

# اثر ال-آرژینین بر نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت و سطح سرمی لیپوپروتئین‌ها در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم عادی و پرکلسترول

دکتر مجید خزاعی<sup>۱</sup>- دکتر محمد افشار<sup>۲</sup>- الهام حق پرست<sup>۳</sup>

## چکیده

زمینه و هدف: نیتریک اکساید، ماده‌ای است که رگها را در برابر اتفاقات آتروزئنیک محافظت می‌کند. مطالعات قبلی نشان داده است که رابطه مستقیمی بین افزایش نفوذپذیری سلول‌های اندوتیال و ایجاد و پیشرفت آترواسکلروز وجود دارد. مطالعه حاضر با هدف تعیین نقش ال-آرژینین بر نفوذپذیری سلول‌های اندوتیال آئورت و سطح سرمی لیپوپروتئین‌ها در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم عادی و پرکلسترول انجام شد.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش تر به دو گروه آزمون و شاهد تقسیم شدند که هر گروه خود شامل دو زیرگروه دریافت‌کننده آب معمولی و آب به همراه  $\frac{1}{2}/25\%$  ال-آرژینین بودند. این رژیم غذایی به مدت هشت هفته ادامه داشت. در پایان هفته هشتم شریان کاروتید راست حیوانات کانوله شد و محلول ایوان‌بلو با دوز  $20\text{ mg/kg}$   $20\text{ mg/kg}$  تزریق گردید؛ سپس تمام آئورت آنها برداشته شد و در  $2/5$  میلی‌لیتر محلول فرمامید قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، جذب نوری محلول فرمامید توسط اسپکتوفوتومتر سنجیده شد. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون یک طرفه ANOVA و نیز آزمون پس آماری Tukey در سطح معنی‌داری  $P \leq 0.05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که ال-آرژینین سبب کاهش نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت در موش‌های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول در مقایسه با گروه شاهد شد ( $P < 0.005$ )؛ همچنین در مقایسه با گروه شاهد مصرف ال-آرژینین موجب پایین‌آمدن سطح LDL در سرم خون موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرکلسترول گردید ( $P < 0.05$ ).

نتیجه‌گیری: مصرف ال-آرژینین می‌تواند اثر حفاظتی بر نفوذپذیری اندوتلیوم عروق در حیوانات تغذیه شده با رژیم پرکلسترول داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: ال-آرژینین؛ کلسترول؛ نفوذپذیری اندوتیال

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند (دوره ۱۵؛ شماره ۱؛ بهار سال ۱۳۸۷)

دریافت: ۱۳۸۶/۹/۲۶ اصلاح نهایی: ۱۳۸۶/۱۲/۷ پذیرش: ۱۳۸۶/۱۲/۲۱

<sup>۱</sup> استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان  
<sup>۲</sup> نویسنده مسؤول؛ دانشیار گروه آموزشی علوم تشریح، دانشکده پزشکی و عضو مرکز تحقیقات دیابت دانشگاه علوم پزشکی بیرجند  
آدرس: بیرجند- خیابان غفاری- دانشگاه علوم پزشکی بیرجند- دانشکده پزشکی- گروه علوم تشریح  
تلفن: ۰۵۶۱-۴۴۴۳۰۴۱-۰۵۶۱-۴۴۳۳۰۰۴. نامبر: afshar\_md@yahoo.com پست الکترونیکی:  
<sup>۳</sup> کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری

## مقدمه

Phivthong- Ngam L ال- آرژینین به رژیم غذایی خرگوش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرکلسترول، باعث می‌شود که میزان اتساع عروقی وابسته به NO افزایش یابد (۷). Boger و همکاران نیز نشان دادند که افزودن ال- آرژینین به رژیم غذایی خرگوش‌های تغذیه‌شده با کلسترول بالا، می‌تواند از پیشرفت آترواسکلروز جلوگیری نماید (۸)؛ ولی مطالعات موجود جهت تأثیر ال- آرژینین بر نفوذپذیری عروق، بسیار محدود و گاهی اوقات با نتایج متناقض می‌باشد؛ برای مثال تحقیق Mayhan نشان داد که NO باعث افزایش نفوذپذیری در کیسه گونه<sup>\*\*</sup> در هامستر (۹) و عروق مزانتر در قورباغه (۱۰) می‌گردد اما Kurose و همکاران گزارش دادند که NO باعث کاهش نفوذپذیری در عروق مزانتر در موش می‌گردد (۱۱).

با توجه به مطالب پیش‌گفت، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ال- آرژینین بر روی نفوذپذیری آئورت در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرکلسترول به روش ایوان‌بلو انجام شد.

