دوماهنامه طبّ جنوب
پژوهشکده زیست-پزشکی خلیج فارس
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر
سال نوزدهم/ شماره ۲، صفحه ۲۳۳ - ۲۲۵ (خرداد و تیر ۱۳۹۵)

ISMJ 2016; 19(2): 225-233

بررسی اثرات نیتریت سدیم خوراکی بر تغییرات بافت‌شناسی سرخرگ آئورت در موش‌های صحرایی نر بالغ

سعید خاتم‌ساز [۱*]، فاطمه جویبار [۲]

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ایران
[۲] باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد کازرون، دانشگاه آزاد اسلامی، کازرون، ایران

(دریافت مقاله: ۹۳/۸/۳۰- پذیرش مقاله: ۹۴/۲/۲۷)

چکیده

زمینه: با توجه به مصرف زیاد نیتریت در غذاهای آماده در جامعه و بالا بودن میزان نیتریت در آب، خاک و اکوسیستم، نیتریت می‌تواند سلامتی بسیاری از انسان‌ها را به خطر اندازد در مطالعه حاضر اثرات نیتریت سدیم برسرخرگ آئورت در موش‌های صحرایی نربالغ بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به طور تصادفی به سه گروه ۱۰ تایی تقسیم شد که شامل گروه دریافت کننده دوز حداقل (۱۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز) و گروه دریافت کننده دوز حداکثر نیتریت سدیم (۳۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن/روز) و گروه کنترل بودند. سپس آن‌ها را به مدت ۶۰ روز تحت مداخله قرار گرفتند. موش‌های صحرایی نیتریت سدیم را از طریق آب آشامیدنی دریافت می‌کردند. در پایان آزمایش موش‌ها را به جار بیهوشی منتقل و سپس با رعایت اصول یوتناژی پس از بیهوشی با اتر خونگیری از قلب صورت گرفت، سرخرگ آئورت از بدن حیوان خارج، و جهت بررسی تغییرات بافتی، از آن مقاطع بافتی تهیه شد و فاکتورهایی نظیر ویژگی‌های بافت‌شناسی (مورفومتریک و مورفولوژیک) سرخرگ، مورد بررسی قرار گرفتند. رنگ‌آمیزی نمونه‌ها به روش ماسون تری‌کروم و هماتوکسیلین ائوزین انجام شد. ضخامت لایه‌ی میانی (**Internal media**) توسط نرم‌افزار **Image tool** اندازه‌گیری گردید. میزان نیتریک اکساید خون نیز سنجیده شد. و در انتها نتایج به‌دست آمده به وسیله نرم‌افزار **SPSS** ویرایش ۱۷ و تست **ANOVA** مورد بررسی آماری قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که ضخامت لایه میانی سرخرگ آئورت در گروه دریافت کننده نیتریت سدیم با دوز بالا و پایین در سطح معنی‌دار نسبت به گروه کنترل خود کاهش یافته است ($p\leq ۰/۰۵$) و در گروه دریافت کننده ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم لایه مدیا نسبتاً نامنظم و حالت غیر یکنواخت را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: براساس نتایج حاصل نیتریت سدیم می‌تواند در دراز مدت اثرات مخرب را بر بافت سرخرگ آئورت القا کند.

واژگان کلیدی: نیتریت سدیم، سرخرگ آئورت، موش صحرایی، نیتریک اکساید

* کازرون، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، ایران

E-mail:saeed1617@yahoo.com

مقدمه

امروزه مصرف نیرات‌ها و نیتریت‌ها به عنوان نگهدارنده در بسیاری از محصولات غذایی افزایش چشمگیری یافته است نیرات‌ها بیشتر در محصولاتی که زمان عمل‌آوری طولانی‌تری دارند یا دوره رسیدگی را پشت سر می‌گذارند استفاده می‌شود (۱).

