پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۲۲، شماره ۳، صفحات ۱-۸ (مهر- آذر ۱۳۷۷)

تداخل گلوتاتیون، ویتامین C و ویتامین E تحت تاثیر اکسیژن هیپربریک

دکتر شهریار اقتصادی
* دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تبریز

خـلاصـــه

بـا هـدف بررسی تداخل گلوتاتیون، ویتامین C و ویتامین E تحت تاثیر هیپراکسی (اکسیژن با غلظت ۹۵ درصد) و اکسیژن هیپربریک (اکسیژن با فشار ۲/۵ آتمسفر)، خوکچه‌های هندی نر ۲۰ روزه با یک برنامه غذایی پایه عاری از ویتامین C و مکمل غذایی ویتامین C با غلظت بالا(۵۰ میلی‌گرم در روز) و یا با غلظت کم (یک میلی‌گرم در روز) به مدت دو هفته تغذیه شدند. سپس خوکچه‌ها به مدت هفت ماه، دو ساعت در روز در معرض اکسیژن با غلظت ۹۵ درصد (هیپراکسی) و فشار ۲/۵ آتمسفر (هیپربریک) قرار گرفتند. متعاقب برداشت کبد، غلظت گلوتاتیون احیا (GSH) و گلوتاتیون اکسید(GSSG)، آلفاتوکوفرول، گاماتوکوفرول، ویتامین C تام، احیا و اکسید به شیوه HPLC تعیین شدند. خوکچه‌های هندی تغذیه شده با سطوح بالای ویتامین C تحت شرایط هیپراکسی و هیپربریک به طور معنی‌داری غلظت بالاتر ویتامین تام و احیا و نسبت ویتامین C احیا به ویتامین C اکسید در مقایسه با گروه تغذیه شده با سطوح ویتامین C کم را نشان دادند ($P<0/05$).

در هر دو سطح غذایی ویتامین C تماس با اکسیژن هیپراکسی و هیپربریک تاثیر معنی‌داری روی آلفا و گاما توکوفرول کبد خوکچه‌های هندی نداشت. در غلظت پایین مکمل غذایی ویتامین C میانگین غلظت کبدی گلوتاتیون احیا در گروه هیپربریک (۰/۶۶۷ ± ۰/۱۲۳ µm GSH/mg protein) تحت شرایط هیپراکسی و هیپربریک به‌طور معنی‌داری بیشتر (۰/۳۸۴ ± ۰/۱۳۰ µm GSH/mg Protein) بود ($P<0/05$). چنین اختلافی می‌تواند حاکی از یک تداخل مثبت بین ویتامین C و

