

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

دکتر مجید خزاعی^۱ - دکتر محمد افشار^۲ - الهام حق پرست^۳

چکیده

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

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۳۶ سر موش نر به دو گروه آزمون و شاهد تقسیم شدند که هر گروه خود شامل دو زیرگروه دریافت‌کننده آب معمولی و آب به همراه ۲/۲۵٪ آل-آرژینین بودند. این رژیم غذایی به مدت هشت هفته ادامه داشت. در پایان هفته هشتم شریان کاروتید راست حیوانات کانونه شد و محلول ایوان‌بلو با دوز ۲۰ mg/kg تزریق گردید؛ سپس تمام آئورت آنها برداشته شد و در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فرماید قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، جذب نوری محلول فرماید توسط اسپکتوفتومتر 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 آل-آرژینین سبب کاهش نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرکلسترول در مقایسه با گروه شاهد شد ($P < 0.005$)؛ همچنین در مقایسه با گروه شاهد مصرف آل-آرژینین موجب پایین آمدن سطح LDL در سرم خون موش‌های تغذیه‌شده با رژیم پرکلسترول گردید ($P < 0.005$).

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

واژه‌های کلیدی: آل-آرژینین؛ کلسترول؛ نفوذپذیری اندوتلیال

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

^۱ استادیار گروه آموزشی فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

^۲ 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 نمابر: ۰۵۶۱-۴۴۳۳۰۰۴ پست الکترونیکی: afshar_md@yahoo.com

^۳ کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری

مقدمه

یکی از علل مهم بیماریهای قلبی- عروقی، تصلب شریان (آترواسکلروز) است (۱). بسیاری از محققان بر این باورند که آسیب اندوتلیوم شریانی، نخستین گام در ایجاد آترواسکلروز است. هنگامی که اندوتلیوم 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 اندوتلیال، به غیر از تنظیم نفوذپذیری مواد و دیپدز سلول‌ها به داخل رگ، وظایف بسیار گسترده‌ای 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 اندوتلیوم، تعداد زیادی از مواد وازواکتیو را آزاد می‌کند که این مواد را می‌توان به دو دسته کلی تقسیم کرد (۴):

۱- عوامل استراحت مشتق از اندوتلیوم* (EDRFs)

۲- عوامل انقباضی مشتق از اندوتلیوم† (EDCFs)

نیتریک‌اکساید[‡] (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- آرژنین[§] توسط آنزیم وابسته به کلسیم-کالمودولین به نام نیتریک‌اکساید سینتاز در سلول‌های اندوتلیال سنتز می‌شود (۵). کمبود NO که می‌توان از آن با عنوان اختلالات اندوتلیالی نام برد، اولین مرحله جهت به وجود آمدن 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- آرژنین در ارتباط با وظایف اندوتلیوم بخصوص از طریق تنظیم ساخت NO صورت گرفته است؛ برای مثال

Phivthong- Ngam L و همکاران نشان دادند که افزایش ال- آرژنین 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- آرژنین به رژیم غذایی خرگوش‌های تغذیه‌شده با کلسترول بالا، می‌تواند از پیشرفت آترواسکلروز جلوگیری نماید (۸)؛ ولی مطالعات موجود جهت تأثیر ال- آرژنین 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* در هامستر (۹) و عروق مزانتیر در قورباغه (۱۰) می‌گردد اما Kurose و همکاران گزارش دادند که NO باعث کاهش نفوذپذیری در عروق مزانتیر در موش می‌گردد (۱۱).

با توجه به مطالب پیش‌گفت، مطالعه حاضر با هدف تعیین اثرات ال- آرژنین 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 ۲۴۰-۲۶۰ 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 غذای دریافتی حیوانات به دو گروه رژیم غذایی عادی (نورموکلسترولمی) و پرکلسترول (هایپرکلسترولمی) و از نظر آب دریافتی به دو گروه دریافت‌کننده آب معمولی و آب حاوی ال- آرژنین 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

* Endothelium-Derived Relaxing Factors (EDRFs)

† Endothelium-Derived Contracting Factors (EDCFs)

‡ Nitric Oxide

§ L-Arginine

** Cheek Pouch

به همراه آب حاوی ۲/۲۵٪ 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 ۲/۲۵٪ دریافت کردند.