مقادیر نیترات و نیتریت، شاخص‌های مهمی برای ارزیابی کیفیت آب می‌باشد. و از این رو آب منبع مهم نیتریت از طریق احیا نیترات محسوب می‌شود (۲). از آنجا که عمل‌آوری گوشت شامل استفاده از نمک، شکر، نیتریت و یا نیترات در گوشت برای پدید آمدن یکسری ویژگی‌های مطلوب در آن می‌باشد. از بین این ترکیبات، نیتریت و نیترات از نقش کلیدی‌تری برخوردارند و عمده ویژگی‌های مطلوب گوشت‌های عمل‌آوری شده به آن‌ها مربوط می‌شود (۱). نیتریت سدیم یک نمک نم‌گیر سفید رنگ جامد با فرمول شیمیایی $NaNo_2$ می‌باشد. در دمای ۳۲۰c تجزیه می‌شود و در آب و آمونیاک به خوبی حل شده به طوری که قابلیت حل آن ۸۲ گرم بر ۱۰۰ میلی‌لیتر آب می‌باشد. در اتانول، آب، اتر و پیریدین نیز قابل حل می‌باشد. سرطان‌زایی و جهش‌زایی نیتروزآمین‌ها در بسیاری از حیوانات به اثبات رسیده است و از این رو در خصوص تولید این ماده در فرآورده‌های گوشتی عمل‌آوری شده نگرانی‌های زیادی وجود دارد (۳). هنگامی‌که pH معده اسیدی باشد و باکتری‌های روده‌ایی در روده موجود باشند، نیتریت به آسانی با آمین‌های ثانویه و آمیدها واکنش می‌دهد و ترکیبات سرطان‌زای N-nitrose را تولید می‌کند (۲ و ۵).

به نظر می‌رسد که سطح نیتریت بدن پستانداران به صورت حفاظت شده می‌باشد. در انسان‌ها نیتریت پلاسما در محدوده ۱۲۱ تا ۳۵۰ نانومول قرار دارد و کاهش این میزان همراه با اختلال اندوتلیال و افزایش فاکتورهای خطرناک بیماری‌های عروق کرونری بوده است (۶). مطالعات متعدد اثرات گشاد کنندگی عروق، توسط نیتریت در دوزهای پایین در موش‌های صحرایی، گوسفند، سگ، پریمات و انسان را تأئید کرده است. در حالتی که اکسیژن به میزان کافی باشد NO_2، NO را از L– آرژنین تولید می‌کند مقداری از این NO به ماهیچه‌های صاف رسیده و باعث اتساع عروق می‌شود. در حالی که مقداری از آن در خون به نیترات و در بافت به نیتریت تبدیل می‌شود (۵).

اثرات سمیت NO به طور مستقیم، نسبتاً زیاد نمی‌باشد. اما در اثر واکنش با سوپر اکسایدها و تشکیل پروکسی نیتریت، اثر سمیت آن به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد (۷) پروکسی نیتریت (-ONOO) می‌تواند به طور آزادانه از غشا دو لایه فسفو لیپیدی عبور کند و با مولکول‌های هدف زیادی از قبیل لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA واکنش داده و در نهایت مرگ سلولی از طریق نکروز و یا آپتوزیس را ایجاد کند (۸). در حقیقت میزان سمیت نیتریت نسبت به نیترات، تا ده برابر بیشتر می‌باشد و باعث مشکلاتی از قبیل مت هموگلوبینمیا, هیپرتروفی ناحیه زونا گلومروزای آدرنال (در موش‌های صحرایی) و شواهد نامعلومی از سرطان‌زایی مانند سرطان کبد مثانه، ریه و مری می‌شوند (۳ و ۴). آلف (Alef) و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که رژیم غذایی حاوی نیتریت باعث تأثیر منفی بر مکانیسم پر سلولی شدن غشاء درون رگ‌ها می‌شود (۹).

همچنین بوربلی (Borbely) و همکاران در سال ۲۰۰۵ گزارش دادند که پروکسی نیتریت، مولکول‌های α– اکتین‌های موجود در میوکاردیوم قلب را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۰). علی‌رغم اینکه نیتریت بر روی سیستم‌های مختلف بدن تأثیرگذار است, در صنایع غذایی، دارویی و شیمیایی مصرف گسترده‌ای داشته و همچنین امروزه در بسیاری از مواد غذایی و آفت کش‌ها به طور