مقدمه

علاوه بر ساز و کارهای آنزیمی از بین بردن رادیکالهای آزاد، مواد مغذی ضروری - مانند ویتامین C و E- که می‌توانند این رادیکالها را از بین ببرند یک خط قوی دفاعی و تاخیر در ایجاد آسیب سلولی ناشی از رادیکالهای آزاد را تشکیل می‌دهند (۱). مطالعات کینتیک و مطالعات رژنراسیون ویتامین E نشان داده است که آسکوربات ویتامین E را توسط یک سازوکار غیرآنزیمی رژنره می‌کند؛ در حالی که گلوتاتیون ویتامین E را از طریق آنزیمی رژنره می‌کند. مطالعات حاکی از آن است که بین مولکولهای محلول در آب و چربی در حد فاصل غشاء و سیتوپلاسم تداخل وجود دارد و ویتامین C ممکن است در حالت in vivo به صورت تعمیر و ترمیم کننده ویتامین E اکسید شده متصل به غشاء عمل کند (۱). یکی از مکانیسم‌های مقابله کننده مهم با عوامل سمی اکسیژن تری‌پپتید تیول گلوتاتیون (L-γ-glutamyl-L-Cysteinyl-glycine;-GSH) می‌باشد. GSH از عوامل ضروری رژیم غذایی نیست. این ترکیب در سلولهای حیوانی از طریق واکنشهای پی در پی دو آنزیم گاماگلوتامیل سیستئین سنتتاز (γglutamyl Cystein synthetase) و GSH سنتتاز (GSH Synthetase) سنتز می‌شود. هنگامی که کمبود GSH در موشهای سفید آزمایشگاهی (Rats)، نوزاد و یا خوکچه هندی ایجاد شد، در این حیوانات اختلالات چند عضوی و در نهایت مرگ در ظرف چند روز حادث شده است (۲ و ۳). انتظار می‌رود که این مشاهدات ناشی از اثر مستقیم از دست رفتن یک سیستم آنتی اکسیدانی ضروری پدید آمده باشد. همچنین مطالعات نشان داده است که مهار سنتز گلوتاتیون در موشهای بالغ سوری (Mice) و موشهای سفید آزمایشگاهی نوزاد از طریق تجویز مهارکننده گاماگلوتامیل سیستئین سنتتاز به عنوان مثال L-buthionine-(SR)-Sulfoximine (BSO) منجربه کاهش سطوح گلوتاتیون و آسکوربات در اثر آسیب بافتی می‌شود (۳ و ۴). گزارش شده است که آسکوربات گلوتاتیون را صرفه‌جویی می‌کند (۵). این ویتامین ممکن است از اثرات احیاکنندگی بهره‌مند شود و در نتیجه نتواند به‌طور موثر توسط گلوتاتیون بروز کند (۶). گرچه گلوتاتیون غالبا" آسکوربات، آلفاتوکوفرول و دیگر اجزاء سلولی را در حالت احیا نگه می‌دارد ولی آسکوربات به عنوان یک آنتی اکسیدان ضروری در شرایط کمبود گلوتاتیون نقش مهمی ایفا می‌کند (۵). از طرف دیگر نشان داده شده است که Hyperoxia (اکسیژن با غلظت زیاد) بویژه تحت شرایط Hyperbaric (اکسیژن با فشار بالا) سبب تسریع و تشدید اثرات استرس اکسیداتیو در بافتهای مختلف بویژه بافتهای ریوی و چشم می‌شود (۱۴، ۱۷ و ۱۸). Narkowicz و همکاران گزارش کرده‌اند که در تماس با اکسیژن هیپربریک سطوح رادیکال آسکوربات در خون افزایش می‌یابد که احتمالا" این پدیده اشاره بر افزایش تخریب آسکوربات در گویچه‌های سرخ خون انسان تحت این شرایط دارد (۱۶). هدف از مطالعه حاضر بررسی تداخل عوامل آنتی‌اکسیدان طبیعی: گلوتاتیون، ویتامین E و ویتامین C تحت شرایط هیپراکسی و هیپربریک در کبد خوکچه هندی با هدف تعمیم نتایج به انسان می‌باشد (انسان و خوکچه هندی از نظر متابولیسم ویتامین C مشابه همدیگر می‌باشند). امید است نتایج این مطالعه بتواند اطلاعات بیشتری از نقش آنتی‌اکسیدانهای طبیعی بدن در مقابله با شرایط استرس اکسیداتیو مزمن ارائه کند. انتظار می‌رود که این نتاج در پیشگیری و درمان بیماریهای ناشی از آسیبهای اکسیداتیو مزمن موثر واقع شود.

روش بررسی

در این روش از خوکچه‌های هندی سفید نر ۲۰ روزه

از نژاد هارتلی (Hartley) با وزن اولیه ۱۶±۳۰۰ گرم استفاده شد (۵). آنان در قفس‌های انفرادی در یک اتاق دارای سیکل ۱۲ ساعته روشنایی/ تاریکی با دمای ۲۳ درجه‌سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۵-۴۷ درجه‌سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. خوکچه‌ها، با یک رژیم غذایی پایه عاری از ویتامین C محتوی ۲۵ درصد پروتئین، ۷ درصد چربی و ۶۸ درصد کربوهیدرات با دسترسی آزاد به غذا (ad libitum) تغذیه شدند (۵). در عین حال، حیوانات با یک مکمل ویتامین C با غلظت کم (یک میلی‌گرم در روز) و یا مکمل با غلظت بالای ویتامین C (۵۰ میلی‌گرم در روز) از طریق لوله دهانی- معدی دریافت می‌کردند. بعد از دو هفته خوکچه‌ها به دو گروه کنترل (۵ عدد) و هیپربریک (۴ عدد) تقسیم شدند. گروه هیپربریک برای مدت هفت ماه در معرض اکسیژن با غلظت ۹۵ درصد (هیپراکسی) و فشار ۲/۵ اتمسفر (هیپربریک) به مدت ۲ ساعت در روز در یک محفظه اکسیژن قرار گرفتند. بعد از این مدت خوکچه‌ها با استفاده از دوز زیاد اکسیژن کشته و کبد آنان برداشته شد و با استفاده از نیتروژن مایع سریعا" منجمد و در منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

تعیین اسیدآسکوربیک، گلوتاتیون و پروتئین کبد خوکچه هندی

در حدود ۰/۵ گرم از بافت کبد خوکچه هندی منجمد با دستگاه هموژنیزه کننده پولی‌ترون (Polytron) در ۲ میلی‌لیتر محلول سرد ۱۰ درصد پرکلریک‌اسید (PCA) محتوی (Bathophenanthrolinedisul-fonic Acid) BPDS،mM در یخ هموژنیزه شد. مخلوط در دمای ۴ درجه‌سانتی‌گراد با سرعت ۲۰۰۰rpm سانتریفوژ شد. روی یک میلی‌لیتر از سوپرنتانت (Supernatant) اسیدآسکوربیک احیا با روش تغییر داده شده Hamernyik (۷) و اسیدآسکوربیک تام با روش تغییر داده شده توسط Behrens و همکاران (۸) به شیوه (Bioanalytical, HPLC (Inc- تعیین شدند (۷ و ۸).