## روش تحقیق

در این مطالعه تجربی، تعداد ۳۶ سر موش نر بالغ از نژاد Wistar با وزنی حدود ۲۶۰-۲۴۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شد و از آنها به مدت دو هفته در آزمایشگاه حیوانات نگهداری گردید تا تطابق حیوان با محیط آزمایش صورت پذیرد. در پایان این مدت، وزن حیوانات اندازه‌گیری شد و سپس به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند. از نظر غذایی دریافتی حیوانات به دو گروه رژیم غذایی عادی (نورومکلسترولمی) و پرکلسترول (هایپرکلسترولمی) و از نظر آب دریافتی به دو گروه دریافت‌کننده آب معمولی و آب حاوی ال- آرژینین به شرح ذیل تقسیم شدند:

- ۱- گروه شاهد ۱- ۹ سر موش که رژیم غذایی عادی را به همراه آب خالص دریافت کردند.
- ۲- گروه شاهد ۲- ۹ سر موش که رژیم غذایی عادی را

یکی از علل مهم بیماریهای قلبی- عروقی، تصلب شریان (آترواسکلروز) است (۱). بسیاری از محققان بر این باورند که آسیب اندوتیلیوم شریانی، نخستین گام در ایجاد آترواسکلروز است. هنگامی که اندوتیلیوم دچار نقایص کارکردی شود، دیگر کارایی چندانی در جلوگیری از ورود لیپوپروتئین‌های در حال گردش به داخل دیواره شریانی ندارد (۲).

در سالهای اخیر آشکار شده که سلول‌های اندوتیال، به غیر از تنظیم نفوذپذیری مواد و دیاپدز سلول‌ها به داخل رگ، وظایف بسیار گستردگایی را بر عهده دارند؛ تنظیم کشش ماهیچه‌های صاف رگی، فعال‌سازی پلاکت‌ها، دخالت در پاسخهای ایمنی، تولید مولکول‌های چسبنده سطحی از مهمترین این اعمال می‌باشد (۳)؛ همچنین اندوتیلیوم، تعداد زیادی از مواد واژواکتیو را آزاد می‌کند که این مواد را می‌توان به دو دسته کلی تقسیم کرد (۴)：

۱- عوامل استراحت مشتق از اندوتیلیوم<sup>\*</sup> (EDRFs)

۲- عوامل انقباضی مشتق از اندوتیلیوم<sup>†</sup> (EDCFs)

نیتریک اکساید<sup>‡</sup> (NO) یکی از مهمترین عوامل استراحت مشتق از این سلول‌ها است. NO یک گاز محلول با نیمه عمر حدود ۶ تا ۳۰ ثانیه است که پیوسته از اسیدآمینه ال- آرژینین<sup>§</sup> توسط آنزیم وابسته به کلسیم-کالمودولین به نام نیتریک اکساید سیستاز در سلول‌های اندوتیال سنتز می‌شود (۵). کمبود NO که می‌توان از آن با عنوان اختلالات اندوتیالی نام برد، اولین مرحله جهت به وجودآمدن بسیاری از اختلالات از جمله اختلالات قلبی- عروقی، دیس‌لیپیدمی، مقاومت انسولینی و حتی دیابت قندی می‌باشد (۶).

مطالعات جدیدی در رابطه با اثرات مصرف ال- آرژینین در ارتباط با وظایف اندوتیلیوم بخصوص از طریق تنظیم ساخت NO صورت گرفته است؛ برای مثال

\* Endothelium-Derived Relaxing Factors (EDRFs)

<sup>†</sup> Endothelium-Derived Contracting Factors (EDCFs)

<sup>‡</sup> Nitric Oxide

<sup>§</sup> L-Arginine

\*\* Cheek Pouch

خشک کردن، وزن شد و در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فرمامید قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، جذب نوری محلول مورد نظر توسط اسپکتوفوتومتر در طول موج ۶۲۰ نانومتر سنجیده شد؛ سپس از روی مقایسه آن با منحنی استاندارد به میزان نفوذپذیری اندوتلیوم برحسب میکروگرم ایوان‌بلو به‌ازای گرم بافت پی برده شد (۱۴).

اساس آزمایشات بیوشیمیابی انجام گرفته بر پایه روش آنزیمی، کالیمتری برای اندازه‌گیری تک نقطه‌ای با روش فوتومتری بود. در این روش برای سنجش هر کدام از انواع لیپیدها به محلول‌های استاندارد، بلانک و نمونه سرم خون احتیاج بود.

داروی ال- آرژینین و فرمامید از شرکت Merck خریداری شد؛ همچنین برای سنجش سطح سرمی لیپیدها از کیت‌های پارس‌آزمون استفاده گردید.

