بررسی تاثیر دوزهای مختلف مکمل اسید فولیک بر نمایه‌های لیپیدی سرم در کلستاز انسدادی تجربی در موش صحرایی

زهرا محمدیان*[۱]، اکرم عیدی[۱]، پژمان مرتضوی[۲]، سیدمحمد توانگر [۳]، احمد اصغری[٤]

چکیده

کلستاز و به دنبال آن نقص در پاکسازی کلسترول و نمک‌های صفراوی از مجاری صفراوی موجب افزایش سطح خونی کلسترول می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی اثرمکمل اسید فولیک در میزان نمایه‌های لیپیدی در سرم موشهای صحرایی مدل کلستازیس است. ۸۱ موش صحرائی نر نژاد ویستار به صورت اتفاقی به ۹ گروه تجربی(۹ سر در هر گروه) تقسیم شدند. گروه ۱: کنترل سالم، گروه ۲:کنترل جراحی(sham) موشهای مراحل جراحی بدون ایجاد انسداد مجرای صفراوی را تحمل کردند، گروه‌های ۵-۳: کنترل سالم اسید فولیک، گروه ٦: موشهای کلستاتیک ،گروههای ۹-۷: موشهای کلستاتیک تیمار شده با اسید فولیک.گروههای تیمار،اسید فولیک را به ترتیب در سه دوز(۱، ۵ و۱۰ میلی گرم/کیلوگرم)، یک بار در روز از طریق گاواژ و به مدت ۲۸روز دریافت کردند. کلستازیس بوسیله انسداد مجرای صفراوی(BDL) ایجاد شد. نمونه‌های سرمی آنالیز بیوشیمیایی شدند و نمایه‌های لیپیدی با استفاده از روش های استاندارد اندازه گیری شد. موشهای گروه کلستاتیک ، غلظت بالای تری گلیسرید(TG)، کلسترول (TC)و لیپوپروتئین با چگالی پائین(LDL) را در سرم نشان دادند. تجویز مکمل اسیدفولیک در موشهای کلستاتیک به طور معنی‌داری سطوح سرمی TG وTC وLDL را کاهش و سطح سرمی لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) را افزایش داد.کلستازیس موجب افزایش کلسترول می‌شود و اسید فولیک دارای اثرات هایپولیپیدمیک و هایپوکلسترولمیک در موشهای مدل کلستاتیک است. این اثرات بر لیپیدهای خون در غلظت‌های مختلف اسیدفولیک متفاوت است. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که اسید فولیک می‌تواند به عنوان داروی ضد چربی خون در بیماران کلستاتیک مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی *: انسداد مجرای صفراوی ،کلسترول ،اسیدفولیک ، لیپوپروتئین.*

تاریخ دریافت: ۹۳/۳/۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/٦/۲۸

مقدمه

کبد نقش مهمی در تنظیم متابولیسم انواع مختلفی از چربی‌ها دارد و منبع اصلی لیپوپروتئین‌های پلاسما است که پاک‌سازی لیپوپروتئین‌ها از گردش خون را نیز به عهده دارد. همچنین آپوپروتئین‌هایی نظیر (apo A-I, apo B , apo E) که در تنظیم لیپوپروتئین‌های دخیل در ساختار کلسترول، تری گلیسرید و فسفولیپیدها نقش دارند را سنتز می‌کند. صفرا توسط کبد ساخته و ترشح می‌شود و موجب جذب چربی‌های مختلف از روده می‌گردد. صفرا کلسترول (یا به صورت آزاد و یا به شکل متابولیزه به نمک‌های صفراوی) و فسفولیپیدهای دیگر را به داخل روده ترشح می‌کند(۱۵). کلستاز می‌تواند در نتیجه نقص عملکردی در شکل گیری صفرا در سطح سلولهای کبدی و یا نقص در ترشح صفرا و جریان آن در سطح مجاری صفراوی رخ دهد (۲۵). انسداد مجرای صفراوی موجب تجمع اسیدهای صفراوی آب گریز سمی در کبد می‌شود که در نتیجه موجب آسیب و مرگ سلولی به دنبال آپوپتوز و یا نکروز و احتمالا فیبروز و سیروز کبدی می‌شود (۲۳). بسیاری از مطالعات نشان می‌دهند که استرس اکسیداتیو در بیماری‌زایی کلستاز نقش دارد و پراکسیداسیون چربی‌ها در پاسخ به آسیب بافتی ناشی از کلستاز رخ می‌دهد (۷). انسداد مجرای صفراوی (BDL) یک مدل تجربی در موش‌های آزمایشگاهی است که موجب فیبروز سریع و پیشرونده مجاری صفراوی می‌شود (۱۷) و بهترین مدل برای ارزیابی اثر پیشگیری یا درمانی ترکیبات مختلف بر ضد آسیب کبدی ایجاد شده بر اثر کلستاز است (۸). اسید فولیک (فولات، ویتامین B9)، ویتامین B محلول در آب است که در سبزیجات برگ سبز، میوه‌ها و دانه‌های خوراکی یافت می‌شود (۱۱) و از لحاظ تغذیه ای به میزان کافی در رژیم غذایی مردم بسیاری از کشورها وجود ندارد (۳). نیاز به مصرف اسید فولیک در مراحل مختلف