روی ۰/۵ میلی‌لیتر از سوپرنتانت تهیه شده فوق گلوتاتیون احیا و اکسید با روش تغییر داده شده Farris و همکاران (۹) به شیوه HPLC (Millipore Milford, MA) اندازه‌گیری شد (۹). با استفاده از ۱۰۰ میکرولیتر از رسوب باقیمانده بعد از رقیق کردن تا غلظت مطلوب میزان پروتئین با روش تغییر داده شده توسط Lawry و همکاران (۱۰ و ۱۱) اندازه گرفته شد.

تعیین آلفا و گاما توکوفرول

حدود ۲۰۰ میلی‌گرم نمونه منجمد کبد خوکچه هندی در ۱/۵ میلی‌لیتر محلول سرد اتانول محتوی ۱/۲ درصد پیروگالول (Pyrogallol) با دستگاه هموژنیزه کننده پولی‌ترون (Polytron) هموژنیزه شد. آلفا و گاماتوکوفرول با روش تغییر داده شده توسط Bier و همکاران (۱۲) با روش HPLC (Millipore Milford, MA) اندازه گرفته شد (۱۲).

تعیین چربی

چربی کبد با استفاده از یک گرم از کبد خوکچه هندی به روش گراویمتریک (Gravimetric) و استخراج آن با متانول و کلروفرم و جدا کردن فاز آبی و چربی با استفاده از محلول M ۰/۱ کلرور سدیم تعیین شد(۱۳).

تحلیل آماری

نتایج با استفاده از تحلیل پراکنش با برنامه آماری (Version 5.2, Systat Inc., Evanston, IL) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

اثر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک بر غلظت گلوتاتیون احیا (GSH) و اکسید (GSSG) و نسبت این دو فراسنج (پارامتر) در جدول ۱ نمایش داده شده است. چنانچه نتایج مندرج در این جدول نشان می‌دهد، گرچه میانگین غلظت گلوتاتیون احیا و اکسید در گروه هیپربریک در غلظت بالای ویتامین C غذایی تحت شرایط هیپراکسی وهیپربریک بالاتر از مقادیر این پارامترها در گروه کنترل مربوطه می‌باشد ولی از نظر آماری این اختلافات در مورد GSH و GSSG و نیز نسبت این دو معنی‌دار نمی‌باشد. در حالی که در غلظت پایین مکمل ویتامین C غذایی، میانگین غلظت کبدی گلوتاتیون احیا در گروه هیپربریک تحت شرایط هیپراکسی و هیپربریک (۰/۶۶۷ ± ۰/۱۲۳ µm GSH/mg protein) به طور معنی‌دار بیشتر از گروه کنترل (۰/۳۸۴ ± ۰/۱۳۰ µm GSH/mg protein) بود ($P<0/05$).

میانگین غلظت کبدی گلوتاتیون اکسید و نسبت GSH/GSSG تحت شرایط فوق در گروه هیپربریک گرچه از گروه کنترل بیشتر بود ولی اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. در هر حال میانگین نسبت GSH/GSSG در گروه کنترل در سطح مکمل غذایی بالای ویتامین C (۸/۶۷۳±۱/۸۹۸) به طور چشمگیری بیشتر از مقدار این نسبت تحت سطوح غذایی ویتامین C پایین (۵/۹۹۲±۱/۰۵۳) بود ($P<0/05$).

تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک روی غلظت آلفا و گاماتوکوفرول کبد خوکچه هندی در جدول ۲ ارائه شده است. گرچه میانگین غلظت آلفا و گاماتوکوفرول کبدی تحت شرایط هیپراکسی و هیپربریک در هر دو سطح غذایی ویتامین C - در مقایسه با گروه کنترل- مقادیر بیشتری را نشان می‌دهد ولی این تفاوت از نظر آماری حاکی از اختلافات معنی‌دار نیست.

اثر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک روی غلظت ویتامین C کبد خوکچه‌های هندی مورد مطالعه در نمودار ۱ نشان داده شده است. میانگین غلظت کبدی ویتامین C احیا تام، و نسبت ویتامین C احیا به اکسید در گروههای کنترل و هیپربریک در غلظت بالای غذایی ویتامین C تحت شرایط اکسیژن هیپراکسی و هیپربریک به طور معنی‌داری از مقادیر همان پارامترها در غلظت پایین مکمل ویتامین C غذایی بالاتر بود ($P<0/05$). در حالی که در مورد ویتامین C اکسید اختلافات معنی‌دار نبود.