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرمافزار SPSS و آزمون یک طرفه ANOVA و نیز آزمون پس آماری Tukey در سطح معنی‌داری  $P \leq 0.05$  مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

### یافته‌ها

- نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت (برحسب میکروگرم ایوان‌بلو به ازای گرم بافت) در موش‌های تعذیه‌شده با رژیم عادی (شاهد) و پرکلسترول (تجربی): میانگین نفوذپذیری در گروه شاهد ۱ (رژیم غذایی عادی) برابر  $8/7 \pm 0.8$  میکروگرم ایوان‌بلو به ازای گرم بافت\* و در گروه شاهد ۲ (رژیم غذایی عادی همراه با آب حاوی ال- آرژینین  $5/0.8 \pm 0.8$  بود؛ این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ )؛ همچنین میانگین نفوذپذیری در گروه تجربی ۱ (رژیم غذایی پرکلسترول)  $7/15 \pm 0.15$  و در گروه تجربی ۲ (رژیم غذایی پرکلسترول همراه با آب حاوی ال- آرژینین)  $4/0.8 \pm 0.4$  بود ( $P < 0.05$ )؛ در رژیم غذایی

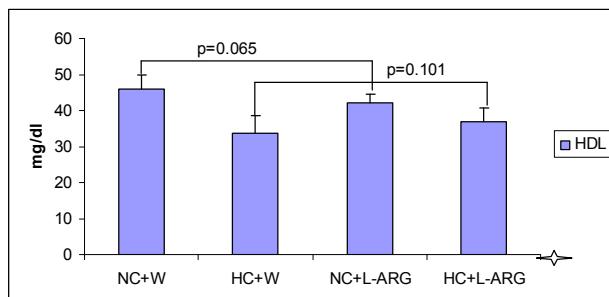
به همراه آب حاوی ال- آرژینین دریافت کردند (۸).  
 ۳- گروه تجربی ۱- ۹ سر موش که رژیم غذایی حاوی کلسترول ۴٪ را همراه با آب خالص دریافت کردند (۱۲).  
 ۴- گروه تجربی ۲- ۹ سر موش که رژیم غذایی حاوی کلسترول ۴٪ را همراه با آب حاوی ال- آرژینین ۲٪ دریافت کردند.

سپس برای تعیین سطح سرمی HDL، LDL، تری‌گلیسرید و کلسترول خونگیری از سینوس چشمی انجام شد؛ به همین منظور حیوان با کمی اتر بیهوش و سپس با استفاده از لوله مویینه و یا پیپت پاستور از گوشه چشم حیوان حدود ۲۰۰ خون گرفته شد. خون جمع‌آوری شده سانتی‌فوار و سرم خون جدا گردید و در لوله‌های اپاندورف مجزا در دمای  $70^{\circ}\text{C}$ - نگهداری شد.

رژیم غذایی به مدت هشت هفته ادامه یافت. در طول این مدت برای کنترل، وزن حیوانات تقریباً هر ۱۰ روز یک بار اندازه‌گیری شد. در پایان هفته هشتم جهت اندازه‌گیری نفوذپذیری اندوتلیوم، ابتدا حیوانات با کتابخانه با دوز  $75 \text{ mg/kg}$  بیهوش شدند؛ سپس وزن آنها اندازه‌گیری شد. آنگاه بر روی تخته ثابت شده ناحیه گردن برش داده شد؛ سپس با پاره‌کردن ماهیچه‌های ناحیه گردن تراشه نمودار گردید. در سمت راست مجاور تراشه و با نفوذ به بافت‌های عمقی اطراف آن شریان کاروتید سمت راست حیوان پیدا شد و بافت‌های پیوندی و همچنین عصب احاطه‌کننده شریان از اطراف آن جدا گردید؛ سپس شریان در مسیر به سمت قلب با پنس بسته شد. آنگاه با قیچی تیز، برشی کوچک بر روی شریان ایجاد و کانول وارد شریان شد و با نخ کانول در داخل شریان محکم گردید؛ سپس برای تعیین میانگین سطح سرمی چربیها، خونگیری از حیوان انجام شد. آنگاه ایوان‌بلو با دوز  $20 \text{ mg/kg}$  (۱۳) به حیوان تزریق شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه حیوان با دوز  $100 \text{ mg/kg}$  از ماده بیهوشی کشته شد؛ آنگاه قفسه سینه حیوان باز و سپس آئورت به آهستگی جدا گردید؛ به دقت تمیز و در سرم فیزیولوژی شسته شد؛ پس از