سپس برای تعیین سطح سرمی HDL، LDL، تری گلیسرید و کلسترول خونگیری از سینوس چشمی انجام شد؛ به همین منظور حیوان با کمی اتر بیهوش و سپس با استفاده از لوله موینه و یا پیپت پاستور از گوشه چشم حیوان حدود ۲cc خون گرفته شد. خون جمع‌آوری شده سانتریفوژ و سرم خون جدا گردید و در لوله‌های اپاندورف مجزا در دمای ۷۰°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 کتامین با دوز ۷۵ mg/kg بیهوش شدند؛ سپس وزن آنها اندازه‌گیری شد. آنگاه بر روی تخته ثابت شده ناحیه گردن برش داده شد؛ سپس با پاره کردن 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 کاتول وارد شریان شد و با نخ کاتول در داخل شریان محکم گردید؛ سپس برای تعیین میانگین سطح سرمی چربیها، خونگیری از حیوان انجام شد. آنگاه ایوان‌بلو با دوز ۲۰mg/kg (۱۳) به حیوان تزریق شد. پس از گذشت ۲۰ دقیقه حیوان با دوز ۱۰۰ 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

خشک کردن، وزن شد و در ۲/۵ میلی‌لیتر محلول فرامید قرار داده شد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، جذب نوری محلول مورد نظر توسط اسپکتوفتومتر 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 بیوشیمیایی انجام گرفته بر پایه روش آنزیمی، کالیمتری برای اندازه‌گیری تک‌نقطه‌ای با روش فتومتری 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 فرامید 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.

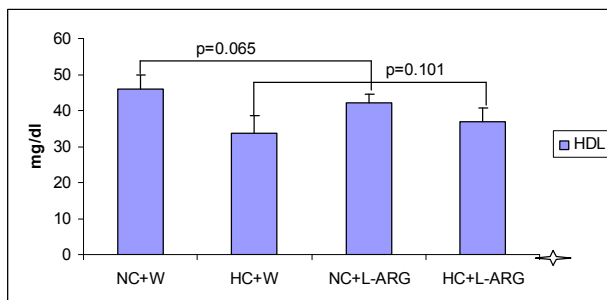
یافته‌ها

■ نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت (برحسب میکروگرم ایوان‌بلو به ازای گرم بافت) در موش‌های تغذیه‌شده با رژیم عادی (شاهد) و پرکلسترول (تجربی):

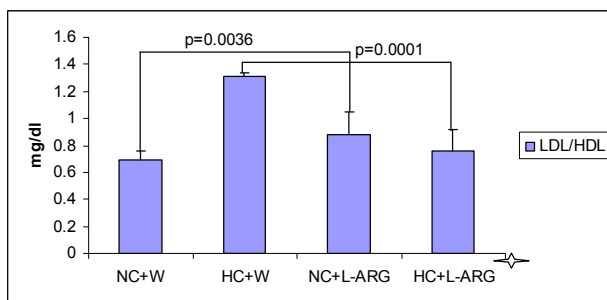
میانگین نفوذپذیری در گروه شاهد ۱ (رژیم غذایی عادی) برابر 7.7 ± 0.8 میکروگرم ایوان‌بلو به ازای گرم بافت* و در گروه شاهد ۲ (رژیم غذایی عادی همراه با آب حاوی ال- آرژینین 8 ± 0.5 بود؛ این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0.05$)؛ همچنین میانگین نفوذپذیری در گروه تجربی ۱ (رژیم غذایی پرکلسترول) 15.1 ± 0.7 و در گروه تجربی ۲ (رژیم غذایی پرکلسترول همراه با آب حاوی ال- آرژینین) 8.4 ± 0.4 بود ($P < 0.05$)؛ در رژیم غذایی