غلظت پروتئین و چربی کبد خوکچه‌های هندی تحت تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک در جدول ۳ آمده است. میانگین غلظت کبدی پروتئین و چربی در گروههای هیپربریک و کنترل در سطوح ویتامین C غذایی بالا و پایین تحت شرایط اکسیژن هیپراکسی و هیپربریک اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. ولی میانگین غلظت پروتئین کبدی در گروه هیپربریک تحت سطح غذایی ویتامین C بالا و در معرض هیپراکسی و هیپربریک (۷/۸۱۴ ± ۰/۸۲۵mg protein/g liver) از نظر آماری- در مقایسه با مقدار این فراسنج- در سطح پایین مکمل غذایی ویتامین C (۷/۱۲۵ ± ۱/۰۱۹mg protein/g liver) اختلاف معنی‌داری را نشان می‌داد ($P<0/05$).

بحث

گلوتاتیون به صورت سوبسترای چندین آنزیم که پراکسید هیدروژن و پراکسیدهای ارگانیک را احیا می‌کند، از طریق واسطه‌گری احیاء دهیدروآسکوربات (dehydroascorbate) و احیاء فرم اکسید شده آلفا توکوفرول، نقش یک آنتی اکسیدان مهم را ایفا می‌کند (۳). بنابراین انتظار می‌رود که کمبود GSH اثرات مشابه کمبود آسکوربات و آلفاتوکوفرول را پدید آورد. کمبود

جدول ۱) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک روی غلظت گلوتاتیون کبد در خوکچه هندی[۱]

سطوح ویتامین	گلوتاتیون احیا (GSH)		گلوتاتیون اکسید (GSSG)		GSH/GSSG	
	کنترل Protein	هیپربریک µm GSH/mg	کنترل Protein	هیپربریک µm GSH/mg	کنترل Protein	هیپربریک µm GSH/mg
غلظت بالا	۰/۴۶۸± ۰/۲۴۲	۰/۶۴۳± ۰/۱۸۰	۰/۰۴۸± ۰/۰۴۲	۰/۰۸۴۴± ۰/۰۳۲۱	۸/۶۷۳± ۱/۸۹۸	۸/۲۴۱± ۲/۲۰۶
غلظت پایین	۰/۳۸۴[۳]* ± ۰/۲۳۰	۰/۶۶۷* ± ۰/۱۲۳	۰/۰۶۳± ۰/۰۱۵	۰/۰۷۷± ۰/۰۲۱	۵/۹۹۲± ۱/۰۵۳	۹/۲۴۹± ۳/۳۵۱
احتمال	NS [۲]*	NS	NS	NS	<۰/۰۵	NS

۱) تعداد خوکچه هندی در گروه کنترل ۵ و در گروه هیپربریک ۴ عدد بود.

۲) NS= Non Significant (یعنی اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد).

۳) در ردیف افقی مقادیر با تعداد ستاره یکسان از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۲) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک بر غلظت توکوفرول کبد خوکچه هندی

سطوح ویتامین C	آلفاتوکوفرول		گاماتوکوفرول	
	کنترل Protein	هیپربریک µg α-tocopherol/mg	کنترل Protein	هیپربریک µg γ-tocopherol/mg
غلظت بالا	۱/۲۲۸ ± ۰/۶۶۵	۱/۸۴۸ ± ۱/۰۹۴	ND[۲]	/۱۰۵ ± ۰/۱۵۰
غلظت پایین	۱/۱۳۷± ۰/۲۳۷	۱/۸۱۳± ۰/۹۷۷	ND	۰/۰۶۰± ۰/۰۸۲
احتمال	NS	NS	NS	NS