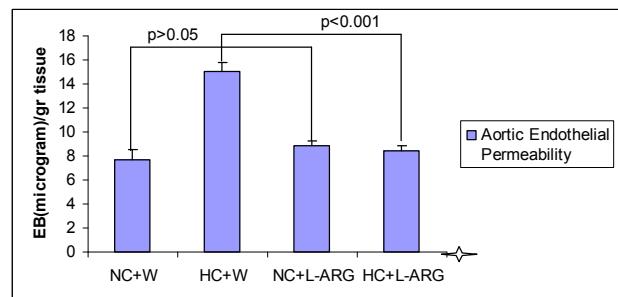
\* EB (microgram)/gr tissue

میانگین HDL در گروه شاهد ۱، و در گروه تجربی ۱، همچنین میانگین HDL در گروه شاهد ۲، و در گروه تجربی ۲، آرژینین سبب افزایش HDL شد اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ( $P>0.05$ )، (نمودار ۳). نسبت LDL/HDL در گروه شاهد ۱، و در گروه تجربی ۱، در رژیم غذایی عادی، افزایش مشخصی در نسبت LDL/HDL در گروه شاهد ۲ (دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژینین) مشاهده شد ( $P<0.05$ )؛ اما در رژیم غذایی عادی، LDL/HDL در گروه تجربی ۲ (دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژینین) مشاهده شد ( $P<0.05$ )، (نمودار ۴).

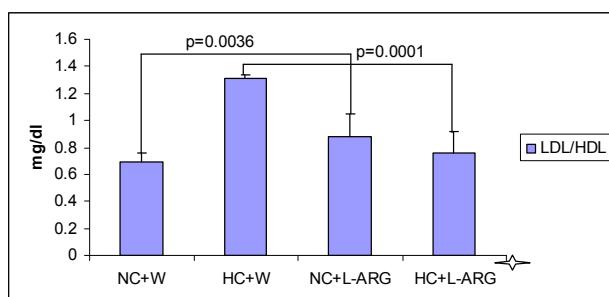


نمودار ۳- اثر ال-آرژینین بر روی سطح سرمی HDL پلاسمای موش  
ال-آرژینین چه در رژیم عادی و چه در رژیم پرکلسترول تغییر مشخصی در سطح HDL نشان نمی‌دهد ( $P>0.05$ ).  
(نمودار ۳).

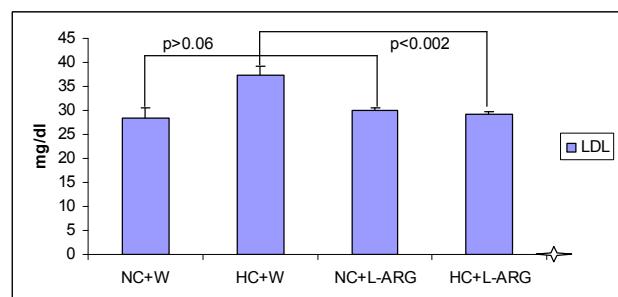
پرکلسترول کاهش بارزی در میانگین نفوذپذیری گروه دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژینین مشاهده شد (نمودار ۱). ■ تأثیر ال-آرژینین بر سطح سرمی لیپوپروتئین‌های موجود در پلاسمای خون: میانگین LDL در گروه شاهد ۱ (رژیم غذایی عادی) برابر LDL  $28/5\pm2/1$  mg/dL و در گروه تجربی ۱ (رژیم غذایی عادی) برابر LDL  $37/43\pm1/9$  mg/dL بود؛ میانگین LDL در گروه شاهد ۲ (رژیم غذایی عادی همراه با آب حاوی ال-آرژینین) برابر  $30\pm0.5$  mg/dL و در گروه تجربی ۲ (رژیم غذایی پرکلسترول و آب حاوی ال-آرژینین) برابر  $29/2\pm0.45$  mg/dL بود؛ بنابراین در رژیم غذایی عادی تفاوتی بین میانگین LDL در دو گروه مشاهده نشد ( $P>0.05$ ) اما در رژیم غذایی پرکلسترول کاهش بارزی در میانگین LDL در گروه دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژینین مشاهده گردید ( $P<0.05$ ) (نمودار ۲).



نمودار ۱- اثر ال-آرژینین بر روی نفوذپذیری اندوتیلیوم آنورت موش  
ال-آرژینین تغییری در نفوذپذیری آنورت در رژیم غذایی عادی نشان نمی‌دهد ( $P>0.05$ ) اما در رژیم غذایی پرکلسترول نفوذپذیری را کاهش می‌دهد ( $P<0.05$ ).  
(نمودار ۱).