* EB (microgram)/gr tissue

میانگین HDL در گروه شاهد ۱، $45/88 \pm 3/9$ mg/dL و در گروه تجربی ۱، $33/7 \pm 5$ mg/dL بود ($P > 0/05$)؛ همچنین میانگین HDL در گروه شاهد ۲، $42 \pm 0/5$ mg/dL و در گروه تجربی ۲، $37 \pm 2/7$ mg/dL بود؛ اگر چه ال-آرژنین سبب افزایش HDL شد اما از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P > 0/05$)، (نمودار ۳). نسبت LDL/HDL در گروه شاهد ۱، $0/69 \pm 0/07$ mg/dL و در گروه تجربی ۱، $1/31 \pm 0/03$ mg/dL بود؛ این نسبت در گروه شاهد ۲، $0/88 \pm 0/17$ و در گروه تجربی ۲، $0/76 \pm 0/16$ mg/dL بود؛ در رژیم غذایی عادی، افزایش مشخصی در نسبت LDL/HDL در گروه شاهد ۲ (دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژنین) مشاهده شد ($P < 0/05$)؛ اما در رژیم غذایی پرکلسترول، کاهش بارزی در نسبت LDL/HDL در گروه تجربی ۲ (دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژنین) مشاهده شد ($P < 0/05$)، (نمودار ۴).



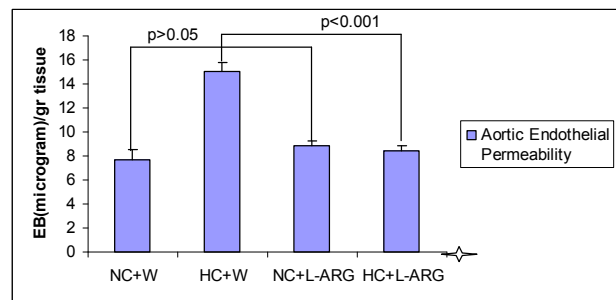
نمودار ۳- اثر ال-آرژنین بر روی سطح سرمی HDL پلاسمای موش ال-آرژنین چه در رژیم عادی و چه در رژیم پرکلسترول تغییر مشخصی در سطح HDL نشان نمی‌دهد ($P > 0/05$).



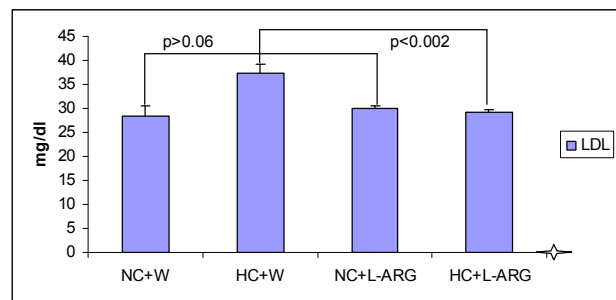
نمودار ۴- اثر ال-آرژنین بر سطح سرمی LDL/HDL پلاسمای موش ال-آرژنین سبب افزایش این نسبت در رژیم عادی می‌شود ($P < 0/05$) اما در رژیم پرکلسترول میزان آن را کاهش می‌دهد ($P < 0/05$).

NC ← رژیم غذایی عادی، W ← آب، HC ← رژیم پرکلسترول، L-ARG ← آب حاوی ال-آرژنین (در تمام گروهها تعداد=۹)

پرکلسترول کاهش بارزی در میانگین نفوذپذیری گروه دریافت‌کننده آب حاوی ال-آرژنین مشاهده شد (نمودار ۱).
 ■ تأثیر ال-آرژنین بر سطح سرمی لیپوپروتئین‌های موجود در پلاسمای خون: میانگین LDL در گروه شاهد ۱ (رژیم غذایی عادی) برابر $28/5 \pm 2/1$ mg/dL و در گروه تجربی ۱ (رژیم غذایی پرکلسترول و آب معمولی) برابر $37/43 \pm 1/9$ mg/dL بود؛ میانگین LDL در گروه شاهد ۲ (رژیم غذایی عادی همراه با آب حاوی ال-آرژنین) برابر $30 \pm 0/5$ mg/dL و در گروه تجربی ۲ (رژیم غذایی پرکلسترول و آب حاوی ال-آرژنین) برابر $29/2 \pm 0/45$ 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-آرژنین مشاهده گردید ($P < 0/05$) (نمودار ۲).



