Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره هشتم، شماره اول، بهار ۱۳۸۸، ۲۶-۱۹

اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آتروژنیک اسیدآمینه ایزولوسین بر دیواره شریان‌های کرونری خرگوش‌های با کلسترول بالا

احمد موحدیان[۱]، غلامرضا دشتی[۲]، غلامعلی نادری[۳]، مرجان خادمی‌زاده[۴]

دریافت مقاله: ۸۶/۵/۳۱ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۶/۸/۲۱ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۷/۱۲/۱۳ پذیرش مقاله: ۸۷/۱۲/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان یک رویداد کلیدی در پیدایش آترواسکلروز مورد توجه قرار گرفته است. شواهد حاکی از آن است که تغییرات اکسیداتیو اسیدهای آمینه موجود در LDL منجر به تبدیل آن به شکل آتروژنیک شده که به وسیله ماکروفاژها برداشت می‌گردد. بنابراین کاهش تغییرات اکسیداتیو لیپوپروتئین‌ها از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما می‌تواند روش مؤثری در جلوگیری از بیماری‌های قلبی عروقی باشد. هدف در این مطالعه بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آتروژنیک اسید آمینه ال- ایزولوسین در خرگوش‌های با کلسترول بالا بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی تعداد ۱۵ عدد خرگوش نر سفید انتخاب و به سه گروه پنج‌تایی (گروه‌های کنترل نرمال، کنترل پرکلسترول و پرکلسترول تحت درمان با اسید آمینه ایزولوسین) تقسیم شده و به مدت ۵ هفته تحت رژیم‌های غذایی خاص قرار گرفتند. فاکتورهای بیوشیمیایی تری‌گلیسرید (TG)، کلسترول تام، لیپوپروتئین با دانسیته پایین (LDL-C)، لیپوپروتئین با دانسیته بالا (HDL-C)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (AC)، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و دی‌ان‌های کونژوگه (CD_S) در نمونه‌های خونی اندازه‌گیری گردید. بافت‌های شریان‌های کرونری نیز جدا شده و جهت ارزیابی بافت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: غلظت CD_S پلاسما در گروه تحت درمان با ایزولوسین در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول کاهش داشت ولی این تفاوت معنی‌دار نبود. میزان کلسترول تام، LDL-C، HDL-C و AC پلاسما در گروه تحت درمان با ایزولوسین در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول افزایش نشان داد در حالی که میزان TG و MDA کاهش معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). اندازه نسبی رگه‌های چربی تشکیل شده در عروق کرونری گروه‌های تحت درمان با ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول کاهش داشت ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج به دست آمده نشان داد که اسیدآمینه ال- ایزولوسین با افزایش میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی از تشکیل رگه‌های چربی در حیوانات پرکلسترول ممانعت به عمل آورده است.

واژه‌های کلیدی: آترواسکلروز، آنتی‌اکسیدان، رگه‌های چربی، ال- ایزولوسین، کلسترول

۱- (نویسنده مسؤول) دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی بالینی و مرکز تحقیقات علوم دارویی اصفهان، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
تلفن: ۷۹۲۲۵۹۳-۰۳۱۱ فاکس: ۶۶۸۰۰۱۱-۰۳۱۱، پست الکترونیکی: movahedian@pharm.mui.ac.ir
۲- دانشیار گروه آموزشی علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۳- دانشیار گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات قلب و عروق اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان
۴- دانشجوی کارشناسی ارشد گروه آموزشی بیوشیمی بالینی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

