تاثیر مصرف دراز مدت ویتامین ث بر انقباضات حاصل از کلرید پتاسیم و فنیل‌افرین درآئورت جدا شده‌ی موش صحرایی

دکتر صالح زاهدی اصل[١]، ناصر پژوهی[٢]، دکتر محمد بدوی[٣]، راحله عصایی[٤]

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 ١٣٨٠ به منظور بررسی اثر مصرف خوراکی ویتامین ث بر قابلیت انقباضی آئورت در موش‌های صحرایی انجام گرفت.*

مواد وروش‌ها: *٦٠ موش صحرایی ماده از نژاد ویستار در محدوده‌ی وزنی ١٨٠ تا ٢٢٠ گرم ، به یک گروه کنترل و ٥ گروه آزمایش (هر گروه ١٠ موش) تقسیم شدند. به حیوانات گروه آزمایش به ترتیب به مدت ١، ٢، ٣، ٤ و ٨ هفته ویتامین ث ٠/٣ درصد محلول در آب آشامیدنی داده شد. پس از بی‌هوش کردن حیوان با پنتوباربیتال سدیم، آئورت سینه‌ای خارج و بعد از زدودن آندوتلیوم، در حمام بافت حاوی محلول کربس ٣٧ درجه سانتی‌گراد با پی اچ ٧/٤ و اکسیژن ١٠٠ درصد قرار گرفت. مواد محرک شامل کلرید پتاسیم و فنیل افرین با غلظت‌های مختلف به ترتیب پس از یک دوره‌ی بهبودی ٩٠ 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 فنیل‌افرین در گروه کنترل با گروه‌های آزمایش با مصرف ١ و ٢ هفته ویتامین ث اختلاف معنی‌دار نداشتند. پاسخ انقباضی حاصل از کلرید پتاسیم در غلظت‌های ٥٠،٦٠ و ٧٥ میلی‌مول در لیتر در گروه آزمایش ٣و ٤ هفته به ترتیب ٢/٢±٠/٢، ٢/٢±٠/٢ ، ٢/٣±٠/٢ و ١/٩٦±٠/٢، ١/٩±٠/١، ١/٩٧±٠/١ و در گروه آزمایش ٨ هفته به ترتیب ١/٥± ٠/١، ١/٦±٠/١ و ١/٦± ٠/١ گرم بر میلی‌متر مربع بود. نتایج انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های ١ و ٥ میکرومول در لیتر فنیل‌افرین در گروه آزمایش ٣ و ٤ هفته به ترتیب ٣/٢±٠/١، ٣/٥±٠/٢ و ٢/٧± ٠/١، ٣±٠/١ و در گروه آزمایش ٨ هفته به ترتیب ٢/٥± ٠/٢ و ٢/٧ ± ٠/٢ گرم بر میلی‌متر مربع بود. پاسخ انقباضی آئورت در تمام موارد ذکر شده در گروه‌های آزمایش به طور معنی‌داری (P< ٠/٠٥) کمتر از گروه کنترل بود.*

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

واژگان کلیدی: ویتامین ث، آئورت، موش صحرایی

مقدمه

ویتامین ث یا اسید آسکوربیک موثرترین آنتی اکسیدان محلول در آب می باشد(١). این ویتامین اولین بار در سال ١٩٢٨ توسط زنت-گیورگی از بافت‌های گیاهی و جانوری استخراج و در سال ١٩٣٣ به طور صناعی ساخته شد(٢). غلظت طبیعی اسیدآسکوربیک در پلاسمای خون انسان ١/٦-٠/٨ میلی‌گرم در دسی‌لیتر می‌باشد (٢). ویتامین ث با احیای مواد سرطان‌زای موجود در غذا مثل نیتروزآمین‌ها و تبدیل آن‌ها به مواد بی‌خطر می‌تواند در جلوگیری از بروز سرطان نقش داشته باشد (٢). اسید آسکوربیک به عنوان یک پاک‌کننده‌ی[١] قوی رادیکال‌های سوپراکساید ($O_2^{\bullet-}$) 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 (٣،٤). ویتامین ث سبب شل شدن عضله‌ی صاف جدا شده‌ی برونش