*۱ــ گروه زیست‌شناسی، واحدعلوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
zahramohammadian2000@yahoo.com
۲ـ گروه پاتوبیولوژی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۳ـ گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران ، بیمارستان شریعتی، تهران،ایران.
٤ـ گروه علوم درمانگاهی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

زندگی و در زمان افزایش تقسیم سلولی و بیماری افزایش می‌یابد و دریافت مکمل اسیدفولیک برای دستیابی به سطح لازم اسیدفولیک الزامی است (١٦). اسید فولیک شکل صناعی فولات است و جذبی دوبرابر فولات دارد که برای فعالیت زیستی بایستی توسط آنزیم دهیدروفولات سنتتاز به دهیدروفولات و بوسیله آنزیم دهیدروفولات ردوکتاز به تتراهیدروفولات (شکل فعال زیستی) تبدیل شود که تمام این مراحل در کبد صورت می‌گیرد (١٤). اسید فولیک نه تنها به عنوان کوفاکتور بیوسنتز اسیدهای نوکلئیک بلکه به عنوان یک آنتی اکسیدان خوب نیز مطرح است و در پاکسازی رادیکال‌های آزاد، کاهش استرس اکسیداتیو و در نتیجه کاهش آسیب بافتی نقش مهمی دارد (١١). با توجه به اینکه کبد بافت اصلی ذخیره و متابولیسم اسید فولیک (٣) و چربی‌ها (١٥) است و در طول کلستاز، بافت کبد دچار آسیب و اختلال می‌شود (٨)، بررسی اثر مکمل اسید فولیک بر میزان نمایه‌های لیپیدی در موش‌های صحرایی مدل انسداد مجرای صفراوی هدف اصلی این پژوهش است.

مواد و روش کار

در این تحقیق موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی ٣٢٠-٢٦٠ گرم و میانگین سنی ١٢ هفته مورد استفاده قرار گرفت. موشها از بخش تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور تهیه و در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. به منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط، هیچگونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها صورت نگرفت و تمامی حیوانات تحت شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان (دما (٢± ٢٢ درجه سانتیگراد)، رطوبت (٢±٥٦٪)، نور، جیره غذایی و تعداد دفعات غذای یکسان) و در چرخه روشنایی/تاریکی ١٢ ساعت نگهداری شدند. تغذیه موش‌ها با استفاده از پلت آماده مخصوص حیوانات آزمایشگاهی(خوراک دام پارس، ایران) صورت گرفت و آب نیز بصورت آزاد در اختیار حیوانات قرار گرفت. پروتکل این مطالعه مطابق اصول اخلاقی مورد تائید کمیته‌های بین المللی حمایت از حقوق حیوانات آزمایشگاهی (World Health Organisation and the United States National Institutes of Health, 1985, no. 23-85) انجام شد.

گروه‌های تجربی: ٨١ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار به ٩ گروه تجربی (٩ سر موش در هر گروه) تقسیم شدند. گروه ١، کنترل سالم؛ گروه ٢ ، کنترل جراحی بدون ایجاد انسداد مجرای صفراوی (sham) که حیوانات این گروه تمام مراحل جراحی به جزء انسداد مجرای صفراوی را تحمل کردند (برای برابر کردن استرس احتمالی جراحی بین گروه sham و گروه‌های کلستاز)؛ گروه‌های ٣، ٤ و٥، موش‌های سالم تیمار شده با اسید فولیک به ترتیب با دوزهای (١ و ٥ و ١٠ میلی‌گرم/کیلوگرم)؛ گروه ٦، کلستاز؛ گروه‌های ٧ و ٨ و ٩، موش‌های کلستاتیک تیمار شده با اسید فولیک (Sigma, Louis, MO, USA) به ترتیب با دوزهای (١ و ٥ و ١٠ میلی گرم/کیلوگرم).گروه‌های دریافت کننده اسید فولیک به مدت ٢٨ روز اسید فولیک را در ٠/٥ میلی لیتر حجم نرمال سالین و گروه‌های کنترل و کلستاز، ٠/٥ میلی لیتر حجم نرمال سالین را به صورت گاواژ دریافت کردند.