مقدمه

امروزه به طور واضح ثابت شده است که افزایش کلسترول سرم به ویژه LDL-C، عامل خطرساز اصلی تشکیل ضایعات آترواسکلروتیک و بیماری عروق کرونری قلب بوده و LDL اکسید شده، به عنوان یک عامل آتروژنیک در نظر گرفته شده است [۲-۱]. در جریان اکسیداسیون LDL، اسیدهای آمینه مختلفی در ساختمان آپولیپوپروتئین آن دچار تغییرات اکسیداتیو می‌گردند که حساس‌ترین آن‌ها نسبت به اکسیداسیون، اسید آمینه تریپتوفان ذکر شده است [۳]. شواهد زیادی حاکی از این است که آنتی‌اکسیدان‌ها قادرند از اکسیداسیون ذره LDL و تشکیل ضایعات عروقی ممانعت به عمل آورند. این مواد ضمن کاهش میزان LDL اکسیده شده و کاهش در غلظت رادیکال‌های آزاد باعث حفظ عملکرد طبیعی سلول‌های اندوتلیال عروق شده و مرحله اول آتروژنز که تشکیل رگه‌های چربی یا Fatty streaks است را مهار می‌نمایند [۴]. تحقیقات گوناگون حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی بعضی از اسیدهای آمینه می‌باشد. در این رابطه Kapiotis و همکارانش نشان دادند که اسید آمینه تیروزین قادر است از اکسیداسیون LDL و سیتوتوکسیتی سلول‌های اندوتلیال عروق که به واسطه رادیکال‌های آزاد سوپراکسید و نیتریک اکساید ایجاد می‌گردد جلوگیری کند [۵]. اثر مشابهی در مورد اسیدهای آمینه سیستئین و هیستیدین توسط Patterson، Wade و همکارانشان مشاهده گردید [۷-۶]. مطالعات de Nigris و همکارانش نیز حاکی از اثرات آنتی‌اکسیدانی اسید آمینه آرژینین از طریق سنتز نیتریک اکساید می‌باشد [۸]. مطالعات دیگر در این زمینه حاکی از اثرات ضد تشکیل پلاک بعضی از اسیدهای آمینه نظیر آسپارتات، گلوتامات و سرین می‌باشد که در این مطالعات اثرات مشاهده شده را به خاصیت آنتی‌اکسیدانی این اسیدهای آمینه نسبت داده‌اند [۱۰-۹]. Manzella و همکارانش مشاهده نمودند که مصرف اسیدهای آمینه ضروری به صورت خوراکی سبب کاهش استرس‌های اکسیداتیو می‌شود، این مطالعه که بر روی افراد مسن انجام گرفته، نشان داده که آن‌ها در برابر پیشرفت ضایعات آترواسکلروتیک نیز محافظت شده‌اند [۱۱]. بر این اساس، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم از طریق افزایش سطح پلاسمایی اسیدهای آمینه می‌تواند روش مؤثری در مهار اکسیداسیون LDL و احتمالاً جلوگیری از تغییر اسیدهای آمینه موجود در آن باشد. از آن جایی که اثرات آنتی‌اکسیدانی اسیدهای آمینه به میزان لیپوفیل بودن آن‌ها بستگی دارد [۱۲] در این مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آتروژنیک اسید آمینه ال- ایزولوسین که لیپوفیلیسیتی متفاوتی از اسیدهای آمینه مورد اشاره دارد، مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این بررسی یک تحقیق تجربی است که در گروه بیوشیمی دانشکده داروسازی اصفهان انجام شد. جهت اجرا، تعداد ۱۵ عدد خرگوش نر سفید (New Zealand) از انستیتو پاستور تهران تهیه و حدود یک ماه جهت تطابق با محیط و غذا در لانه حیوانات دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان نگهداری شدند. پس از توزین، حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه پنج تایی تقسیم و به مدت ۵ هفته تحت رژیم غذایی خاص شامل گروه کنترل نرمال (رژیم غذایی معمولی)، گروه کنترل پرکلسترول (رژیم غذایی حاوی ۱٪ کلسترول) و گروه پرکلسترول تحت درمان با اسید آمینه ایزولوسین (رژیم غذایی حاوی ۱٪ کلسترول + آب آشامیدنی حاوی ۱٪ ایزولوسین) قرار گرفتند. میزان غذای مصرفی تحت کنترل بوده و به میزان ۱۰۰ گرم به ازای هر خرگوش در روز در نظر گرفته شد. پس از پایان دوره، خرگوش‌ها با تزریق پنتوباربیتال از طریق ورید گوش خارجی بیهوش گردیده و