[١] دکترای فیزیولوژی، استاد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

[٢] کارشناس ارشد فیزیولوژی،دانشگاه علوم پزشکی لرستان

[٣] دکترای فیزیولوژی، استادیار دانشگاه علوم پزشکی اهواز

[٤] دانشجوی دکترای فیزیولوژی، مربی دانشگاه علوم پزشکی لرستان

[١] Scavenger

خوکچه‌ی هندی می‌شود (۵). در محیط کشت، ویتامین ث بـه صورت مستقیم و هم‌چنین از طریق تأثیر بر ماتریکس خـارج سلولی سبب کاهش تکثیر سلول‌های عضله‌ی صاف عروق در خوکچه‌ی هنـدی می‌شـود (٦). کـلاژن و الاسـتین از اجـزای ماتریکس خارج سلولی می‌باشند. ویتامین ث در محیط کشـت سلول‌های عضله‌ی صاف آئورت خرگوش سبب افزایش سنتز کلاژن و کاهش الاستین می‌شود(۷). گزارش شـده اسـت کـه ویتامین ث در شـرایط مختلـف اثـرات آنتـی اکسـیدانی و یـا پراکسیدانی دارد (۲). با توجه به اثرات ویتـامین ث در محیـط کشـت، در ایـن تحقیـق اثـر مصـرف خوراکـی ویتـامین ث بـر قـابلیت انقبـاضی آئـورت در مـوش هـای صحرایـی در سال ۱۳۸۰ مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش: ایـن تحقیـق تجربـی در محیـط آزمایشگاه به علت عدم دسترسی به موش‌های صحرایی نر بـر روی ٦۰ موش صحرایی مـاده از نـژاد ویسـتار در محـدوده‌ی وزنی ۱۸۰ تا ۲۲۰ گرم انجام شد و به منظـور کـاهش اثـرات احتمالی نوسانات هورمون‌های جنسی از تعداد بیشتری حیوان در هر آزمایش استفاده شد. این حیوانات به شش گروه ده‌تایی تقسیم شدند (یک گروه کنـترل و پنـج گـروه آزمـایش) و بـه صورت ۵تایی در قفس‌های مخصوص در شـرایط ۱۲ سـاعت نـور، ۱۲ سـاعت تـاریکی و دمـای اتـاق ۲± ۲۲ درجـه‌ی سـانتی‌گـراد نگـه‌داری شـدند. بـه حیوانـات گـروه کنـترل و آزمایش غذای معمولی داده شـد. حیوانـات گـروه کنـترل آب شهر مصرف می‌کردند ولی به حیوانات گروه‌های آزمـایش بـه ترتیب به مدت ۱، ۲، ۳ ، ٤ و۸ هفته آب حاوی ویتامین ث بـا غلظت ۰/۳ درصد داده شد. حیوانات در تمام مدت بـه آب و غذا دسترسی داشتند.

محلول فنیل افرین و استیل کولیـن: محلـول فنیـل افریـن و استیل کولین به صورت روزانه با استفاده از پودرفنیل افریـن و استیل‌کولین (ساخت شرکت سیگما[۲]) و آب مقطر تهیه شد.

محلول کلرید پتاسیم: این محلول بـا اسـتفاده از پـودر کلـرور پتاسیم (ساخت کارخانه مرک[۳]) و آب مقطر در غلظت‌هـای ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ٤۰، ۵۰، ٦۰، ۷۵ میلـی مـول در لیـتر تهیـه و بـه صورت ذخیره نگه‌داری شد.

محلول ویتامین ث: روزانه محلـول خوراکـی ویتـامین ث بـا غلظت ۰/۳ درصد بـا اسـتفاده از پـودر ویتـامین ث (سـاخت شرکت راچ[٤]) و آب آشامیدنی شهر تهیه و در ظروف آب تیره رنگ جهت مصرف در اختیار حیوانات قرار داده می‌شد.