روش جراحی: حیوانات با تزریق داروهای کتامین هیدروکلراید (٩٠ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) و زایلازین (Alfasan ChemicalCo,Woerden,Holland) (١٠ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) به صورت تزریق داخل صفاقی بیهوش شدند. سپس با برش خط وسط شکم، حفره شکمی در ٣ لایه‌ی پوست، عضله و صفاق برش خورد. انسداد مجرای صفراوی به روش استاندارد Bile Duct Ligation (BDL) صورت گرفت (١٧). بدین صورت که پس از بیهوش نمودن حیوان و آماده‌سازی موضع عمل، بخش میانی حفره شکمی باز شد و مجرای صفراوی عمومی شناسایی و در دو قسمت توسط نخ بخیه ابریشمی ٠-٤ مسدود گردید (اولی دقیقا زیر تقاطع مجرای کبدی و دومی قبل از ورودی مجرای پانکراسی). سپس مجرای صفراوی از بین این دو نقطه قطع شد. ٢ میلی لیتر سالین

استریل به درون صفاق ریخته شد و سپس با دقت لایه‌های صفاق، عضله و پوست با نخ ویکریل ۰-٤ (نخ بخیه قابل جذب سنتتیک) بخیه شد. برای جلوگیری از جویده شدن بخیه توسط حیوانات بر روی موضع اسپری اکسی تتراسایکلین استفاده شد. حیوانات پس از به هوش آمدن کامل به قفس مخصوص نگهداری منتقل شدند. بعد از پایان ۲۸ روز، حیوانات به مدت ١٤ ساعت ناشتا بودند و پس از بیهوشی خون گیری از قلب صورت گرفت. نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریفیوژ با دور ۳۰۰۰ دور در ثانیه سانتریفیوژ شدند و نمونه‌های سرم جدا شده برای بررسی‌های بعدی در دمای ۸۰- درجه سانتیگراد نگهداری گردیدند.

بررسی‌های بیوشیمیایی: برای تجزیه و تحلیل نمونه‌ها از دستگاه اتوآنالایزر (selectra2، هلند) استفاده شد. در سنجش پروفایل لیپیدی از کیت‌های رنگ سنجی آنزیمی (کیت‌های کلسترول و تری گلیسرید ، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) بهره گرفته شد. اساس روش اندازه‌گیری به این صورت است که با استفاده از یک سری واکنش های آنزیمی پراکسید هیدروژن از تری گلیسرید و کلسترول ایجاد می‌گردد و در مرحله بعدی پراکسید هیدروژن تولید شده وارد واکنش تولید رنگ می‌شود که از روی شدت رنگ و مقایسه آن با محلول استاندارد می‌توان غلظت تری گلیسرید و کلسترول را در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری نمود. برای اندازه گیری HDL از روش رسوب دهی استفاده شد، به این صورت که ابتدا لیپوپروتئین‌های با چگالی پائین و خیلی پائین با معرف رسوب دهنده اسید فسفوتنگستیک رسوب داده شدند و مایع شفاف رویی که محتوای لیپوپروتئین با چگالی بالا بود، برداشته شد و به کمک کیت رنگ سنجی آنزیمی (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) میزان HDL در طول موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. سپس، LDL از TC ، TG و HDL بر اساس فرمول فریدوال((LDL= Total Chol - (HDL + (TG/5)) محاسبه شد(٦).

تجزیه و تحلیل آماری: در این مطالعه داده‌ها مبتنی بر اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی بود و برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار spss ویرایش ۲۰ استفاده شده است. نتایج به صورت میانگین ± انحراف از معیار مقادیر متغیر بیان شد و معنی‌دار بودن داده‌ها با استفاده از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه تعیین و $p< 0.05$ به عنوان مرز معنی دار بودن تفاوت ها در نظر گرفته شد.

نتایج

علائم انسداد مجرای صفراوی نظیر زردی، کدر شدن ادرار، خارش و روشن شدن رنگ مدفوع در حیوانات مورد آزمایش دیده شد. میزان وزن بدن در ابتدا و انتهای دوره آزمایش و همچنین تغییرات وزن تمام گروه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج نشان می‌دهند که در مقایسه با گروه کنترل، حیوانات گروه کلستاز وزنی اضافه نکرده اند و حتی نسبت به ابتدای آزمایش کاهش وزن معنی‌داری (***p<0.001) داشته اند. تیمار اسید فولیک با دوزهای۱و ۵ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن به مدت ۲۸ روز کاهش وزن ناشی از انسداد مجرای صفراوی را به طور معنی داری جبران نمود. نتایج مطالعه حاضر نشان می دهند که میزان کلسترول سرم در موش‌های گروه‌های کلستاز و کلستاز تیمار شده با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک به طور معنی‌داری (***P<0.001) نسبت به موش‌های کنترل سالم افزایش یافت ولی موش‌های گروه‌های کلستاز تیمار شده با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک تفاوت معنی‌داری با موش‌های کنترل سالم نشان ندادند. تیمار اسید فولیک با دوزهای ۱و۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن در موش‌های سالم تفاوت معنی‌داری در میزان کلسترول سرم با گروه کنترل ایجاد نکرد ولی دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک در موش‌های گروه‌های کلستاز تیمار شده با اسید فولیک موجب کاهش معنی‌داری (+++P<0.001) نسبت به گروه کلستاز شد (جدول ۲).

جدول ۱- وزن ابتدا و انتهای دوره آزمایش و تغییرات وزن بدن موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار سالم و کلستاز تیمار شده با اسید فولیک
تعداد حیوانات در هر گروه ۹ سر و نتایج بر اساس میانگین ±انحراف از معیار می باشد. p<0.001*** اختلاف از گروه سالم و p<0.01 ++ و p<0.05 + اختلاف از گروه کلستاز را نشان می‌دهد.