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

از قلب تمامی آن‌ها حدود ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته شد و پلاسمای آن‌ها به منظور انجام آزمایشات بیوشیمیایی جداسازی گردید. میزان کلسترول تام، تری‌گلیسرید، HDL-C و LDL-C توسط کیت‌های آزمایشگاهی (زیست‌شیمی و راندوکس) اندازه‌گیری شد. میزان MDA به روش Esterbauer و Cheeseman [۱۳]، CD_S توسط روش Chajes و همکاران [۱۴] و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (A.C) به روش Koga و همکاران [۱۵] بر اساس روش اسپکتروفتومتری مورد ارزیابی قرار گرفت.

به منظور اندازه‌گیری MDA پروتئن‌های نمونه مورد آزمایش به واسطه تری‌کلرواستیک اسید رسوب داده شد و بعد از سانتریفیوژ، با اسید تیوباربیتوریک مخلوط و در بن‌ماری جوش قرار گرفت. سپس میزان جذب نوری آن‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر و با در نظر گرفتن ضریب جذب مولی MDA توسط فرمول زیر محاسبه گردید [۱۳]:

$$C\ (mol/L) = A/153000$$

برای اندازه‌گیری CD_S، نمونه مورد آزمایش با محلول کلروفرم و متانول مخلوط و سانتریفیوژ گردید. سپس لایه زیرین جدا شده و تحت شرایط نیتروژن خشک گردید. باقی‌مانده خشک شده در هگزان حل و جذب نوری آن‌ها (A) در طول موج ۲۳۴ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر در مقابل بلانک (هگزان) قرائت و غلظت آن‌ها با در نظر گرفتن ضریب جذب مولی CD_s از فرمول زیر محاسبه شد [۱۴]: $C\ (mol/L) = A/28000$.

اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم بر اساس درصد مهار لیز RBC صورت گرفت و میزان مهار از مقایسه جذب خوانده شده در طول موج ۵۴۰ نانومتر در نمونه‌های تست (ODT) و شاهد (ODS) به صورت زیر محاسبه گردید [۱۵]:

درصد مهار لیز گلبولی = (1-ODT / ODS) × ۱۰۰

هم‌چنین شاخص آتروژنیک (Atherogenic Index) با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد [۱۶].

(AI) شاخص آتروژنیک= کلسترول HDL / کلسترول HDL – کلسترول تام

پس از خونگیری، با تشریح حیوانات قلب آن‌ها سریعاً خارج و در محلول نرمال سالین شستشو گردید. سپس نمونه‌های قلب را در فرمالین ۱۰٪ گذاشته و بعد از دو هفته دو شاخه عروق کرونری راست و چپ نمونه‌های قلب به دست آمده تشریح شد. پاساژ بافتی نمونه‌ها بعد از تثبیت در فرمالین ۱۰٪ توسط دستگاه پردازش‌کننده بافتی انجام گرفت و از نمونه‌ها بلوک پارافینی تهیه شد و با میکروتوم چرخشی از بلوک‌ها مقاطع ۵ میکرونی به صورت لام تهیه گردید. سپس مقاطع به وسیله هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شده و زیر میکروسکوپ نوری مورد مشاهده قرار گرفت و بعد از تشخیص وجود Fatty streaks، اندازه نسبی پلاک به صورت زیر محاسبه گردید:

$$\text{اندازه نسبی پلاک} = \frac{\text{اندازه پلاک (میکرون)}}{\text{اندازه ضخامت جدار شریان (میکرون)}}$$