نمودار ۱- اثر ال-آرژنین بر روی نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت موش ال-آرژنین تغییری در نفوذپذیری آئورت در رژیم غذایی عادی نشان نمی‌دهد ($P > 0/05$) اما در رژیم غذایی پرکلسترول نفوذپذیری را کاهش می‌دهد ($P < 0/05$).



نمودار ۲- اثر ال-آرژنین بر سطح سرمی LDL پلاسمای موش ال-آرژنین تغییری در میزان LDL در رژیم عادی نشان نمی‌دهد ($P > 0/05$) اما در رژیم پرکلسترول میزان LDL را کاهش می‌دهد ($P < 0/05$).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که اضافه کردن ال-آرژنین به رژیم غذایی پرکلسترول در موش می تواند نفوذپذیری اندوتلیوم آئورت را به طور معنی داری کاهش دهد و از این رو یک اثر حفاظتی بر عملکرد آئورت داشته باشد. این مسأله می تواند تأییدی بر نظر بیشتر محققان باشد که ال-آرژنین به عنوان یک اثر القاکننده سنتز NO می تواند اثرات مثبتی بر جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروزیس داشته باشد؛ برای مثال Phivthong-Ngam L در طی تحقیقی در سال ۱۹۹۸ نشان داد که افزودن ال-آرژنین به رژیم غذایی پرکلسترول خرگوش، می تواند اثرات تنگی عروق القاشده توسط اندوتلیوم را به طور مؤثری تعدیل و مهار و عملکرد اندوتلیوم 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 ال-آرژنین و لوواستاتین به این نتیجه رسید که ال-آرژنین ماده بسیار مؤثرتری در روند بهبود آترواسکلروزیس در خرگوش های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول می باشد و می تواند به طور مؤثری از تشکیل پلاک های انتمیای کاروتید جلوگیری نماید و همچنین با حفظ خاصیت اتساع عروقی وابسته به اندوتلیوم از میزان افزایش وخامت انتمیای آئورت جلوگیری نماید (۸)؛ همین محقق به همراه همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان داد که ال-آرژنین پیش ساز NO، حتی می تواند از تکثیر سلول های میواینیتما و تجمع مونوسیت ها در داخل انتمیای خرگوش های تغذیه شده با رژیم پرکلسترول جلوگیری نماید (۱۵).

نتایج برخی مطالعات نیز نشان می دهد که ال-آرژنین می تواند اثرات منفی بر عملکرد اندوتلیوم عروق کرونری قلب داشته باشد؛ از جمله در مطالعه Drexler و همکاران، مصرف ال-آرژنین در ۱۸ بیمار بای پس کرونری موجب افزایش اختلال عملکردی اندوتلیوم این عروق شد (۱۶). Jeremy و همکاران نیز نشان دادند که اضافه کردن ال-آرژنین به رژیم غذایی خرگوش های با تغذیه کلسترول بالا فقط به صورت

کوتاه مدت می تواند اثرات محافظتی بر روی اندوتلیوم عروق داشته باشد و در طولانی مدت دیگر این ماده اثرات خود را از دست می دهد (۱۷).

در بیشتر مطالعات اخیر که از ال-آرژنین به عنوان مکمل استفاده شده، نشان داده شده است که مصرف ال-آرژنین به همراه سایر ترکیبات محافظت کننده از آترواسکلروز مثل آنتی اکسیدانت ها و سیتروپین، می تواند اثرات بسیار مؤثری در جلوگیری از پیشرفت آترواسکلروز داشته باشد (۱۸-۲۰).