گروه‌ها / شاخص		وزن بدن در ابتدای آزمایش (g)	وزن بدن در انتهای آزمایش (g)	تغییرات وزن بدن (g)
کنترل		۲۶۹/۲ ± ۵/۸۳	۳۰۲/۷ ± ۷/۶۴	۳۳/۵ ± ۲/۸۱
کنترل جراحی(sham)		۲۸۶/۳ ± ۶/۹	۳۱۳/۳ ± ۶/۸	۲۷/۱ ± ۱/۹
اسید فولیک (mg/kg)	۱	۲۹۸/۸۳ ± ۹/۴۵	۳۲۶/۱۷ ± ۱۰/۴۲	۲۷/۳۳ ± ۳/۰۷
	۵	۲۸۲/۶ ± ۵/۴	۳۰۹/۷ ± ۶/۵	۲۷/۱ ± ۳/۱
	۱۰	۲۶۳ ± ۹/۲	۲۹۲ ± ۹/۶	۲۹ ± ۱/۶
کلستاز		۲۹۱/۵ ± ۵/۷۱	۲۸۹/۱ ± ۴/۸۶	***-۲/۷ ± ۴/۱۴
کلستاز + اسید فولیک (mg/kg)	۱	۳۱۴/۵ ± ۷/۴	۳۲۴/۱ ± ۷/۲	+ ۹/۵ ± ۲/۶
	۵	۲۶۰/۳ ± ۶/۶۳	۲۷۸/۳ ± ۸/۹۴	++۱۸/۱ ± ۳/۰۲
	۱۰	۳۰۲/۸ ± ۱۰/۸	۳۲۱/۷ ± ۱۱/۹	++۱۸/۸ ± ۱/۶

میزان تری گلیسرید سرم در گروه‌های کلستاز و کلستاز تیمار شده با دوز ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک و دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک به طور معنی داری به ترتیب (P<0.001 *** و P<0.01 **) نسبت به گروه کنترل سالم افزایش یافت.تیمار اسید فولیک با دوزهای ۱و۵ و۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن در موش‌های سالم تفاوت معنی‌داری در میزان تری گلیسرید سرم با گروه کنترل ایجاد نکرد ولی دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک در گروه‌های کلستاز تیمار شده با اسید فولیک موجب کاهش معنی‌داری(P<0.001 +++)نسبت به گروه کلستاز شد.(جدول ۲).

با توجه به نتایج، میزان لیپوپروتئین با چگالی بالا (HDL) سرم در گروه کلستاز و کلستاز تیمار شده با دوز ۱میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک به طور معنی‌داری (P<0.001 ***) نسبت به موش‌های کنترل سالم کاهش یافت. گروه کلستاز تیمار شده با دوزهای ۵ و۱۰میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک تفاوت معنی داری با موش‌های کنترل سالم نشان ندادند. تیمار اسید فولیک با دوزهای ۱و۵ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن در موش‌های سالم تفاوت معنی‌داری در میزان HDL سرم با گروه کنترل ایجاد نکرد ولی تیمار موش‌های سالم با دوز ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن اسیدفولیک افزایش معنی‌داری (p<0.05 *) در میزان HDL سرم نسبت به گروه کنترلی که اسید فولیک دریافت نکرده بود ایجاد کرد. دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم / کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک در موش‌های کلستاز تیمار شده با اسید فولیک موجب افزایش معنی‌داری به ترتیب (p<0.05 + و P<0.01++) در میزان HDL سرم نسبت به گروه کلستاز شدند (جدول ۲).

جدول ۲- بررسی میزان نمایه های لیپیدی سرم در موش‌های صحرایی نر سالم و کلستاز تیمار شده با دوزهای مختلف اسید فولیک
تعداد حیوانات در هر گروه ۹ سر و نتایج بر اساس میانگین ± انحراف از معیار می باشد. $p<0.001$*** ، $p<0.01$** و $p<0.05$* اختلاف از گروه سالم و $p<0.001$+++ ، $p<0.01$ ++ و $p<0.05$+ اختلاف از گروه کلستاز را نشان می دهد.