اندازه‌گیری پلاک توسط Longitudinal scale micrometer انجام گرفت و در بزرگ‌نمایی ۱۰۰ از تمامی لام‌های تهیه شده توسط میکروسکوپ نوری عکس‌برداری شد [۱۷]. نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش گردیده است. اختلاف بین مقادیر به دست آمده در گروه پرکلسترول تحت درمان با اسید آمینه ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول توسط نرم افزار (SPSS, Inc. Chicago, II) SPSS و با استفاده از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و به دنبال آن آزمون‌های Schefe و Tukey ارزیابی شد. معیار انتخاب معنی‌دار بودن تمام آزمایشات $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

نتایج

میزان کلسترول تام پلاسما هم‌زمان با دریافت ۵ هفته رژیم غذایی حاوی ۱٪ کلسترول از مقدار پایه (۳۰۱ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) به مقدار ۲۴۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر رسید (جدول ۱).

رژیم غذایی حاوی ۱٪ ایزولوسین بر میزان CD_S تغییرات معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول ایجاد نکرد. اما در میزان کلسترول تام، LDL-C، HDL-C و A.C گروه تحت درمان با ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول افزایش معنی‌داری مشاهده گردید و در میزان MDA و TG گروه‌های ذکر شده این تغییرات کاهش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱). بررسی‌های پاتولوژیک نشان داد که در شریان‌های کرونری گروه کنترل نرمال که رژیم معمولی دریافت کرده بودند هیچ‌گونه رگه‌های چربی تشکیل نشده در صورتی که در گروه کنترل پرکلسترول رگه‌های چربی به وضوح مشاهده گردید. در گروه تحت درمان با ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول کاهش معنی‌داری در میزان تشکیل رگه‌های چربی مشاهده شد (جدول ۲ و شکل ۱).

جدول ۱- اثر ال- ایزولوسین بر میزان لیپیدها و فاکتورهای پراکسیداسیون لیپیدی پلاسما در خرگوش‌های تغذیه شده با رژیم پر کلسترول به مدت ۵ هفته

فاکتور / گروه	کنترل نرمال	کنترل پر کلسترول	پر کلسترول تحت درمان با ایزولوسین
کلسترول تام (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۳۰۱±۵	۲۴۰۰±۳۳	*۲۷۶۸±۵۰
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۶۸±۱۲	۴۳۳±۶	*۳۷۴±۷
LDL **کلسترول** (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۵۲±۳۰	۲۲۳۵±۳۱	*۲۵۵۷±۴۸
HDL **کلسترول** (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۵±۱	۷۷±۳	*۱۵۶±۴
دی‌ان‌های کنژوگه (میکرومول)	۱۵/۵±۵/۵	۸۶/۲±۱۹/۳	۶۷/۷۵±۱۲/۸۱
مالون دی‌آلدئید (میکرومول)	۰/۲۸۵±۰/۰۲۵	۱/۲۵±۰/۰۴	*۰/۵۵±۰/۰۸
ظرفیت آنتی‌اکسیدانی	۵۰±۱	۲۰±۱	*۲۸/۲۵±۰/۷۵
شاخص آتروژنیک	۱۶/۵±۱/۰	۳۰±۱	*۱۸/۵±۱/۰

**** معنی‌دار بودن ارقام را از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول نشان می‌دهد ($p< ۰/۰۵$).***

داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده‌اند ($n = ۵$).

جدول ۲- ارزیابی پاتولوژیک شریان‌های کرونری خرگوش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرکلسترول

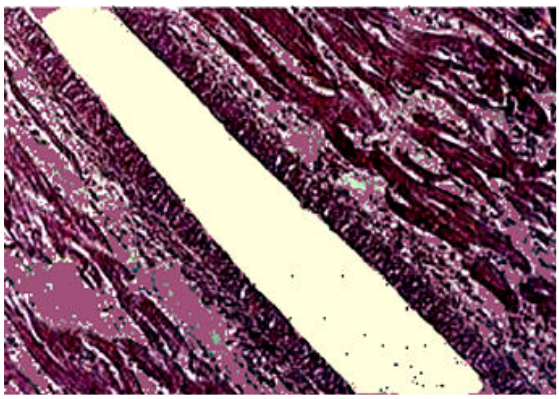
گروه	میانگین اندازه نسبی پلاک (مجموع شریان‌های کرونری)
کنترل نرمال	۰±۰
کنترل پرکلسترول	۲/۶۶ ± ۰/۳۵
پرکلسترول تحت درمان با ایزولوسین	* ۰/۷۵ ± ۰/۴۰