بی‌رویه مورد استفاده قرار گرفته است. آئورت و انشعاباتی که از کمان آئورت سرچشمه می‌گیرند از نوع سرخرگ‌های الاستیک می‌باشند دیواره این رگ‌ها ممکن است به دلیل فراوانی الاستیک در آن‌ها، زرد رنگ و تازه باشد. پوشش میانی سرخرگ‌های الاستیک دارای یک لایه اندوتلیوم است که به وسیله یک لایه باریک در بافت پیوندی زیرین حمایت می‌شود (۱۱). با توجه به خاصیت ارتجاعی دیواره سرخرگ الاستیک، در حالی که خون از قلب به طور متناوب پمپ می‌گردد, در سیستم سرخرگی به صورت پیوسته جریان می‌یابد (۱۰). از آنجا که ترکیبات حاوی نیترات به صورت گسترده به عنوان نگهدارنده در غذاهای آماده استفاده می‌شود, سرخرگ آئورت به عنوان یک هدف در اثرات جانبی مصرف ترکیبات حاوی نیترات مطرح می‌باشد. لذا هدف از مطالعه حاضر بررسی اثرات هیستو پاتولوژیکی نیتریت سدیم و تأثیرات آن بر بافت سرخرگ آئورت می‌باشد. با نتایج حاصل از این پژوهش, می‌توان با آگاهی بیشتر افراد را متوجه خطرات احتمالی مصرف این ترکیبات نمود.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار استفاده که تمامی این موش‌ها از خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اهواز تهیه و در شرایط آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون نگهداری شدند. جهت مأنوس شدن حیوان با محیط جدید، موش‌ها به مدت سه روز قبل از شروع آزمایش در شرایط جدید نگهداری شدند. موش‌های صحرایی در قفس‌های پلی‌اتیلنی مخصوص و در شرایط استاندارد با درجه حرارت محیطی در زمان انجام آزمایش ۲۵-۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد و شرایط نوری در چرخه‌ی زمانی ۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی، به‌مدت ۶۳ روز (۶۰ روز برای آزمایش و ۳ روز برای سازگاری در محیط) نگهداری شدند. تمام موش‌ها به غذای فشرده استاندارد به صورت نامحدود دسترسی داشتند. موش‌های صحرایی در ۳ گروه ده تایی به شرح زیر طبقه‌بندی شدند:

۱- گروه کنترل: روزانه از آب آشامیدنی شهرستان کازرون و غذای استاندارد آزمایشگاهی (رژیم سالم و طبیعی) به طور آزادانه در طی آزمایش استفاده می‌کردند و تحت هیچ‌گونه تیمار خاصی قرار نگرفتند.

۲- گروه تیمار با دوز پایین: روزانه مقدار ۱۷۵ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن خود نیتریت سدیم به صورت محلول در آب آشامیدنی شهرستان کازرون به همراه رژیم غذایی سالم و طبیعی دریافت می‌کردند.

۳- گروه تیمار با دوز بالا: روزانه مقدار ۳۵۰ میلی‌گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن خود نیتریت سدیم به صورت محلول در آب آشامیدنی شهرستان کازرون به همراه رژیم غذایی سالم و طبیعی دریافت می‌کردند (۲) پس از دوره ۶۰ روزه تیمار، در روز ۶۱ موش‌ها با استفاده از پنبه آغشته به اتر در جار بیهوشی، بیهوش گردیدند. از حیوان بیهوش شده خونگیری به عمل آمد و سرخرگ آئورت را بیرون آورده و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی، برای تهیه مقاطع بافتی در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفتند رنگ‌آمیزی مقاطع بافتی به روش هماتوکسین– ائوزین وماسون تری کروم انجام و تغییرات هیستوپاتولوژیکی بافت سرخرگ مورد بررسی قرار گرفت. جدا سازی سرم صورت گرفت و جهت اندازه‌گیری نیتریک اکساید به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد کازرون ارسال گردید. برای اندازگیری غلظت نیتریک اکساید از کیت MDI 040 Colorimetric Nitric Oxide Assay Kit.:Cod بر مبنای طیف سنجی استفاده شد

نحوه اندازه‌گیری ضخامت لایه مدیا در سرخرگ‌های مختلف

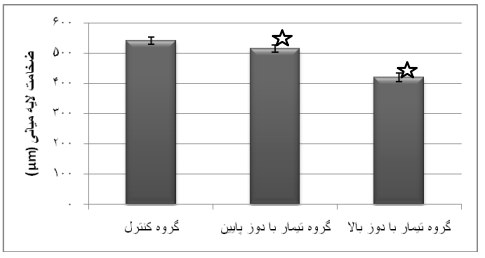
ابتدا برنامه Image tool را بر روی کامپیوتر نصب شده و پس از اتصال میکروسکوپ و کامپیوتر به همدیگر؛ با