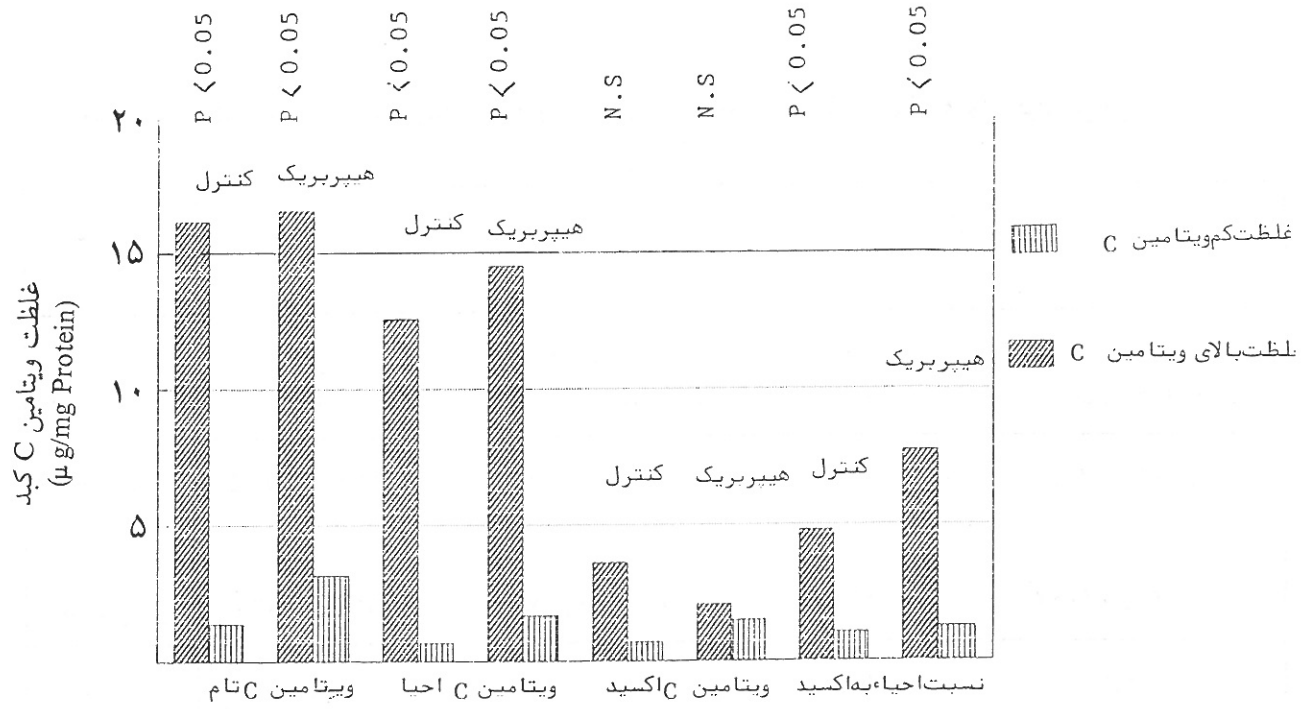
۱) تعداد خوکچه‌های هندی در گروه کنتزل ۵ و در گروه هیپربریک ۴ عدد بود.

۲) ND (None Detectable) یعنی مقدار قابل اندازه‌گیری نبود.

جدول ۳) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک بر غلظت پروتئین و چربی کبد خوکچه هندی[1]

سطوح ویتامین	پروتئین		چربی	
	کنترل g/Liver	هیپربریک mg Protein	کنترل g/Liver	هیپربریک mg fat
غلظت بالا	۶/۸۹۵ ± ۰/۹۰۵	۷/۸۱۴ ± ۰/۸۲۵	۱۰۴/۷۵۴ ± ۳۰/۲۰۰	۷۷/۳۶۰ ± ۱۳/۴۷۲
غلظت پایین	۸/۰۰۱ ± ۱/۵	۷/۱۲۵ ± ۱/۰۱۹	۷۵/۱۵۱ ± ۱۵/۰۸۴	۸۵/۶۹۰ ± ۲۴/۷۱۴
احتمال	NS	< ۰/۰۵	NS	NS

۱) تعداد خوکچه‌های هندی در گروه کنترل ۵ و در گروه هیپربریک ۴ عدد بود.



نمودار ۱) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک روی غلظت ویتامین C کبد خوکچه هندی

جدول ۱) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک روی غلظت گلوتاتیون کبد در خوکچه هندی[۱]

سطوح ویتامین	گلوتاتیون احیا (GSH)		گلوتاتیون اکسید (GSSG)		GSH/GSSG	
	کنترل Protein	هیپربریک µm GSH/mg	کنترل Protein	هیپربریک µm GSH/mg	کنترل Protein	هیپربریک µm GSH/mg
غلظت بالا	۰/۴۶۸± ۰/۲۴۲	۰/۶۴۳± ۰/۱۸۰	۰/۰۴۸± ۰/۰۴۲	۰/۰۸۴۴± ۰/۰۳۲۱	۸/۶۷۳± ۱/۸۹۸	۸/۲۴۱± ۲/۲۰۶
غلظت پایین	۰/۳۸۴[۳]* ± ۰/۱۳۰	۰/۶۶۷* ± ۰/۱۲۳	۰/۰۶۳± ۰/۰۱۵	۰/۰۷۷± ۰/۰۲۱	۵/۹۹۲± ۱/۰۵۳	۹/۲۴۹± ۳/۳۵۱
احتمال	NS [۲]*	NS	NS	NS	<۰/۰۵	NS

۱) تعداد خوکچه هندی در گروه کنترل ۵ و در گروه هیپربریک ۴ عدد بود.

۲) NS= Non Significant (یعنی اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد).

۳) در ردیف افقی مقادیر با تعداد ستاره یکسان از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری می‌باشند (P<۰/۰۵).