گروه‌ها / شاخص		TG (mg/dl)	TC (mg/dl)	HDL (mg/dl)	LDL (mg/dl)
کنترل		٦١/٣ ± ١/٥	٥٧ ±١/٦	٢١ ± ٠/٩	٢٣/٣ ± ٠/٤
کنترل جراحی(sham)		٦٤/٥ ± ١/٨	٥٦ ± ١/٦	٢٢ ± ١/١	٢٢/٥ ± ١/٧
اسید فولیک (mg/kg)	١	٦٤/١ ± ١/٧	٥٥ ± ١/٥	٢٢ ± ١/١	٢٠/٣ ± ٠/٤
	٥	٦٦/٢ ± ١/٨	٥٣ ± ١/١	٢٤ ± ٠/٩	٭١٦/٣ ± ٠/٨
	١٠	٥٦/٨ ± ١/٤	٥١ ± ١/١	٭٢٥ ± ٠/٦	٭١٤/٨ ± ٠/٩
کلستاز		٭٭٭١١٦/١ ± ٦/٦	٭٭٭٧٨ ± ٢/٩	٭٭٭١٣ ± ١/٢	٭٭٭٤١/٣ ± ٢/٦
کلستاز + اسید فولیک (mg/kg)	١	٭٭٭١٠٢/١ ± ٤/٧	٭٭٭٧٣ ± ٢/٨	٭٭٭١٢ ± ١/١	٭٭٭٤٠/٥ ± ٣/١
	٥	+++٭٭٨٣/٢ ± ٥/٧	+++٥٢ ± ٣/٦	+١٩ ± ١/٧	+++٢٦/٣ ± ٤/٢
	١٠	+++٭٭٨٥/٨ ± ٤/٦	+++٦١ ± ١/٢	++٢٠± ١/٣	+++٢٤ ± ١/٦

میزان لیپوپروتئین با چگالی پائین (LDL) سرم در موش‌های کلستاز و کلستاز تیمار شده با دوز ۱ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک به طور معنی داری (P<0.001 ٭٭٭) نسبت به موش‌های کنترل سالم افزایش یافت اما موش‌های کلستاز تیمار شده با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک تفاوت معنی داری با موش‌های کنترل سالم نشان ندادند.تیمار اسید فولیک با دوز ۱میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن در موش‌های سالم تفاوت معنی داری در میزانLDL سرم با گروه کنترل ایجاد نکرد ولی تیمار موش‌های سالم با دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن اسیدفولیک کاهش معنی‌داری (p<0.05 ٭) در میزان LDL نسبت به گروه کنترلی که اسید فولیک دریافت نکرده بود ایجاد کرد. دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک در موش‌های کلستاز تیمار شده با اسید فولیک موجب کاهش معنی‌داری (P<0.001 +++) در میزان LDL سرم نسبت به گروه کلستاز شدند. در بین دوزهای استفاده شده اسید فولیک، دوز ۱ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن اسید فولیک تفاوت معنی‌داری در میزان نمایه‌های لیپیدی سرم در گروه کلستاز تیمار شده با اسید فولیک نسبت به گروه کلستاز ایجاد نکرد(جدول ۲).

بحث

این مطالعه تجربی، تاثیراسیدفولیک در هایپرلیپیدمی القاء شده به دنبال انسداد مجرای صفراوی را بررسی می کند. تغییرات وزن موش‌های گروه کلستاز نشان دهنده عدم وزن گیری مناسب و حتی کاهش وزن آنها بود. با توجه به آنکه کاهش وزن بدن نمایانگر بدتر شدن وضعیت سلامتی عمومی در موش‌هاست و می‌تواند به علت اثرات سمی و اختلالات بیوشیمیایی ایجاد شده بر اثر مواد سمی مضر برای بدن ایجاد شود(۲٤) و انسداد مجرای صفراوی موجب تجمع اسیدهای صفراوی سمی در کبد می‌شود (۲۳) می‌توان این اثر را اینگونه توجیه کرد که آسیب بافت کبد در اثر حضور اسیدهای صفراوی موجب اختلالات بیوشیمیایی می‌گردد که بر واکنش‌های متابولیسمی اثر می‌گذارد و از سوی دیگرجذب ناکافی چربی‌ها به دنبال اختلال در ترشح صفرا موجب کاهش وزن، فقدان انرژی، کمبود ویتامین‌های

محلول در چربی و کمبود اسیدهای چرب ضروری برای بدن می‌شود (۱۵) و در نتیجه منابع غذایی کافی برای وزن گیری مناسب در اختیار بدن قرار نمی گیرد و موجب کاهش وزن می‌شود. تیمار با اسید فولیک تا حدود زیادی از این کاهش وزن جلوگیری می کند که می‌توان آن را به اثر آنتی اکسیدانی اسید فولیک نسبت داد، زیرا تحقیقات مختلفی نشان داده اند که آسیب اکسیداتیو کبدی به طور مستقیم توسط کاهش ظرفیت آنتی اکسیدانی کبد و افزایش پراکسیداسیون کبدی و یا به طور غیر مستقیم و از طریق کمبود فولات با مهار آنزیم دهیدروفولات ردوکتاز ایجاد می‌گردد(۲۰).