**** معنی‌دار بودن ارقام را از لحاظ آماری در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول نشان می‌دهد ($p< ۰/۰۵$).***

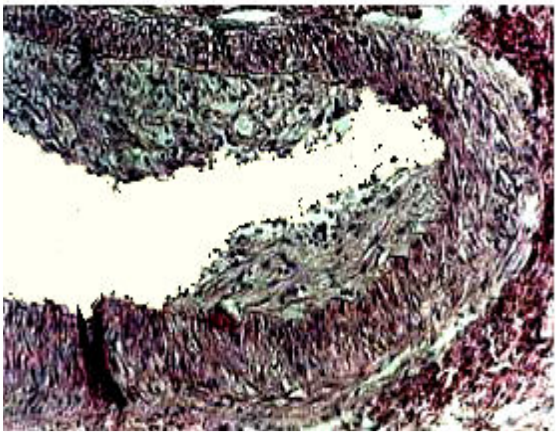
اندازه نسبی پلاک به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است ($n=۵$). اندازه نسبی پلاک به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است ($n=۵$).

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

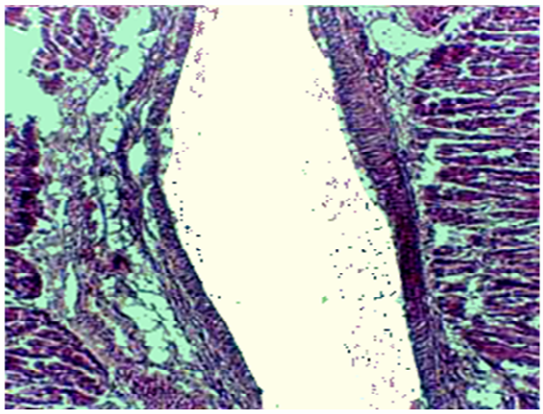
شکل ۱- ارزیابی پاتولوژی شریان‌های کرونری گروه‌های تحت مطالعه



الف) شریان کرونر چپ گروه کنترل نرمال (بزرگ‌نمایی × ۱۰۰)×۱۰۰)



ب) شریان کرونر چپ گروه کنترل پرکلسترول (بزرگ‌نمایی × ۱۰۰)



ج) شریان کرونر گروه پرکلسترول تحت درمان با ایزولوسین (بزرگ‌نمایی × ۱۰۰)

بحث

افزایش LDL-C و اکسیداسیون آن نقش حیاتی در فرآیند آترواسکلروز ایفاء می‌کند. LDL اکسید شده به دلیل دارا بودن خصوصیات بیولوژیکی نظیر جذب منوسیت‌های موجود در گردش خون به سمت سلول‌های اندوتلیال عروق، القاء و تکثیر آن‌ها، و به سبب تحریک سلول‌های اندوتلیال و ماکروفاژها در تولید و بیان انواع مختلفی از سایتوکاین‌ها و مولکول‌های چسبنده، سبب افتراق و تمایز منوسیت‌ها به ماکروفاژهایی می‌شود که قادر به تشخیص LDL اکسید شده بوده و با تجمع آن در ماکروفاژها، سلول کف‌آلود (foam cell) تشکیل می‌شود. با تکثیر سلول‌های ماهیچه‌ای صاف عروق در اثر سایتوکاین‌های تولید شده، ضخامت دیواره سرخرگ افزایش یافته و بدین ترتیب آترواسکلروز در فرم پیشرفته خود ایجاد می‌گردد [۱۸]. براین اساس کاهش سطح لیپیدهای سرم (خصوصاً LDL)، ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم (آنتی‌اکسیدان تراپی) می‌تواند مفید واقع شود. در مطالعه حاضر، میزان کلسترول تام، LDL-C و HDL-C سرم در گروه تحت درمان با ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول به ترتیب ۱/۱، ۱/۱ و ۲ برابر افزایش داشته (جدول ۱)، در حالی که میزان تری‌گلیسرید سرم ۳۷٪ کاهش نشان داده است. با توجه به این نتایج علی‌رغم افزایش میزان کلسترول تام و LDL-C در گروه تحت درمان با ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول، به دلیل افزایش هم‌زمان HDL-C، شاخص آتروژنیک (AI) در گروه تحت درمان با ایزولوسین نسبت به گروه کنترل پرکلسترول کاهش معنی‌داری نشان داده است (جدول ۱). در همین رابطه مطالعات پاتولوژیک نیز نشان داد که اندازه نسبی پلاک تشکیل شده در گروه تحت درمان با ایزولوسین در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول کاهش