جدول ۲) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک بر غلظت توکوفرول کبد خوکچه هندی

سطوح ویتامین C	آلفاتوکوفرول		گاماتوکوفرول	
	کنترل Protein	هیپربریک µg α-tocopherol/mg	کنترل Protein	هیپربریک µg γ -tocopherol/mg
غلظت بالا	۱/۲۲۸ ± ۰/۶۶۵	۱/۸۴۸ ± ۱/۰۹۴	ND[۲]	/۱۰۵ ± ۰/۱۵۰
غلظت پایین	۱/۱۳۷± ۰/۲۳۷	۱/۸۱۳± ۰/۹۷۷	ND	۰/۰۶۰± ۰/۰۸۲
احتمال	NS	NS	NS	NS

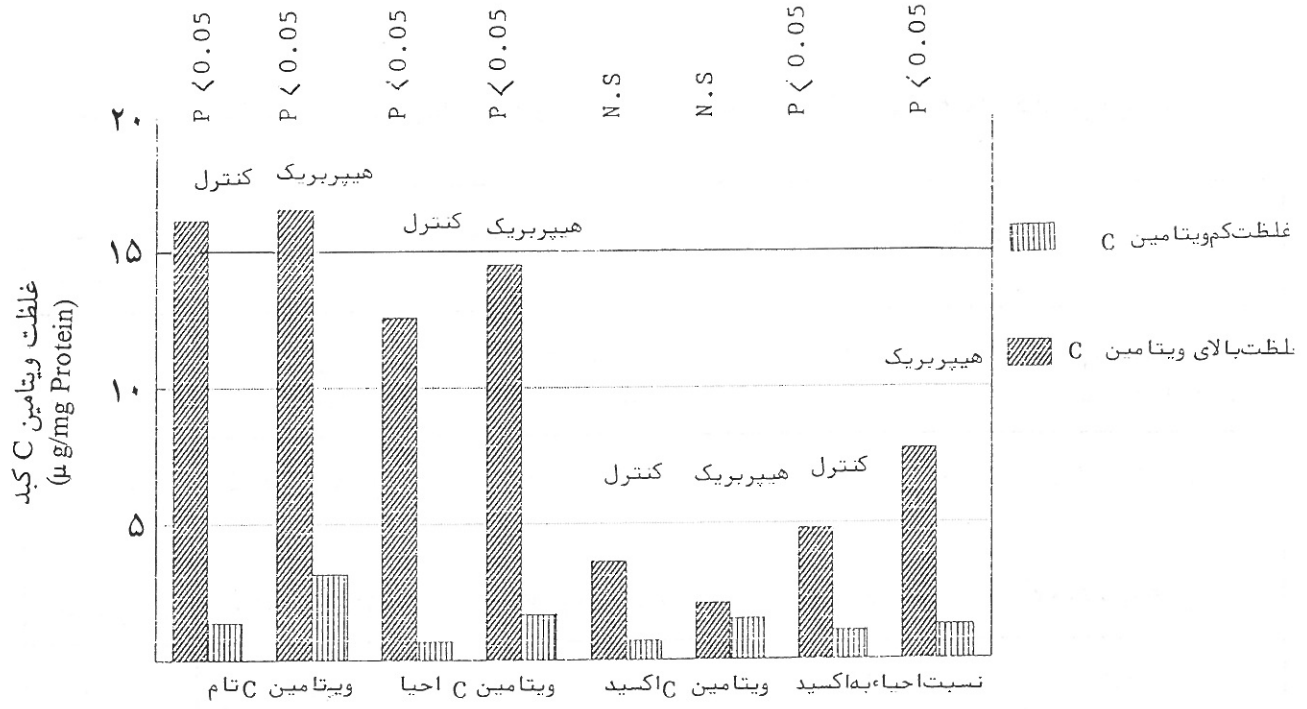
۱) تعداد خوکچه‌های هندی در گروه کنتزل ۵ و در گروه هیپربریک ۴ عدد بود.

۲) ND (None Detectable) یعنی مقدار قابل اندازه‌گیری نبود.

جدول ۳) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک بر غلظت پروتئین و چربی کبد خوکچه هندی[1]

سطوح ویتامین	پروتئین		چربی	
	کنترل g/Liver	هیپربریک mg Protein	کنترل g/Liver	هیپربریک mg fat
غلظت بالا	۶/۸۹۵ ± ۰/۹۰۵	۷/۸۱۴ ± ۰/۸۲۵	۱۰۴/۷۵۴ ± ۳۰/۲۰۰	۷۷/۳۶۰ ± ۱۳/۴۷۲
غلظت پایین	۸/۰۰۱ ± ۱/۵	۷/۱۲۵ ± ۱/۰۱۹	۷۵/۱۵۱ ± ۱۵/۰۸۴	۸۵/۶۹۰ ± ۲۴/۷۱۴
احتمال	NS	<۰/۰۵	NS	NS

۱) تعداد خوکچه‌های هندی در گروه کنترل ۵ و در گروه هیپربریک ۴ عدد بود.