روش تهیه بافت و ثبـت انقبـاض: حیوان‌هـا بـا اسـتفاده از پنتوباربیتال سدیم با دوز ۵۰ میلی گرم به ازای کیلـوگـرم وزن بدن و به صورت تزریق داخل صفاقی بی‌هوش شدند. پـس از باز کردن قفسه‌ی سینه‌ی حیـوان، آئـورت سـینه‌ای برداشـته و بلافاصله درون پتری حاوی محلول کربس اکسـیژنه قـرار داده شد. پس از جـدا کـردن بافت‌هـای پیونـدی اطـراف آئـورت قطعه‌ای به طول ۵ تـا ٦ میلی‌مـتر از وسـط آن جـدا و لایـه‌ی آندوتلیوم آن به وسیله‌ی مالش آئورت به دور یک قطعه سـیم نـازک زدوده[۵] شـد. سـپس نمونـه‌ی آئـورت در حمـام بـافت (بیوساینس ٦۱۳۰۰) حاوی محلول کربس هانسـلیت بـا دمـای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و پی‌اچ ٤/ ۷، بین یک پایه‌ی ثابت ویـک مبدل ایزومتریک (دیناموتر، هاروارد،UF_1) ثـابت وتحـت ۲ گرم کشش اولیه قرار گرفـت. محلـول کربس‌حـاوی فسـفات منیزیم، کلرور سدیم، بیکربنات سدیم، کلرور پتاسـیم، کلـرور کلسیم، فسفات منوپتاسیم و گلوکز(ساخت کارخانه مرک) بـه ترتیـب بـه مقـدار ۱/۲، ۱۱۳، ۷، ٤/۷، ۲/۵، ۱/۲ و ۱۱/۵ میلی‌مول در لیتر بود وبا اکسیژن ۱۰۰ درصد اکسیژنه می شد. پس از ۹۰ دقیقه دوره‌ی بهبودی[٦]، (مدت زمان مورد نیاز برای

[۲] Sigma

[۳] Merk

[٤] Roche

[۵] Denuded

[٦] Recovery Period

از بین رفتن اثرات احتمالی دستکاری نمونه)، ابتدا مادهی محرک کلرور پتاسیم در غلظتهای ٥،١٠،٢٠،٣٠، ٤٠، ٥٠، ٦٠ و ٧٥ میلی مول در لیتر و سپس مادهی محرک فنیل افرین در غلظتهای ١، ١٠ و ١٠٠ پیکومول و ١،١٠ و ١٠٠ نانومول، ١ و ٥ میکرومول در لیتر بر بافت آئورت 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 ٤٥ـ٣٠ دقیقهای (جهت تعادل مجدد بافت) به حمام بافت اضافه میشد.

به منظور تایید از بین رفتن لایهی آندوتلیوم، در پایان هر آزمایش ١ میکرومول در لیتر فنیلافرین اضافه شد و پس از رسیدن انقباض حاصل به کفه، ١٠ 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 آئورت تعیین و با استفاده از تقسیم وزن برحسب میلی گرم بر حاصل ضرب دانسیتی و طول، مساحت سطح مقطع آن محاسبه میشد.

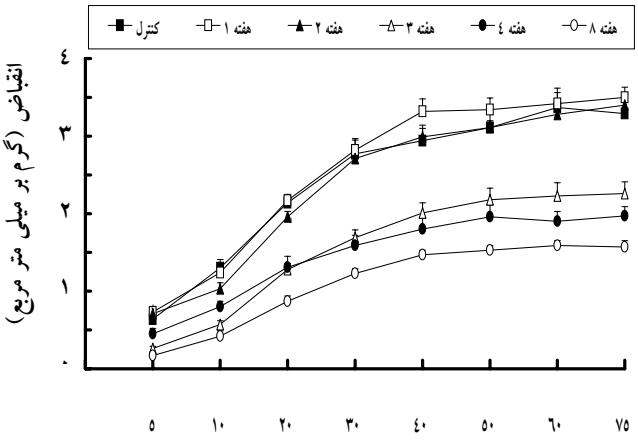
تراکم آئورت ١/٠٥ میلیگرم به ازای میلیمتر مکعب در نظر گرفته شد. از تقسیم نتایج انقباض ثبت شده بر مقدار سطح مقطع، مقدار انقباض حاصل بر حسب گرم به ازای میلیمتر مربع محاسبه و مورد مقایسه قرار گرفت.

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 ٢٠ ثانیه است. باقیماندهی پاسخ انقباضی به عنوان مرحلهی آهسته در نظر گرفته میشود که این مرحله بعد از ٥ دقیقه حداقل تا ٩٥ درصد تکمیل میشود.

نتایج به وسیله آنالیز واریانس یک طرفه و دو طرفه و آزمون توکی با استفاده از نرمافزار Statistica مقایسه شدند.