مطالعه حاضر نیز هم جهت با مطالعاتی است که نشان می دهد ال-آرژنین دارای اثری محافظتی در عملکرد اندوتلیوم عروق می باشد و با استفاده از این اسید آمینه در شرایط هیپرکلسترولمی، می توان 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 معنی دار نسبت LDL/HDL در شرایط هیپرکلسترولمی بود. این یافته نشان می دهد که ال-آرژنین می تواند از طریق دو مسیر مستقل، کاهش نفوذپذیری اندوتلیوم عروق و کاهش لیپیدهای مضر 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 می کنند که LDL اکسید شده می تواند از طریق کاهش فعالیت های NO روی تونوسیت عروقی تأثیر بگذارد؛ از این رو اکسیداسیون عروقی NO می تواند به عنوان عاملی مهم در غیرفعال کردن NO محسوب گردد و تولید پراکسی نیتريت که فرم غیرفعال NO است، در حقیقت محصول اکسیداسیون NO توسط سوپراکسیدهای داخل سلولی است. به عقیده Cominacina و همکاران، LDL اکسید شده می تواند از طریق اتصال به گیرنده های خود واقع در سطح سلول های آندوتلیال (Lox-1) موجب افزایش تولید اکسیژن داخل سلولی و به تبع آن

اکسیداسیون NO و غیرفعال کردن آن گردد (۲۱).

مطالعه Walker و همکاران بر روی ۴۰ بیمار با آرتزین پایدار به منظور تعیین اثرات مصرف ال-آرتزین بر روی اتساع عروقی، نشان داد که مصرف دو هفته‌ای ال-آرتزین تأثیری بر اتساع عروقی ندارد ولی بررسی عوامل بیوشیمیایی خون این بیماران نشان داد که ال-آرتزین می‌تواند به طور معنی‌داری میزان تری‌گلیسیریدهای خون را کاهش دهد ولی بر روی HDL و LDL خون این بیماران تأثیری نداشت (۲۲).

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

از بررسی مطالعات مربوط به اثر القاکننده‌های سنتز نیتریک‌اکساید 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 پروستاگلندین‌ها 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 پراکسی‌نیتريت 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 باز شدن اتصالات می‌شود که این موارد نیز با افزایش نفوذپذیری اندوتلیوم همراه است (۲۶).

اما LDL افزوده‌شده به سلول‌های اندوتلیال آزادسازی نیتروژن‌اکساید‌ها بویژه پراکسی‌نیتريت را تحریک می‌کند. LDL انتقال و سنتز نیتریک‌اکساید را تحریک می‌کند؛ بنابراین سلول‌های دیواره رگها در افراد مبتلا به هیپرکلسترولمی و آترواسکلروز در مقایسه با افراد سالم

می‌توانند مقادیر بیشتری از نیتریک‌اکساید را سنتز کنند؛ اما به دلیل افزایش تجمع آنیون‌های سوپراکسید یا به سرعت به دلیل اکسیده‌شدن غیرفعال گردیده و یا به اشکال سمی نیتروژن‌اکساید‌ها تبدیل می‌شوند؛ افزودن ال-آرتزین 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 نیتریک‌اکساید 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 القاکننده مورد استفاده در آزمایش باشد؛ اما آنچه که مهم است این است که همه این مطالعات بر نقش مهم نیتریک‌اکساید در تنظیم نفوذپذیری اندوتلیوم عروق تأکید می‌کنند.

نتیجه‌گیری

این تحقیق نشان داد که مصرف ال-آرتزین اهمیت زیادی در حفاظت عملکردی آندوتلیوم آئورت دارد و این مسأله ضرورت استفاده از این اسیدآمین را در شرایط هیپرکلسترولمی بیان می‌نماید. کاهش نفوذپذیری آئورت و کاهش نسبت LDL/HDL می‌تواند به طور مؤثری از شدت بیماری آترواسکلروزیس بکاهد.

تقدیر و تشکر

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

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, Rodrigvezc 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 bradykinine. *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 $[Ca^{2+}]_i$ 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. Khazaei¹, M. Afshar², E. Haghparast³

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

¹ Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran

² 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

³ MSc. in Physiology