در این تحقیق دیده شد که میزان تری گلیسرید و کلسترول سرم در موش‌های انسداد مجرای صفراوی افزایش یافت. بیماری کلستاتیک کبدی باعث اختلال در جنبه های مختلف جذب و متابولیسم لیپیدها می‌گردد. اختلال در جریان صفرا از کبد به لوله گوارش موجب تجمع مواد سمی صفرا در کبد و آسیب به سلولهای کبدی می‌شود و در عملکرد سنتتیک سلول های کبدی اثر گذاشته که موجب کاهش تولید آنزیم های درگیر در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها می‌شود. همچنین ترشح لیپوپروتئین‌ها در طول کلستاز دچار اختلال شده که این اختلال با کاهش سطح HDL و حضور لیپوپروتئین LPX در پلاسما نشان داده می‌شود (۲۲). در بیماری کلستاز مزمن کبدی، هایپرلیپیدمی به وسیله افزایش بارز سطح LDL به همراه سطح طبیعی یا پائین HDL نشان داده می‌شود(۱۰). هایپر کلسترولمیا، اختلال معمول در بیمارانی است که از انسداد مجرای صفراوی رنج می‌برند که می‌تواند در نتیجه نقص در پاکسازی کلسترول و نمک‌های صفراوی از طریق جریان صفرا در مجرای صفراوی باشد و به دنبال برگشت کلسترول و اسیدهای صفراوی به جریان خون موجب افزایش سطح کلسترول سرمی می‌شود و از همین راه تعادل استرول بدن را به هم می‌زند(۱۲). تیمار با اسید فولیک موجب کاهش سطح تری گلیسرید و کلسترول سرم در موش‌های انسداد مجرای صفراوی می‌شود که می‌توان آن را به اثر مهاری اسیدفولیک در لیپولیز چربی‌ها نسبت داد (۱۸). در تحقیق دیگری تغییرات لیپیدی به دنبال کلستاز داخل کبدی حاملگی را نتیجه تعدیل متابولیسم لیپیدی به وسیله اسیدهای صفراوی بیان می کند(۲۱) و ازآنجا که اسیدهای صفراوی در نتیجه هیدروکسیله شدن کلسترول درون زا ایجاد می‌شوند، درنتیجه کاهش سطوح کلسترول سرمی به دنبال تیمار با اسیدفولیک می‌تواند موجب تسریع تنظیم کاهشی جریان داخل کبدی اسیدهای صفراوی شود (۸) و از ساخت صفرای اضافی جلوگیری کند و در نتیجه میزان آسیب ناشی از اسیدهای صفراوی کاهش می‌یابد و از تغییرات متابولیسم لیپیدی جلوگیری می‌کند. از سوی دیگر، احتباس کلسترول در طول کلستاز موجب افزایش محتوای کلسترول غشائی سلول‌های کبدی و کاهش سیالیت و نقص در عملکرد پروتئین های غشاء گذر می‌گردد (۱۹) و کاهش میزان کلسترول به دنبال تیمار با اسید فولیک از این اثر جلوگیری می‌کند. در این تحقیق موش‌های کلستاتیک افزایش معنی‌داری در میزان LDL و کاهش معنی داری در میزان HDL را نشان دادند. در تحقیقات مشابه دیده شده است که هایپر کلسترولمیا در کلستاز مخصوصا در شکل خارج کبدی همراه با حضور لیپوپروتئین LPx در پلاسماست (۲۲) و به دنبال کلستاز محتویات لیپیدی LDL در اشکال LPx و لیپوپروتئین با میزان تری گلیسرید بالا (شیلومیکرون) افزایش می یابد. همچنین کلستاز مزمن همراه با کاهش قوی در میزان HDL پلاسماست (۲۲). افزایش آسیب ناشی از رادیکال های آزاد موجب بیان غیر طبیعی ژن‌ها، اختلال در فعالیت گیرنده‌ها، اختلال در سیستم ایمنی، جهش‌زایی و تخلیه پروتئین و لیپوپروتئین می‌شود (۷). علت کاهش HDL را می‌توان به افزایش نسبت پاکسازی HDL و یا کاهش سنتز آن در طول کلستاز نسبت داد (٤). کاهش غلظت تری گلیسرید، کلسترول و LDL و افزایش غلظت HDL در گروه‌های کلستاز تیمار شده با اسید فولیک در دوزهای ۵ و ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن، نشان دهنده اثر هایپولیپیدمی و

هایپوکلسترولمی اسیدفولیک می باشد. نتایج مشابه در مدل‌های تجربی دیگر نشان دهنده کاهش سطح LDL، تری گلیسرید و کلسترول تام و افزایش سطح HDL در حیوانات تیمار شده با سم تتراکلرید کربن و فولیک اسید است (۵). این اثر ممکن است مربوط به افزایش کاتابولیسم کلسترول در شکل‌گیری اسیدهای صفراوی باشد که باعث مهار سنتز کلسترول می‌شود(۵). در مطالعه‌ای دیگر، تیمار اسیدفولیک در موش‌های هایپرکلسترولمیک موجب کاهش معنی‌دار سطح نمایه های لیپیدی سرم شد و از تغییراتی که موجب ایجاد کبد چرب می‌شود پیشگیری کرد و خطر آترواسکلروز و بیماری قلبی عروقی را کاهش داد (۲). استفاده از دوز پائین اسیدفولیک در بیماران با ریسک فاکتور آترواسکلروز، نشان دهنده اثر کاهنده اسید فولیک بر میزان هموسیستئین است و تغییرات مفیدی را در نمایه‌های لیپوپروتئینی نشان می‌دهد که شامل کاهش معنی‌دار غلظت کلسترول تام، LDL و افزایش apo AI در گروه‌های تجربی است (۱۳). HDL دارای یک نقش حفاظتی در سلولهای کبدی است که این کار را با فعال کردن فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز و سیگنال فرودست Akt انجام می‌دهد (۲۲). پس افزایش HDL به دنبال تیمار با اسیدفولیک در مدل کلستاز انسدادی تجربی می‌تواند برای سلول‌های کبدی اثر محافظتی داشته باشد و از ایجاد آسیب بیشتر به سلول‌ها جلوگیری کند. در این مطالعه، گروه‌های کنترل سالم تیمار شده با اسیدفولیک نیز یک کاهش معنی‌دار را در میزان LDL و افزایش معنی دار در میزان HDL نشان دادند که با یافته‌های owoyele و همکارانش مطابقت می‌کند (۱۸).