یافتهها

نتایج انقباضهای حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم بر آئورت: کلرور پتاسیم در غلظتهای ٥، ١٠، ٢٠، ٣٠، ٤٠، ٥٠، ٦٠ و ٧٥ میلیمول در لیتر بر بافت آئورت مورد استفاده قرار گرفت. نتایج انقباض حاصل ازکاربرد غلظتهای مختلف کلرور پتاسیم در گروه کنترل با گروههای آزمایش ١ و ٢ هفته اختلاف معنیدار نداشتند. پاسخ انقباضی حاصل ازکاربرد کلرور پتاسیم در غلظتهای ٥٠،٦٠ و ٧٥ میلیمول در لیتر در گروه کنترل به ترتیب ٣/١±٠/٢، ٣/٤±٠/٣ و ٣/٣±٠/٢ گرم بر میلیمتر مربع بود (تعداد=١٠). پاسخ انقباضی حاصل ازکاربرد غلظتهای فوق در گروههای آزمایش ٣ هفته (تعداد=٩) و ٤ هفته (تعداد=١٠) به ترتیب ٢/٢±٠/٢، ٢/٢±٠/٢، ٢/٣±٠/٢ و ١/٩٦±٠/٢، ١/٩±٠/١، ١/٩٧±٠/١ و در گروه آزمایش ٨ هفته (تعداد=١٠) به ترتیب ١/٥±٠/١، ١/٦±٠/١ و ١/٦±٠/١ گرم بر میلیمتر مربع بود. پاسخ انقباضی آئورت 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 (نمودار١).



نمودار ١ ـ مقایسهی انقباض (میانگین ± خطای معیار) حاصل از کلرور پتاسیم بر آئورت جدا شدهی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروههای آزمایش دریافت کنندهی ویتامین ث ٠/٣ درصد در هفتههای ١،٢،٣،٤ و ٨

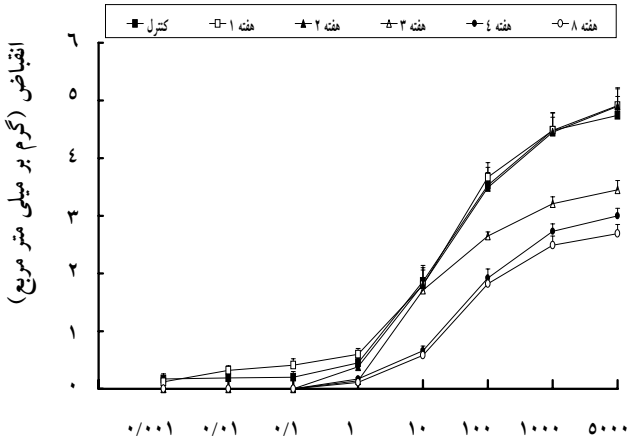
* اختلاف معنیدار بین گروه کنترل و گروههای آزمایش ٣،٤ و ٨ با P< ٠/٠٥

* اختلاف معنیدار بین گروه کنترل و گروه آزمایش ٨ هفته با P< ٠/٠٥

نتایج انقباض‌های حاصل از کاربرد فنیل‌افرین بر آئورت: فنیل‌افرین در غلظت‌های ۱، ۱۰، ۱۰۰ پیکومول، ۱، ۱۰، ۱۰۰ نانومول، ۱و ۵ میکرومول در لیتر بر بافت آئورت اعمال شد. نتایج انقباض حاصل ازکاربرد غلظت‌های مختلف فنیل‌افرین در گروه کنترل با گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی‌دار نداشتند. نتایج انقباض حاصل ازکاربرد غلظت‌های ۱ و ۵ میکرومول در لیتر فنیل‌افرین در گروه کنترل به ترتیب، ۰/۳ ±٤/٥ و ۰/۳ ± ٤/٧ گرم بر میلی‌متر مربع بود (تعداد=۱۰). پاسخ انقباضی حاصل ازکاربرد غلظت‌های فوق در گروه‌های آزمون ۳هفته (تعداد=۹) و ٤هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب ۰/۱±۳/۲، ۰/۲±۳/٥ و ۰/۱± ۲/۷، ۰/۱±۳ و در گروه آزمایش ۸ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب ۰/۲± ۲/٥ و ۰/۲ ± ۲/۷ گرم بر میلی‌متر مربع بود. پاسخ انقباضی آئورت به فنیل‌افرین در تمام موارد ذکر شده در گروه‌های آزمایش به طور معنی‌داری (P< ۰/۰۰۰٥) کمتر از گروه کنترل بود(نمودار۲).