نمودار ۴- اثر ال-آرژینین بر سطح سرمی LDL/HDL پلاسمای موش  
ال-آرژینین سبب افزایش این نسبت در رژیم عادی می‌شود ( $P<0.05$ ) اما در رژیم پرکلسترول میزان آن را کاهش می‌دهد ( $P<0.05$ ).  
(نمودار ۴).



نمودار ۲- اثر ال-آرژینین بر سطح سرمی LDL پلاسمای موش  
ال-آرژینین تغییری در میزان LDL در رژیم عادی نشان نمی‌دهد ( $P>0.05$ ) اما در رژیم پرکلسترول میزان LDL را کاهش می‌دهد ( $P<0.05$ ).  
(نمودار ۲).

→ رژیم غذایی عادی، W→آب، HC→رژیم پرکلسترول، L-ARG→آب حاوی ال-آرژینین (در تمام گروهها تعداد=۹).

## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اضافه کردن آل-آرژینین به رژیم غذایی پرکلسترول در موش می‌تواند نفوذپذیری آندوتلیوم آثورت را به طور معنی‌داری کاهش دهد و از این رو یک اثر حفاظتی بر عملکرد آثورت داشته باشد. این مسئله می‌تواند تأییدی بر نظر بیشتر محققان باشد که آل-آرژینین به عنوان یک اثر القاکننده سنتز NO می‌تواند اثرات مثبتی بر جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروزیس داشته باشد؛ برای مثال Phivthong-Ngam در طی تحقیقی در سال ۱۹۹۸ نشان داد که افزودن آل-آرژینین به رژیم غذایی پرکلسترول خرگوش، می‌تواند اثرات تنگی عروق القاشه در توسط آندوتلیوم را به طور مؤثری تعدیل و مهار و عملکرد آندوتلیوم را به نحو مطلوبی تنظیم نماید (۷). Boger نیز در طی تحقیقی در رابطه با مقایسه اثرات جلوگیری کننده از آترواسکلروز در بین دو داروی آل-آرژینین و لوواستاتین به این نتیجه رسید که آل-آرژینین ماده بسیار مؤثرتری در روند بهبود آترواسکلروزیس در خرگوش‌های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول می‌باشد و می‌تواند به طور مؤثری از تشکیل پلاک‌های انتیمای کاروتید جلوگیری نماید و همچنین با حفظ خاصیت اتساع عروقی وابسته به آندوتلیوم از میزان افزایش و خامت انتیمای آثورت جلوگیری نماید (۸)؛ همین محقق به همراه همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان داد که آل-آرژینین پیش‌ساز NO، حتی می‌تواند از تکثیر سلول‌های میواینتیما و تجمع مونوسیت‌ها در داخل انتیمای خرگوش‌های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول جلوگیری نماید (۱۵).

نتایج برخی مطالعات نیز نشان می‌دهد که آل-آرژینین می‌تواند اثرات منفی بر عملکرد آندوتلیوم عروق کرونری قلب داشته باشد؛ از جمله در مطالعه Drexler و همکاران، مصرف آل-آرژینین در ۱۸ بیمار با پس کرونری موجب افزایش اختلال عملکردی آندوتلیوم این عروق شد (۱۶). Jeremy و همکاران نیز نشان دادند که اضافه کردن آل-آرژینین به رژیم غذایی خرگوش‌های با تغذیه کلسترول بالا فقط به صورت

کوتاه‌مدت می‌تواند اثرات محافظتی بر روی آندوتلیوم عروق داشته باشد و در طولانی مدت دیگر این ماده اثرات خود را از دست می‌دهد (۱۷).

در بیشتر مطالعات اخیر که از آل-آرژینین به عنوان مکمل استفاده شده، نشان داده شده است که مصرف آل-آرژینین به همراه سایر ترکیبات محافظت‌کننده از آترواسکلروز مثل آنتی‌اکسیدانت‌ها و سیتروولین، می‌تواند اثرات بسیار مؤثری در جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروز داشته باشد (۲۰-۱۸).

مطالعه حاضر نیز هم جهت با مطالعاتی است که نشان می‌دهد آل-آرژینین دارای اثری محافظتی در عملکرد آندوتلیوم عروق می‌باشد و با استفاده از این اسید آمینه در شرایط هیپرکلسترولیمی، می‌توان با کاهش نفوذپذیری عروق از پیشرفت آترواسکلروزیس جلوگیری نمود.