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

داشته است. این موضوع تأییدی برکاهش شاخص آتروژنیک در گروه تحت درمان می‌باشد. در این رابطه yanni و همکارانش با مطالعاتی بر روی اسیدهای آمینه آسپارتات و گلوتامات اثرات مشابهی را در کاهش میزان تشکیل رگه‌های چربی و افزایش لیپوپروتئین‌های سرم متعاقب مصرف خوراکی این اسیدهای آمینه گزارش نموده‌اند [۱۹، ۹]. با توجه به آنالیزهای میکروسکوپی مشاهده شده در مطالعات yanni و همکاران و نتایج مشاهده شده در این تحقیق احتمالاً اسید آمینه ال ایزولوسین با کاهش تعداد سلول‌های کف‌آلود (foam cell) از طریق کاهش بیان مولکول‌های چسبنده اندوتلیالی و پروتئین‌های کموتاکتیک که در اثر افزایش کلسترول سرم القاء می‌شوند، از تشکیل رگه‌های چربی در عروق کرونر جلوگیری به عمل آورده است [۹].

میزان فاکتورهای پراکسیداسیون لیپیدی، شامل CD_S و MDA در گروه تحت درمان با ایزولوسین در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول به ترتیب ۲۲٪ و ۵۶٪ کاهش نشان داده است (جدول ۱). Yanni و همکارانش نتایج مشابهی را در مورد اسیدهای آمینه آسپارتات و گلوتامات و اثر مهاری آن‌ها بر پراکسیداسیون لیپیدی گزارش نموده‌اند [۱۹، ۹]. مطالعه دیگری نیز حاکی از اثر کاهندگی اسیدآمینه سرین بر میزان MDA سرم در حیوانات پرکلسترول بوده است [۱۰]. احتمالاً اسیدهای آمینه مذکور از جمله ایزولوسین توسط مکانیسم پایدار نمودن رادیکال‌های آزاد حاصل از CD_S توانسته‌اند از تولید MDA ممانعت به عمل آورده و از طریق مهار پراکسیداسیون لیپیدی نیز اثر آنتی‌آتروژنیک خود را اعمال نمایند [۲۰].

در بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم، در گروه تحت درمان با ایزولوسین در مقایسه با گروه کنترل پرکلسترول افزایش معنی‌داری مشاهده شد. Carlotti و همکارانش با مطالعه بر روی گروهی از اسیدهای آمینه نظیر آلانین عنوان کردند که اثر آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به میزان لیپوفیل بودنشان بستگی دارد [۱۲]. احتمالاً اسید آمینه ایزولوسین نیز همانند سایر آنتی‌اکسیدان‌های محلول در چربی از طریق جمع‌آوری و پایدار نمودن رادیکال‌های آزاد، سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم گردیده است [۲۰].