نتایج مراحل مختلف منحنی انقباض حاصل از کاربرد فنیل‌افرین در غلظت های۱ و۵ میکرومولار: نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی انقباض حاصل ازکاربرد فنیل‌افرین در غلظت ۱ میکرومول در لیتر در گروه‌های کنترل و آزمایش ٤ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب ۰/۲±۲/۸، ۰/۱±۱/۷ و ۰/۱±۱/٦، ۰/۱±۱/۲ و در گروه آزمایش ۸ هفته(تعداد=۱۰) به ترتیب۰/۱±۱/٤ و ۰/۱±۱/۱ گرم بر میلی‌متر مربع بود (نمودار۳). نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی انقباض حاصل ازکاربرد فنیل‌افرین در غلظت ٥ میکرومول در لیتر درگروه‌های کنترل و آزمایش ٤ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب ۰/۳±۲/۹، ۰/۱±۱/۹، ۰/۱±۱/۹ و ۰/۱±۱/۱ و در گروه آزمایش ۸ هفته (تعداد=۱۰) به ترتیب ۰/۱±۱/٦ و ۰/۱±۱/۱ گرم بر میلی‌متر مربع بود (نمودار٤).

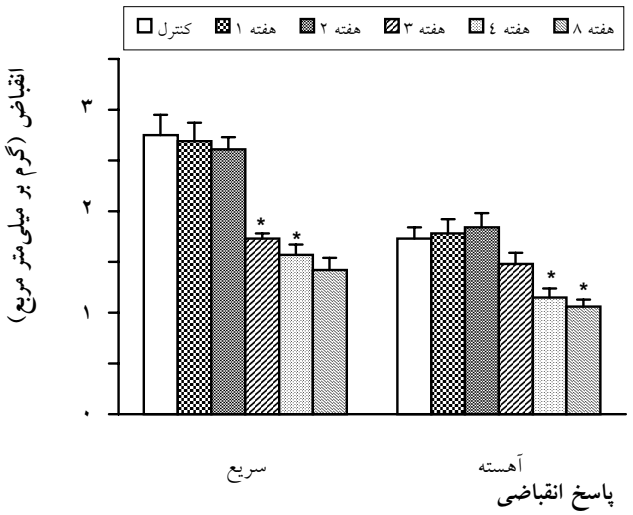
نتایج مراحل سریع وآهسته‌ی انقباض حاصل از کاربرد فنیل‌افرین در غلظت‌های ۱و٥ میکرومول در لیتر در گروه‌های آزمایش ٤ و ۸ هفته به طور معنی‌داری (P< ۰/۰٥) کمتر از گروه کنترل بود (نمودارهای٤و۳).



نمودار ۲ ـ مقایسه‌ی انقباض (میانگین ± خطای معیار) حاصل از فنیل افرین بر آئورت جدا شده‌ی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱،۲،۳،٤ و ۸

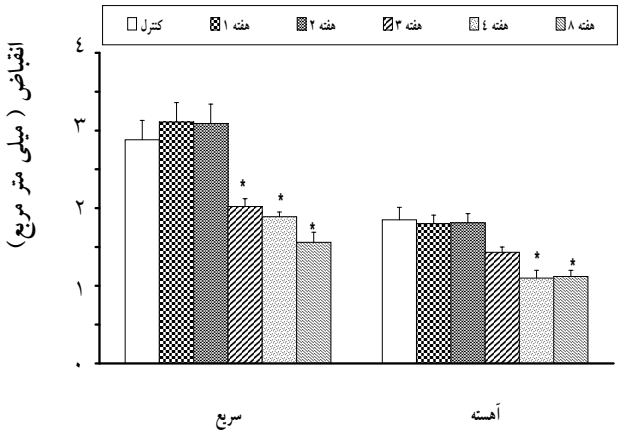
* اختلاف معنی دار بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش٤ و ۸ هفته با P< ۰/۰٥

* اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ٤،۳ و ۸ با P< ۰/۰٥



نمودار ۳ ـ مقایسه‌ی پاسخ انقباضی سریع و آهسته‌ی (میانگین ± خطای معیار) حاصل از فنیل افرین با غلظت ۱ میکرومول بر آئورت جدا شده‌ی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱،۲،۳،٤ و ۸ *P< ۰/۰٥

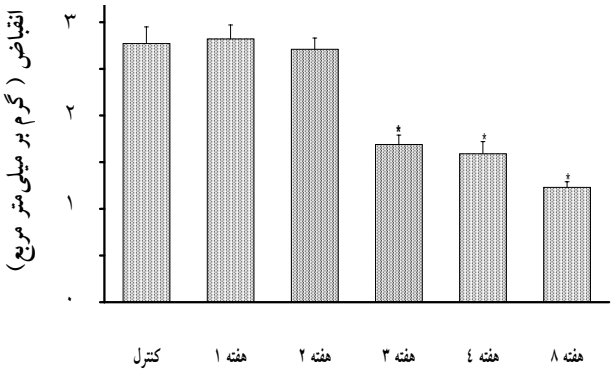
نتایج انقباض حاصل از کاربرد کلرورپتاسیم باغلظت ۳۰ میلی‌مولار در گروه‌های کنترل و آزمایش: نتایج انقباض حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم با غلظت ۳۰ میلی‌مولار در



پاسخ انقباضی

نمودار ٤ ـ مقایسه‌ی پاسخ انقباضی سریع و آهسته‌ی (میانگین ± خطای معیار) حاصل از فنیل افرین با غلظت ٥ میکرو مول بر آئورت جدا شده‌ی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱،۲،۳،٤ و ۸ *P<۰/۰٥

گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۱، ۲، ۳، ٤ و ۸ هفته به ترتیب ۲/۸±۰/۲، ۲/۸±۰/۲، ۲/۷±۰/۱، ۱/۷±۰/۱، ۱/٦±۰/۱ و ۱/۲±۰/۱ گرم بر میلی‌متر مربع بود (تعداد گروه‌های آزمایش ۲ و ۳ هفته ۹ و تعداد گروه‌های آزمایش ۱، ٤، ۸ و کنترل ۱۰ عدد بود). بین انقباض گروه کنترل و گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.



مدت استفاده از ویتامین ث

نمودار ٥ ـ مقایسه‌ی انقباض (میانگین ± خطای معیار) ناشی از کلرور پتاسیم با غلظت ۳۰ میلی مول در لیتر بر آئورت جدا شده‌ی موش صحرایی ماده در گروه کنترل و گروه‌های آزمایش دریافت کننده‌ی ویتامین ث ۰/۳ درصد در هفته‌های ۱،۲،۳،٤ و ۸

*P<۰/۰۰۰٥

نتایج انقباض در گروه‌های آزمایش ۳، ٤ و ۸ هفته به طور معنی‌داری (P< ۰/۰۰۰٥) کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ٥). نتایج انقباض بین گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی‌دار نداشت. پاسخ انقباضی بین گروه‌های آزمایش ۳، ٤ و ۸ هفته تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشت.

بحث

نتایج حاصل از پژوهش نشان داد که پاسخ انقباضی حاصل از کاربرد کلرور پتاسیم درغلظت‌های ۲۰، ۳۰، ٤۰، ٥۰، ٦۰ و ۷٥ میلی‌مول در لیتر در گروه‌های آزمایش ۳، ٤ و ۸ هفته به طور معنی داری(p< ۰/۰٥) کمتر از گروه کنترل بود. افزایش پتاسیم خارج سلولی در اثر افزودن کلرور پتاسیم به حمام بافت سبب دپولاریزه شدن سلول عضله‌ی صاف و باز شدن کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ (کانال‌های کلسیمی نوع L) موجود در غشای سلول عضله‌ی صاف جدار آئورت می‌شود (۸). با افزایش غلظت کلرور پتاسیم، سلول‌های عضلانی، بیشتر دپولاریزه شده و کانال‌های کلسیمی وابسته‌ی ولتاژ بیشتری باز می‌شوند، در نتیجه کلسیم بیشتری به سیتوپلاسم سلول عضله‌ی صاف وارد می شود (۸). در غلظت‌های بالاتر کلرور پتاسیم، تمامی کانال‌های کلسیمی وابسته به ولتاژ غشاءباز 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 سلول های بتای پانکراس می شود (۹). بنابراین احتمالا ویتامین ث از طریق هیپرپولاریزاسیون سلول‌های عضله‌ی صاف آئورت باعث کاهش قدرت انقباضی آن شده است. گزارش شده است که ویتامین ث موجب مهار کانال های کلسیمی نوع تی در سلول های پانکراس می شود (۱۰). هم‌چنین واسدو و هم‌کاران (۱۱) دریافتند که مصرف خوراکی ویتامین ث سبب کاهش کلسیم سیتوزولی در موش‌های صحرایی مبتلا به فشار خون بالا می‌شود. بنابراین احتمالاً ویتامین ث از طریق مهار کانال‌های کلسیمی، سبب کاهش