یافته بسیار جالبی که در این مطالعه بدست آمد، اثرات بسیار مثبت این اسید آمینه در پایین آوردن سطح سرمی LDL و افزایش میزان HDL و کاهش معنی‌دار نسبت LDL/HDL در شرایط هیپرکلسترولیمی بود. این یافته نشان می‌دهد که آل-آرژینین می‌تواند از طریق دو مسیر مستقل، کاهش نفوذپذیری آندوتلیوم عروق و کاهش لیپیدهای مضرّ واقع در خون، اثرات حفاظتی خود را در جلوگیری از آترواسکلروزیس اعمال نماید.

مطالعات محدود و بعضاً متناقضی در این رابطه وجود دارد؛ تعدادی از این تحقیقات پیشنهاد می‌کنند که LDL اکسیدشده می‌تواند از طریق کاهش فعالیتهای NO روی تونوسیته عروقی تأثیر بگذارد؛ از این رو اکسیداسیون عروقی NO می‌تواند به عنوان عاملی مهم در غیرفعال کردن NO محسوب گردد و تولید پراکسی نیتریت که فرم غیرفعال NO است، در حقیقت محصول اکسیداسیون NO توسط سوپراکسیدهای داخل سلولی است. به عقیده Cominacina و همکاران، LDL اکسیدشده می‌تواند از طریق اتصال به گیرندهای خود واقع در سطح سلول‌های آندوتلیال (Lox-1) موجب افزایش تولید اکسیژن داخل سلولی و به تبع آن

می‌توانند مقادیر بیشتری از نیتریک اکساید را سنتز کنند؛ اما به دلیل افزایش تجمع آئیون‌های سوپراکسید یا به سرعت به دلیل اکسیدهشدن غیرفعال گردیده و یا به اشکال سمتی نیتروژن اکسایدها تبدیل می‌شوند؛ افزودن ال-آرژینین باعث کاهش چسبندگی لوکوسیت‌ها و مونوسیت‌ها به اندوتلیوم و کاهش تجمع پلاکت‌ها می‌گردد؛ بنابراین با این فرایند نیز سبب کاهش آسیب بافت اندوتلیوم و کاهش نفوذپذیری آن می‌شود.

با توجه به این که نتایج مربوط به مطالعات اثر نیتریک اکساید بر نفوذپذیری اندوتلیوم عروق بسیار متفاوت و ضد و نقیض است، احتمال می‌رود که این اختلاف به دلیل تفاوت در جانداران مورد استفاده در آزمایش، عروق مورد بررسی، نوع ماده مورد استفاده به عنوان شاخص نفوذپذیری و اندازه این ماده و یا دوز القاکنده مورد استفاده در آزمایش باشد؛ اما آنچه که مهم است این است که همه این مطالعات بر نقش مهم نیتریک اکساید در تنظیم نفوذپذیری اندوتلیوم عروق تأکید می‌کنند.

### نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که مصرف ال-آرژینین اهمیت زیادی در حفاظت عملکردی اندوتلیوم آثورت دارد و این مسئله ضرورت استفاده از این اسیدآمینه را در شرایط هیپرکلسترولمی بیان می‌نماید. کاهش نفوذپذیری آثورت و کاهش نسبت LDL/HDL می‌تواند به طور مؤثری از شدت بیماری آتروواسکلروزیس بکاهد.

### تقدیر و تشکر

از جناب آقای افتخاری و خانم‌ها ناسوتی و عسکری کارشناسان محترم آزمایشگاه تحقیقات و همچنین خانم لطفی کارشناس محترم آزمایشگاه طب تجربی که با مساعدتهای بی‌دریغشان ما را در انجام تحقیق یاری فرمودند، تشکر و قدردانی می‌شود.

اکسیداسیون NO و غیرفعال کردن آن گردد (۲۱). مطالعه Walker و همکاران بر روی ۴۰ بیمار با آنژین پایدار به منظور تعیین اثرات مصرف ال-آرژینین بر روی اتساع عروقی، نشان داد که مصرف دو هفته‌ای ال-آرژینین تأثیری بر اتساع عروقی ندارد ولی بررسی عوامل بیوشیمیایی خون این بیماران نشان داد که ال-آرژینین می‌تواند به طور معنی‌داری میزان تری‌گلیسریدهای خون را کاهش دهد ولی بر روی LDL و HDL خون این بیماران تأثیری نداشت (۲۲).

تحقیقاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد ال-آرژینین تأثیری بر میزان LDL و HDL سرم خون ندارد (۲۳، ۲۴). به هر صورت با توجه به اطلاعات بسیار متفاوت به دست آمده، مطالعات بسیار گستردگری در این رابطه و مکانیزم‌های احتمالی دخیل در آن می‌باشد صورت پذیرد.