در مطالعه حاضر با توجه به اینکه سه دوز کم ، متوسط و بالاتر از متوسط (نه زیاد) اسیدفولیک مورد بررسی قرار گرفت مشاهده شد که دوز کم (۱ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن) فاقد اثر معنی دار بر نمایه‌های لیپیدی بود و در تحقیق دیگری، همین دوز در بهبود گاستروپاتی القاء شده توسط ایندومتاسین نیز بی تاثیر بوده است (۱). دوزهای ۵ و ۱۰ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن در تصحیح سطح نمایه های لیپیدی سرم در موش‌های کلستاتیک اثر معنی دار نزدیکی داشتند. با توجه به آنکه اعتقاد عمومی بر این است که اسیدفولیک یک ماده سالم و غیر سمی است (۱). اما مطالعات بالینی و تجربی پیشنهاد می کنند که اسید فولیک دارای اثرات دوگانه تعدیلی در کارسینوژنز است که به زمان و دوز مصرفی بستگی دارد و ممکن است که دوز بالای اسید فولیک نه تنها اثرات مفید بیشتری را به همرا نداشته باشد بلکه خطر بعضی سرطان‌ها را افزایش دهد (۱). میزان قابل توجهی از اسیدفولیک در صفرا ترشح می‌شود و جریان اسیدفولیک در داخل صفرا ۵ برابر بیشتر از میزان دریافت روزانه آن است (۹)، در نتیجه اختلال در سیستم صفراوی موجب می‌شود که دفع مقادیر اضافی اسید فولیک به درستی از طریق صفرا صورت نگیرد و احتمال تجمع و اثرات منفی دوز بالای اسید فولیک افزایش می یابد، پس می‌توان گفت که دوز ۵ میلی گرم/کیلوگرم وزن بدن (دوز متوسط) اسید فولیک می‌تواند به عنوان دوز موثر در کاهش سطح نمایه‌های لیپیدی سرم با حداقل میزان خطر در کلستاز انسدادی تجربی باشد.

با توجه به مطالعه حاضر، اسید فولیک دارای اثرات هایپولیپیدمیک و هایپوکلسترولمیک در موش‌های مدل انسداد مجرای صفراوی است و تیمار خوراکی اسیدفولیک می‌تواند میزان نمایه‌های لیپیدی خون که بر اثر انسداد مجرای صفراوی دستخوش تغییرات مضر می‌شود را به میزان طبیعی نزدیک کند. استفاده از دوز متوسط اسیدفولیک در بیماران کلستاتیک، بیماران دارای سنگ کیسه صفرا و یا افرادی که تحت عمل جراحی برداشتن کیسه صفرا قرار گرفته اند، می‌تواند از افزایش چربی خون در این بیماران تا حدود زیادی پیشگیری کند. البته مطالعات بعدی برای بررسی جزئیات این اثرات اسید فولیک و خطرات احتمالی آن لازم است.