نتیجه‌گیری

نتایج حاصله از این مطالعه حاکی از این است که اسیدآمینه ال- ایزولوسین از طریق افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سرم و کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی و هم‌چنین کاهش شاخص آتروژنیک (AI)، از تشکیل رگه‌های چربی (Fatty streaks) در حیوانات پرکلسترول ممانعت به عمل آورده است. به هر حال به منظور دسترسی به سازوکارهای دخیل در اثرات مشاهده شده، نیاز به مطالعات بیشتر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق با حمایت مرکز تحقیقات علوم داروئی اصفهان و حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تحت پروژه شماره ۸۱۲۰۳ انجام گرفته است.

References

[1] Jain KS, Kathiravan MK, Somani RS, Shishoo CJ. The biology and chemistry of hyperlipidemia. Bioorg Med Chem, 2007; 15 (14): 4674-99.

[2] Hansen-Hagge TE, Baumeister E, Bauer T, Schmiedeke D, Renne T, Wanner C, et al. Transmission of oxLDL-derived lipid peroxide radicals into membranes of

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

vascular cells is the main inducer of oxLDL mediated oxidative stress. Atherosclerosis. 2008; 197 (2): 602-11.

[3] Gie Bauf A, Steiner E, Esterbauer H. Early destruction of tryptophan residues of apolipoprotein B is a vitamin E-independent process during copper-mediated oxidation of LDL. *Biochem Biophys Acta*, 1995; 1256 (2): 221-32.

[4] Yoshida N, Murase H, Kunieda T, Toyokuni S, Tanaka T, Terao J. Inhibitory effect of a novel water soluble vitamin E derivative on atherosclerosis, in rabbits. *Atherosclerosis.* 2002; 162 (1): 111-7.

[5] Kapiotis S, Hermann M, Held I, Muhl A, Gmeliner B. Tyrosine: an inhibitor of LDL oxidation and endothelial cell cytotoxicity initiated by superoxide /nitric oxide radicals. FEBS-Lett, 1997; 409 (2): 223-6.

[6] Patterson RA, Leake DS. Human serum, cycteine and histidine inhibit the oxidation of low density lipoprotein less at acidic pH. *FEBS Lett*, 1998; 434 (3): 317-21.

[7] Wade AM, Tucker HN. Antioxidant characteristics of L-Histidine. *J Nutr Biochem*, 1998; 9 (6): 308-15.

[8] de Nigris F, Lerman LO, Ignarro SW, Sica G, Lerman A, Palinski W, et al. Benefical effects of antioxidants and L-Arginine on oxidation sensitive gene expression and endothelial NO synthase activity at sites of disturbed shear stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003; 100 (3): 1420-5.

[9] Yanni E, Perrea N, Yatzidis A. Effect of antiatherogenic L-aspartate and L-glutamate on serum lipoproteins cholesterol and apolipoproteins A1 and B in rabbits fed with high cholesterol diet. *Nutr Metab Cardiovas Dis*, 2005; 15(3): 161-5.

[10] Movahedian A, Naderi GA, Dashti GR, Asgary S, Zadhoosh F. Antioxidant effects of L-serine against fatty streaks formation in hypercholesterolemic animal. *Arya Atherosclerosis J*, 2006; 2(3): 126-9.

[11] Manzella D, Grella R, Esposito K, Cacciapuoti F, Arciello A, Giugliano D, et al. Oral amino acid administration decreases oxidative stress and improves brachial reactivity in elderly individuals. *Am J Hypertens*, 2005; 18(6): 858-63.

[12] Carlotti M, Gallarate M, Gasco R, Morel S, Serafino A, Ugazio E. Synergistic action of vitamin C and amino acids on vitamin E in inhibition of the lipoperoxidation of linoleic acid in disperse systems. *Int J Pharm*, 1997; 155(2): 251-61.

[13] Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldhyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol*, 1990; 186: 407-21.

[14] Chajes V, Sattler W, Stultschnig M, Kostner GM. Photometric evaluation of lipid peroxidation products in human plasma and copper oxidized low density lipoproteins: correlation of different oxidation parameters. *Atherosclerosis*. 1996; 121 (2): 193-203.

[15] Koga T, Moro K, Terao J. Protective effect of a vitamin E, along phosphtidylchromanol, against oxidative hemolysis of human erythrocytes. *Lipids*. 1998; 33(6): 589-95.