از بررسی مطالعات مربوط به اثر القاکنده‌های سنتز نیتریک اکساید بر نفوذپذیری اندوتلیوم روشن می‌شود که مکانیزم‌های مربوط به اثر مشتقات NO در افزایش نفوذپذیری مختلف است اما به نظر می‌رسد که به افزایش در سطح سلولی GMP، افزایش تولید پروستانوئیدها و کاهش ATP داخل سلولی که سبب تغییر مورفولوژی اتصالات محکم (Tight Junction) می‌شود و یا تولید رادیکال‌های اکسیژن که با NO ترکیب شده و پراکسی‌نیتریت تشکیل می‌دهند مرتبط است (۲۵)؛ همچنین افزایش NO سبب تغییر پلیمریزاسیون اکتین و در نتیجه تغییر شکل اندوتلیوم و نیز سبب فعال شدن مسیر کلسیم-کالمودولین و در نتیجه بازشدن اتصالات می‌شود که این موارد نیز با افزایش نفوذپذیری اندوتلیوم همراه است (۲۶).

اما LDL افزوده شده به سلول‌های اندوتلیال آزادسازی نیتروژن اکسایدها بویژه پراکسی‌نیتریت را تحریک می‌کند. LDL انتقال و سنتز نیتریک اکساید را تحریک می‌کند؛ بنابراین سلول‌های دیواره رگها در افراد مبتلا به هیپرکلسترولمی و آتروواسکلروز در مقایسه با افراد سالم

**منابع:**

- 1- Keany Jr, John F. Atherosclerosis: From lesion formation to plaque activation and endothelial dysfunction. *Mol Med.* 2000; 21: 99-166.
- 2- Qingh M. Low density lipoprotein particle as carriers for bioactive hormonal substances. *Helsinki Finland.* 1999; 10-22.
- 3- Poreds P. Endothelial dysfunction in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2001; 7 (4): 276-80.
- 4- Matsuoka H, Imaizumi T. Recent trends in studies of etiology of hypertension: endothelium-derived factors. *Nippon Rinsho.* 2000; 59 (5): 878-85.
- 5- Dusting GJ. Nitric oxide in coronary disease: role in atherosclerosis, myocardial reperfusion and heart failure. *Exs.* 1996; 76: 33-35.
- 6- Badimon L, Martinez-Gonzalez J, Liorente-Cortes V, Rodriguez T. Cell biology and lipoprotein in atherosclerosis. *Curr Mol Med.* 2006; 6 (5): 439-56.
- 7- Phivthong-Ngam L, Bode-Boger SM, Boger RH, Bohme M, Brandes RP, Mugge A, Frolich JC. Dietary L-Arginine Normalizes Endothelin-Induced Vascular Contractions In Cholesterol-Fed Rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1998; 32(2): 300-7.
- 8- Boger RH, Bode-Boger SM, Brandes RP, Phivthong-Ngam L, Bohme M, Nafe R, et al. Dietary L-Arginine reduces the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: Comparison with lovastatin. *Circulation.* 1997; 96 (4): 1282-90.
- 9- Mayhan WG. Role of Nitric Oxide in modulating permeability of hamster cheek pouch in response to adenosine 5'-diphosphate and bradykinin. *Inflammation.* 1993; 16: 295-305.
- 10- Mayhan WG. Nitric oxide accounts for histamine-induced increases in macromolecular extravasation. *Am J Physiol.* 1994; 266 (6 Pt 2):H2369-73.
- 11- Kurose I, Kubes P, Wolf R, Grisham MB, Aw TY, Specian RD, Granger DN. Microvascular responses to inhibition of Nitric Oxide production: Role Active Oxidants Circ Res. 1995; 76: 30-39.
- 12- Onozato MI, Tojo A, Goto A, Fujiata T. Radical scavenging effect of gliclazide in diabetic rats fed with a high-cholesterol diet. *Kidney.* 2004; 65 (3): 951-60.
- 13- Pierre P, Bouffard L, Popirakis Me, Maheux P. Increased extravasation of macromolecules in skeletal muscles of the zucker rat model. *Obesity.* 2006; 14 (5): 787-93.
- 14- Sitniewska EM, Wiśniewska RJ. Influence of secretin and L-NAME on vascular permeability in the coronary circulation of intact and diabetic rats. *Regul Pept.* 2001; 96 (3):105-11.
- 15- Boger RH, Bode-Boger SM, Kienke S, Stan AC, Nafe R, Frolich JC. Dietary L-Arginine decreased myointimal cell proliferation and vascular monocyte accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis.* 1998; 136 (1): 67-77.
- 16- Drexler H, Fischell TA, Pinto FJ, Chenzbraun A, Botas J, Cooke JP, et al. Effect of L-Arginine on coronary endothelial function in cardiac transplant recipients. Relation to vessel wall morphology. *Circulation.* 1994; 89 (4): 1615-23.
- 17- Jeremy RW, McCarron H, Sullivan D. Effects of dietary L-Arginine on atherosclerosis and endothelium-dependent vasodilatation in the hypercholesterolemic rabbit. Response according to treatment duration, anatomic site, and sex.: *Circulation.* 1996; 94 (3): 498-506.
- 18- Hayashi T, Juliet PA, Matsui-Hirai H, Miyazaki A, Fukatsu A, Funami J, et al. Citrulline and l-arginine supplementation retards the progression of high-cholesterol-diet-induced atherosclerosis in rabbits. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005; 102 (38): 13681-86.
- 19- Ross R. Atherosclerosis- an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999; 340: 115-26.