نمودار ۱) تاثیر مکمل غذایی ویتامین C و اکسیژن هیپربریک روی غلظت ویتامین C کبد خوکچه هندی

GSH اثرات مشابه کمبود آسکوربات و آلفاتوکوفرول را پدید آورد. کمبود GSH غلظت آسکوربات بافتی را کاهش می‌دهد. گزارش شده است که احیا دهیدروآسکوربات به آسکوربات از طریق GSH توسط گلوتاردوکسین (glutaredoxin) و پروتئین دی سولفید ایزومراز (Protein disulfide isomerase) صورت می‌پذیرد (۳).

کاهش چشمگیر آسکوربات و افزایش دهیدروآسکوربات ناشی از تخلیه GSH حاکی از آن است که احیاء دهیدروآسکوربات یک عمل فیزیولوژیکی مهم GSH می‌باشد (۳). تجویز مقادیر بالای آسکوربات به موشهای سفید آزمایشگاهی مبتلا به کمبود GSH منجر به صرفه‌جویی قابل ملاحظه GSH می‌شود (۳). با صرفه‌جویی GSH، بازیافت مجدد آسکوربات و نیز تسریع واکنش‌های دیگری که نیاز به GSH دارند، تسهیل می‌شود (۳).

د رمطالعه حاضر، چنانچه در جدول ۱ آمده است در غلظت پایین مکمل غذایی ویتامین C، میانگین غلظت گلوتاتیون احیا در گروه هیپربریک تحت شرایط اکسیژن هیپراکسی و هیپربریک به طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود ($P<۰/۰۵$)؛ در حالی که، در غلظت بالای ویتامین C غذایی اگرچه غلظت گلوتاتیون احیا در گروه هیپربریک بیشتر از گروه کنترل بود ولی این تفاوت از نظر آماری چشمگیر نمی‌باشد. این نتایج می‌تواند حاکی از وجود یک تداخل مثبت بین ویتامین C و گلوتاتیون تحت شرایط هیپربریک باشد. بدین معنی که در غلظت کم ویتامین C غذایی افزایش غلظت گلوتاتیون احیا نقش محافظت کننده کاهش یافته، ویتامین C را جبران کرده است و در غلظت بالای ویتامین C غذایی از گلوتاتیون احیا در مقابل تاثیر اکسیداتیواکسیژن هیپراکسی و هیپربریک محافظت می‌شود. در مطالعه‌ای توسط Padgaonkar و همکاران (۱۴) نشان داده شد که کلیه داده شده عدسی چشم خرگوش بدون هیچ تغییری در سطوح طبیعی گلوتاتیون احیا و اکسید صورت می‌پذیرد. به نظر می‌رسد که GSH در نگهداری حفظ و تداوم فعالیت حیاتی در خلال تماس با غلظت بالای اکسیژن نقش مهمی داشته ولی قادر نیست که از اثرات ناشی از اکسیژن روی رشد و DNA جلوگیری کند. Peacock و همکاران (۱۵) نشان دادند که موشهای سفید آزمایشگاهی (Rat) دریافت کننده GSH، در مقابل غش و مرگ ناشی از تماس با اکسیژن هیپربریک زمان طولانی‌تری مقاومت کردند. Narkowicz و همکاران (۱۶) گزارش دادند که تماس با اکسیژن هیپربریک موجب می‌شود که سطوح رادیکال آسکوربات در خون افزایش یابد که احتمالا" این پدیده بر افزایش تخریب و سنتز آسکوربات در یاخته‌های قرمز خون انسان دلالت دارد. در بررسی فعلی غلظت گلوتاتیون اکسید و غلظت‌های آلفا و گاماتوکوفرول تحت شرایط هیپراکسی و هیپربریک در هر دو سطح غذایی ویتامین C گرچه مقادیر بیشتری را- در مقایسه با گروه کنترل- نشان دادند ولی این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. بررسی غلظت چربی در گروههای هیپربریک و کنترل در سطوح ویتامین C غذایی بالا و پایین اختلاف معنی‌داری را نیز نشان نداد (جدول ۳)، که این یافته می‌تواند بر عدم حضور کبد چرب در خوکچه‌های هندی تحت شرایط اکسیژن هیپربریک دلالت داشته باشد. در هر حال، نتایج مندرج در نمودار ۱ نشان می‌دهد که میانگین غلظت ویتامین C احیا و تام در گروههای کنترل و هیپربریک در غلظت بالای مکمل غذایی ویتامین C تحت شرایط اکسیژن هیپراکسی و هیپربریک به طور معنی‌داری بالاتر از مقادیر همان پارامترها در غلظت پایین مکمل ویتامین C غذایی پایین است ($P<۰/۰۵$).