[16] Choi JS, Yokozawa T, Oura H. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from prunus daviana. *J Nat Prod*, 1991; 54(1): 218-24.

[17] Wheater PR, Burkitt HG, Daniels VG. Functional histology: A text and color atlas. 2nd ed. New York, NY: Churchill Livingstone. 1987; 342.

[18] Bobryshew Y. Monocyte recruitment and foam cell formation in atherosclerosis. *Micron*. 2006; 37 (3): 208-22.

[19] Yanni AE, Yazidis HA, Kavantas NG, Agapitos EV, Perrea DN, Karayannacos PE. L-glutamate inhibits fatty streak initiation in cholesterol-fed Dietaryl-aspartate and L-rabbits. *Nutr Metab Cardiovas Dis*, 2003; 13(2): 80-6.

[20] Pinchuk I, Lichtenberg D. The mechanism of action of antioxidants against lipoprotein peroxidation evaluation based on kinetic experiment. *Prog Lipid Res*, 2002; 41(4): 279-314.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 23:13 IRST on Saturday February 17th 2018

Antioxidant and Antiatherogenic Effects of L-Isoleucine on Coronary Arteries of Hypercholesterolemic Rabbits

A. Movahedian[1], GR. Dashti[2], GA. Naderi[3], M. Khademiezadeh [4]

Received: 22/08/07 Sent for Revision: 12/11/07 Received Revised Manuscript: 03/03/09 Accepted: 14/03/09

Background and Objectives: Lipid Peroxidation is nominated as a key event in the development of atherosclerosis. Some evidences suggest that oxidative modifications of amino acids in low density lipoprotein (LDL) particles lead to its conversion to an atherogenic form which is taken up by macrophages. Therefore the reduction of oxidative modification of lipoproteins by increasing plasma antioxidant capacity (AC) could be an effective method in preventing cardiovascular diseases. In this experimental study, antioxidant and antiatherogenic effects of L-Ile were investigated in hypercholesterolemic rabbits.

Materials and Methods: Fifteen male New Zealand white rabbits were divided into three groups (normal control, hypercholesterolemic control and hypercholesterolemic treated with L-Ile). Animals were fed with special diets for five weeks and then plasma total cholesterol (TC), triglycerides (TG), high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low density lipoprotein cholesterol (LDL-C), conjugated diens (CDs), malondialdehyde (MDA) and AC were measured. Coronary arteries were obtained in order to measure fatty streaks formation by histological studies.

Results: Plasma level of CDs was decreased in L-Ile treated group compared to the hypercholesterolemic control group, but it was not significant. The levels of plasma TC, LDL-C, HDL-C and AC, in the treated group had an increase in comparison with the hypercholesterolemic control group, while the levels of plasma TG and MDA were decreased. The mean size of produced fatty streaks also showed significant reduction in the treating group compared to hypercholesterolemic control group.

Conclusion: The results showed that L-Ile has prevented fatty streaks formation by increasing plasma antioxidant capacity and decreasing lipid peroxidation in hypercholesterolemic rabbits.

Key words: Atherosclerosis, Antioxidant, Fatty streaks, L-Isoleucine, Cholesterol

Funding: This research was funded by Research Council of Isfahan University of Medical Sciences and Isfahan Pharmaceutical Research Center.

Conflict of interest: None declared

Ethical approval: The Ethics Committee of Animal Research, Isfahan University of Medical Sciences approved the study.

1- Associate Prof., Dept. of Clinical Biochemistry, Pharmaceutical Sciences Research Center, School of Pharmacy, University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0311) 7922593, Fax: (0311) 6680011, E-mail: movahedian@pharm.mui.ac.ir
2- Associate Prof., Dept. of Anatomy, School of Medicine, University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
3- Associate Prof. Cardiovascular Research Center, University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Academic Member, Dept. of Clinical Biochemistry, School of Pharmacy, University of Medical Sciences, Isfahan, Iran