فهرست منابع

1. Ajeigbe, K.O., Oladejo, E.O., Emikpe, B.O., Asuk, A.A., Olaleye, S.B. (2011): The dual modulatory effect of folic acid supplementation on indomethacin induced gastropathy in the rat. E. J. Biolo. Sci. 3 (3): 86-93.
2. Akter, S., Miah, M.A., Khan, M.A.H.N.A., Islam, M.K. (2013): Effects of estrogen and folic acid on high fat induced hypercholesterolemic mice. J. Brit. Biotech. 3(1): 39-53.
3. Bermingham , E.N., Bassett , S.A.,Young, W., Roy , N.C., McNabb , W.C., Cooney , J.M., Brewster , D.T., Laing , W.A., Barnett, M.PG. (2013): Post-weaning selenium and folate supplementation affects gene and protein expression and global DNA methylation in mice fed high-fat diets. J. BMC. Med. Geno. 6:7.
4. Claudel, T., Sturn, E., Duez, H. (2002): Bile acid-activated nuclear receptor FXR suppresses apo lipoprotein A-I transcription via a negative FXR response element. J. Clin. invest. 109: 961-71.
5. Ebaid, H., Bashandy, S.AE., Alhazza , I.M., Rady, A., El-Shehry, S.(2013) : Folic acid and melatonin ameliorate carbon tetrachloride-induced hepatic injury, oxidative stress and inflammation in rats. J. Nutr. Metabolism. 10:20.
6. Friedewald, W.T., Levy, R.I., Fredrickson, D.S. (1972): Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. Clin. Chem. 18(6): 499-502.
7. Ismail, N.A., Okasha, S.H., Dhawan, A., Abdel-Rahman, A.O., Shaker, O.G., Sadik, N.A. (2010): Antioxidant enzyme activities in hepatic tissue from children with chronic cholestatic liver disease. J. Gastroenterology. 16(2):90-4.
8. Kim, T.W., Lee, H.K., Song, I.B., Lim, J.H., Cho, E.S., Son, H.U., Joung, J.Y., Yun, H.I.(2013): Platycodin D attenuates bile duct ligation-induced hepatic injury and fibrosis in mice. J. Food Chem. Toxico .51: 364–369.
9. Lin ,Y., Dueker, S.R., Follett, J.R., Fadel, J.G., Arjomand, A.,Schneider, P.D., Miller, J.W., Green, R., Buchholz, B.A., Vogel , J.S., Phair, R.D., Clifford, A.J.(2004): Quantitation of in vivo human folate metabolism. J. Clin Nutr. 0:680–91.
10. Longo, M., Crosignani, A., Podda, M. (2001): Hyperlipidemia in chronic cholestatic liver disease. J. Curr. Treat. Optio. Gastroe. 4(2):111-114.
11. Mannino, D.M., Mulinare, J., Ford, E.S., Schwartz , J.(2003): Tobacco smoke exposure and decreased serum and red blood cell folate levels: data from the third national health and nutrition examination survey. J. Nicotine and Tobacco Research. 5:357-362.
12. Mcintyre, N., Harry, D.S., Pearson, A.J.G. (1975): The hypercholesterolaemia of obstructive jaundice. J. Gut. 16: 379-391.
13. Mierzecki, A., Kloda, K., Bukowska, H., Chelstowski, K., Makarewicz-Wujec, M., Kozlowska-Wojciechowska, M. (2013): Association between low-dose folic acid supplementation and blood lipids concentrations in male and female subjects with atherosclerosis risk factors. J. Med. Sci. Monit. 19:733-739.
14. Milman, N. (2012): Intestinal absorption of folic acid - new physiologic &molecular aspects. Indian J. Med. Res. 136:725-728.
15. Nguyen, P., Leray, V., Diez, M., Serisier, S., Le Bloc'h, J., Siliart, B., Dumon, H. (2008): Liver lipid metabolism. J. Animal Physiology and Animal Nutrition. 92: 272–283.
16. Ohrvik, V.E., Witthoft, C.M. (2011): Human folate bioavailability, Review. J. Nutrients. 3: 475-490.
17. Olteanu, D., Nagy, A., Dudea, M., Filipi, A., Muresani, A., Catoi, C., Mircea , P.A., Clichici, s. (2012) : Hepatic and systemic effects of Rosuvastatin on an experimental model of bile duct ligation in rats. J. Phys. Pharm. 63. 5: 483-496.
18. Owoyele, B.V., Yakubu, M.T., Alonge, F., Olatunji, L. A., Soladoye, A.O. (2005): Effects of folic acid intake on serum lipid profiles of apparently healthy young adult male nigerians. Afr. J. Biom. Res. 8 :139–142.

19. Rodriguez-Garay, E.A. (2003): Cholestasis: human disease and experimental animal models, Review. j. anna. hepatology . 2(4): 150-158.
20. Soliman, M.E. (2009): Evaluation of the possible protective role of folic acid on the liver toxicity induced experimentally by methotrexate in adult male albino rats egypt. J. Histol. 32(1). 118 – 128.
21. Srivastava, R.A., Srivastava, N., Averna, M.(2000) : Dietary cholic acid lowers plasma levels of mouse and human apolipoprotein A-I primarily via a transcriptional mechanism. Eur. J. Biochem. 267: 4272–80.
22. Tallet, F., Vasson, M.P., Couderc, R.(1996) : Characterization of lipoproteins during human cholestasis .J. Clin. Acta. 244 :1-150.
23. Xu , S.C., Chen, Y.B., Lin , H., Pi , H.F., Zhang , N.X., Zhao , C.C., Shuai , L., Zhong , M., Yu , Z.P., Zhou, Z., Bie, P.(2012) :Damage to mtDNA in liver injury of patients with extrahepatic cholestasis:The protective effects of mitochondrial transcription factor A. J. Free Radical Biology & Medicine. 52: 1543–1551.
24. Yousef, I.M., El-Demerdash, M.M., Radwan, F.M.E. (2008): Sodium arsenite induced biochemical perturbations in rats: ameliorating effect of curcumin. Food Chem. Toxicol. 48:3506–11.
25. Zollner, G., Trauner, M. (2008): Mechanisms of cholestasis. J. Clin. Liver Dis. 12: 1–26.