorbic acid in guinea pig isolated tracheal muscle. *Gen Pharmacol* 1997;28(5):757-60.
- 6- Ivanov VO, Ivanova S, Niedzwiecki A. Ascorbate affects proliferation of guinea-pig vascular smooth muscle cells by direct and extracellur matrix-mediated effects. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29(12): 3293-303.
- 7 Faris B, Ferrera R, Toselli P, Nambu J, Freanzblau C. Effect of varying amounts of asorbate on collagen, elastin and lysyl oxidase synthesis in aortic smooth muscle cell cultures. *Biochim Biophys Acta* 1984;797 (1) 71-5.
- 8- Kravtsov GM, Kwan CY. A revisitaton on the mechanism of action of Kcl- induced vascular smooth muscle contraction: a key role of cation binding to the plasma membrane. *Biol Signals* 1995; 4(3):160-7.
- 9- Bergsten P, Moura AS, Atwater I, Levine M. Ascorbic acid and insulin secretion in pancreatic islets. *J Biol Chem* 1994; 269(2):1041-5.
- 10- Parsey RV, Matteson DR. Ascorbic acid modulation of calcium channels in pancreatic beta cells. *J Gen Physiol* 1993;102(3):503-23
- 11- Vasdev S, Ford CA, Parai S, Logerich L, CadagV. Dietary vit C supplementation lowers blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Mol cell Biochem* 2001;218(1-2):97-103.
- 12- Carr A, Frei B. The role of natural antioxidants in preserving the biological activity of endothelium-driven nitric oxide. *Free Radic Biol Med* 2000; 28(12):1806-14.
- 13- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagana A, Salvetti A. Vit vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation* 1998; 97(22):2222-9.
- 14- Rang HP, Dale MM, Ritter GM. *Pharmacology*. London: Churchill Livingstone;2000: 139-49.
- 15- Scarborough NL, Carrier GO. Nifedipin and alpha adrenoceptors in rat aorta: the role of extracellular calcium in 1 and alpha -2 adrenoceptor- mediated contraction. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 231(3): 597-602.