ورود کلسیم به سلول های عضله‌ی صاف جدار آئورت و کاهش قدرت انقباضی آئورت در گروه‌های آزمایش۳، ٤ و ٨ هفته شده است.

ایوانوف و هم‌کاران (٦) 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 (٦).

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 (٢). نیتریک اکساید سبب مهار تکثیر سلول‌های عضله‌ی صاف عروق می‌شود (١٢). از سوی دیگر نشان داده شده است که ویتامین ث می‌تواند سبب محافظت نیتریک اکساید از آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد شود (١٣). 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 درگروه‌های آزمایش دریافت‌کننده‌ی ویتامین ث شده باشد.

در این تحقیق انقباض حاصل از کاربرد غلظت‌های ١ و ٥ میکرومول در لیتر در گروه‌های آزمایش ٤،٣ و ٨ هفته به طور معنی‌داری (P< ٠/٠٠٠٥) کمتر از گروه کنترل بود (نمودار ٢). اتصال فنیل‌افرین به گیرنده‌ی خود در غشای سلول عضله‌ی صاف سبب افزایش اینوزیتول تری‌فسفات (IP_3) و دی‌اسیل گلیسرول (DAG) می‌شود. اینوزیتول تری فسفات سبب رهایش کلسیم از شبکه‌ی سارکوپلاسمی داخل سلولی می‌شود و دی اسیل گلیسرول سبب ورود کلسیم از مایع خارج سلولی به سلول می‌شود (١٤). مرحله‌ی سریع انقباض در منحنی انقباضی آئورت به دنبال کاربرد فنیل افرین مربوط به رهایش کلسیم از منابع داخل سلولی می‌باشد. در حالی‌که 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 (١٥). پاسخ انقباضی آئورت به فنیل‌افرین 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 افزایش یابنده‌ی فنیل‌افرین در گروه‌های آزمایش، بدون شیفت دادن به راست، پایین‌تر از منحنی مربوط به گروه کنترل قرار دارند (نمودار٢)، می‌توان نتیجه گرفت که کاهش پاسخ دهی آئورت به فنیل‌افرین در گروه‌های آزمایش ٣، ٤ و ٨ هفته نسبت به گروه کنترل ناشی از تغییر یا کاهش گیرنده‌ی فنیل‌افرین نبوده است. این کاهش احتمالاً همانند کاهش پاسخ‌دهی آئورت به محرک کلرور پتاسیم ناشی از کاهش ماشین انقباضی سلول ازجمله کاهش تعداد سلول‌های عضله‌ی صاف و یا کاهش کلسیم داخل سلولی می باشد.

مقایسه‌ی نتایج مراحل سریع و آهسته‌ی منحنی انقباضی حاصل از فنیل‌افرین در غلظت‌های ١ و ٥ میکرو مول در گروه‌های آزمایش ٤ و ٨ 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 ٤ و ٨ هفته نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد که رهایش کلسیم هم از منابع داخل سلولی و هم ازمنابع 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 ٣٠

میلی‌مول در لیتر بین گروه‌های آزمایش ۱، ۲، ۳، ٤ و ۸ هفته نشان داد که پاسخ انقباضی گروه‌های آزمایش ۱ و ۲ هفته اختلاف معنی‌داری (P <۰/۰۰۰۵) با گروه‌های آزمایش ۳، ٤ و ۸ هفته دارند. هم‌چنین نتایج انقباض بین گروه‌های آزمایش ۳، ٤ 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 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.

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- Gutterdge 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 isulated 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 revisitation 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-drived 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.