- 20- Cooke JP, Singer AH, Tsao P, Rowan RA, Billingham ME. Antiatherogenic effects of L-Arginine in the hypercholesterolemic Rabbit. *J Clin Invest.* 1992; 90 (3): 1168-72.
- 21- Cominacini L, Rigoni A, Pasini AF, Garbin U, Davoli A, Campagnola M, et al. The binding of oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) to ox-LDL receptor-1 reduces the intracellular concentration of nitric oxide in endothelial cells through an increased production of superoxide. *J Biol Chem.* 2001; 276 (17): 13750-55.
- 22- Walker HA, McGing E, Fisher I, Böger RH, Bode-Böger SM, Jackson G, et al. Endothelium-dependent vasodilation is independent of the plasma L-Arginine/ADMA ratio in men with stable angina: lack of effect of oral L-Arginine on endothelial function, oxidative stress and exercise performance. *J Am Coll Cardiol.* 2001; 38 (2): 499-505.
- 23- Muhibur R, Zac V, Moorhead JF. Paradoxical increase in nitric oxide synthase activity in hypercholesterolaemic rats with impaired renal function and decreased activity of nitric oxide. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16: 262-68.
- 24- Candipan RC, Wang B, Buitrago R, Tsao PH, Cooke JP. Regression or progression. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology *J Am Coll Cardiol.* 1996 ;16:44-50.
- 25- Kroll J, Waltenberger J. VEGF-A induces expression of enos and inos in endothelial cells via VEGF receptor Z (KDR). *Biochem Biophys Res Commun.* 1998; 252: 73-76.
- 26- He Pand BL, Curry FE. Effect of Nitric Oxide synthase inhibitors on endothelial [Ca<sup>2+</sup>]I and microvascular permeability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 1997; 272: H176-H185.

**Title:** The effect of dietary L-Arginine on aortic endothelial permeability and level of blood lipoprotein in high-cholesterol fed rats

**Authors:** M. Khazaei<sup>1</sup>, M. Afshar<sup>2</sup>, E. Haghparast<sup>3</sup>

**Abstract:**

**Background and Aim:** Nitric oxide (NO) is a substance which protects vessels against atherogenic effects. Previous studies have shown that there is a direct relationship between increasing of permeability of endothelial cells and formation and progression of atherosclerosis. The aim of this study was to evaluate the role of L-Arginine in permeability of aortic endothelial cells and serum lipoprotein level in high-cholesterol fed rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 36 male rats were divided into two groups; one with a normal and the other with a high-cholesterol diet .Then each group was divided into two sub-groups :Group “a” used L-Arginine 2.25% in water and group ”b” used safe drinking water. After eight weeks, the right carotids of the animals were cannulated and 20 mg/kg of Evans Blue was injected into the subjects. Then, the whole aorta of each animal was dissected and put in 2.5ml formamid solution. After 24 hs, absorbance of the solution was measured by means of spectrophotometer. Finally, the obtained data was analysed by SPSS software using one-way ANOVA, and Tukey statistical test; and  $P \leq 0.05$  was taken as the significant level.

**Results:** L-Arginine decreased endothelial permeability in aorta in rats feeding on high-cholesterol foods in comparison with the control group. ( $P < 0.005$ ). In addition, L-Arginine reduced the LDL level in the blood serum of rats with a high-cholesterol diet in comparison with the control group ( $P < 0.005$ ).

**Conclusion:** Administration of L-Arginine has a protective effect on the permeability of endothelium of aortic vessels in hypercholesterolemic condition.

**Key Words:** L-Arginine; Cholesterol; Endothelial Permeability

<sup>1</sup> Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences. Isfahan, Iran

<sup>2</sup> Corresponding Author; Associated Professor, Department of Anatomy, Faculty of Medicine and Member of Diabetes Research Centre, Birjand University of Medical Sciences Birjand, Iran afshar\_md@yahoo.com

<sup>3</sup>. MSc. in Physiology