از سوی دیگر، میانگین غلظت ویتامین C تام، احیا و اکسید و نسبت این دو در کبد خوکچه هندی در غلظت

هیپراکسی و هیپربریک بالاتر از مقادیر گروههای کنترل مربوطه بود- اگرچه، اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد. این نتایج می‌تواند حاکی از اثر محافظت کننده ویتامین C تحت شرایط اکسیداتیو ناشی از اکسیژن باشد. به طور کلی نتایج مطالعه حاضر حاکی از یک تداخل مثبت بین ویتامین C و گلوتاتیون تحت شرایط تماس مزمن با اکسیژن با غلظت بالا و با فشار زیاد می‌باشد. صرفه‌جویی یکی در شرایط کاهش دیگری می‌تواند نقش محافظت کننده و مقابله کننده در برابر شرایط اکسیداتیو مزمن ایفا کند. همچنین می‌توان استنباط کرد که وجود یک سیستم پیوسته اکسیداسیون و احیا از عوامل ضداکسیداسیون طبیعی متشکل از گلوتاتیون، ویتامین E و اسیدآسکوربیک در دفاع تحت شرایط اکسیداسیون و محافظت از سلولها در مقابل عوامل اکسید کننده نقش مهمی بازی می‌کند. آگاهی از این روابط بینابینی می‌تواند دورنمای روشنی در شناخت روش‌های پیشگیری و درمان بسیاری از بیماریهای مزمن از قبیل بیماریهای قلبی- عروقی، سرطان و آرتروز، دیابت و به خصوص شناخت سازوکارهای پدیده پیری نوید دهد.

مراجع

1) Chan AC. Partners in defense, Vitamin E and Vitamin C. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology 1993; 71:725-731.
2) Martensson J, Meister A. Glutathione deficiency increases hepatic ascorbic acid synthesis in adult mice. Proc Natl Acad Sci 1992; 89:11566-11568.
3) Martensson J, Meister A. Glutathione deficiency decreases tissue ascorbate levels in newborn rats: Ascorbate spares glutathione and protects. Proc Natl Acad Sci 1991; 88:4656-4660.
4) Meister A. On the antioxidant effects of ascorbic acid and glutathione. Biochemical Pharmacology 1992; 44:1905-1915.
5) Berger J, Shepard D, Morrow F and Taylor A. Relationship between dietary intake and tissue levels of reduced and total vitamin C in the nonscorbutic Guinea pig. J Nutr 1989; 119:734-740.
6) Winkler BS, Orsell S, Rex TS. The redox couple between glutathione and ascorbic acid: A chemical and physiological perspective. Free Radical Biology and Medicine 1994; 17:333-349.
7) Lee W, Hamernyik P, Huchinson M, Raisys VA, Labbe RF. Ascorbic acid in lymphocytes: Cell preparation and liquid chromatographic assay. Clin Chem 1982; 28:2165-2169.
8) Behrens WA and Madere R. A highly sensitive high-performance liquid chromatography method for the estimation of ascorbic and dehydroascorbic acid in tissues. Biological Fluids, and Food. Anal Biochem 1987; 165:102-107.
9) Farris MW and Read DJ. High-Performance liquid chromatography of thiols and disulfides: Dinitrophenol derivatives. In: Methods in enzymology 1987; PP 101-109.
10) Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL and Randall RJ. Protein measurement with folin phenol Reagent. Biol Chem 1951; 193:265-275.
11) Layne E. Method Enzymol. Spectrophotometric and Turbidimetric Methods for Measuring proteins, 1957; 3:447-454.

Study of Interaction of Glutathione, Vitamin C and Vitamin E Under Hyperbaric Oxygen

Eghtesadi Sh

Tabriz University of Medical Sciences & Health Services

SUMMARY

In order to study the interaction of glutathione, vitamin C and vitamin E under hyperoxia (95% oxygen) and hyperbaric oxygen (2.5 atmospheric pressure), 20 days old male Guinea pigs were fed with basal vitamin C free diet, while receiving a vitamin C supplement of either high concentration (50 mg/day) or low concentration (1 mg/day) for two weeks. Animals were than exposed to hyperoxia and hyperbaric oxygen for seven months period. They were killed and livers were extracted for reduced (GSH) and oxidized (GSSG) glutathione; alpha and gamma tocopherol; total, reduced and oxidized vitamin C analysis by HPLC. Concentrations of liver total, reduced vitamin C and reduced C/oxidized C ratio in Guinea pigs under high dietary vitamin C supplements and exposure to hyperoxia and hyperbaric oxygen were significantly higer than respected values for animals receiving low vitamin C supplements ($P<0.05$).

The concentration of alpha and gamma tocopherol were not statistically different under either high or low vitamin C levels. However liver reduced glutathione in Guinea pigs receiving low vitamin C supplement under hyperoxia and hyperbaric oxygen ($o.667\pm0.123\ \mu$m GSH/mg protein) was significantly higher than respected value ($0.384\pm0.130\ \mu$m GSH/mg protein) in control group ($P<0.05$). This significant difference may imply to a positive interaction between vitamin C and glutathione in antioxidative activity under chronic hyperoxia and hyperbaric oxygen stress.