استفاده از این برنامه ضخامت لایه مدیا اندازگیری شد. بدین صورت که لام مورد نظر را در زیر میکروسکوپ قرار داده و پس از تنظیم کردن میکروسکوپ، با استفاده از کامپیوتر عکسی از مقطع مورد نظر در سرخرگ‌ها با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ گرفته می‌شد؛ و با استفاده از این نرم‌افزار ضخامت لایه مدیا حداقل در ۵ نقطه بر حسب میکرومتر اندازگیری می‌شد و این کار برای تمام مقاطع بافتی صورت می‌گرفت؛ و داده‌های به دست آمده توسط برنامه SPSS (SPSS Inc، Chicago، Il، USA) ویرایش ۱۷ و با استفاده از تست‌های آماری T-test و ANOVA مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

یافته‌ها

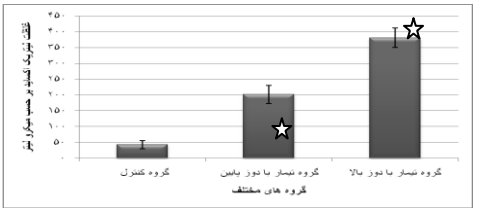
نتایج کمی

ضخامت لایه میانی: لام سرخرگ‌های مورد مطالعه را پس از رنگ‌آمیزی در زیر میکروسکوپ قرار داده و پس از تنظیم کردن میکروسکوپ، با استفاده از کامپیوتر عکسی از مقطع مورد نظر در سرخرگ‌ها با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ و ۴۰۰ گرفته می‌شد؛ و با استفاده از این نرم افزار ضخامت لایه مدیا حداقل در ۵ نقطه برحسب میکرومتر اندازگیری می‌شد. نتایج حاصل از این اندازه‌گیری به این صورت بود که میانگین ضخامت لایه میانی در گروه کنترل ۱۰/۴۵±۵۴۱/۴۲ میکرومتر و در گروه تیمار با دوز پایین (۱۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز)، ۱۱/۷۵±۵۱۴/۱۷ میکرومتر و در گروه تیمار با دوز بالا (۳۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز)، ۱۳/۳۱±۴۱۹/۶۹ میکرومتر می‌باشد، که در گروه تیمار با دوز بالا در مقایسه با گروه کنترل در سطح $p\leq ۰/۰۵$ کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (نمودار ۱).



نمودار ۱) تغییرات کمی ضخامت لایه میانی دیواره سرخرگ آئورت در موش صحرایی نر درپایان آزمایش (روز شصتم). مقادیر بر اساس میانگین±خطای معیار میانگین ($\bar{x}$±SEM) آورده شده‌اند. I نشان دهنده اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های تجربی دریافت کننده نیتریت سدیم (گروه ۲ یا گروه تیمار با دوز پایین نیتریت سدیم و گروه ۳ یا گروه تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم) در مقایسه با گروه کنترل (گروه ۱) در سطح $p\leq ۰/۰۵$ می‌باشد.

میزان نیتریک اکساید: نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بعد از دریافت نیتریت سدیم از طریق آب آشامیدنی با اندازه‌گیری میزان نیتریک اکساید؛ میزان نیتریک اکساید در دو گروه تیمار با دوز پایین و بالا نیتریت سدیم در مقایسه با گروه کنترل، به صورت معناداری در سطح $p\leq ۰/۰۵$ افزایش یافته است میانگین غلظت نیتریک اکساید در گروه کنترل ۱۳/۱۴±۴۲/۱۲ میکرومول بر لیتر و در گروه تیمار با دوز پایین (۱۷۵ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز)، ۲۸/۱۹±۲۰۱/۵۱ میکرومول بر لیتر و در گروه دریافت کننده دوز بالا (۳۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز)، ۳۰/۵۲±۳۸۰/۶۲ میکرومول بر لیتر می‌باشد، که در گروه تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم در مقایسه با گروه کنترل در سطح $p\leq ۰/۰۵$ کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد (نمودار ۲).



نمودار ۲) تغییرات کمی میزان نیتریک اکساید در پایان آزمایش (روز شصتم). مقادیر بر اساس میانگین±خطای معیار میانگین ($\bar{x}$±SEM) آورده شده‌اند. اختلاف معنی‌داری در بین گروه‌های تجربی دریافت نیتریت سدیم (گروه ۲ یا گروه تیمار با دوز پائین نیتریت سدیم و گروه ۳ یا گروه تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم) در مقایسه با گروه کنترل (گروه ۱) در سطح $p\leq ۰/۰۵$ وجود دارد.

نتایج کیفی

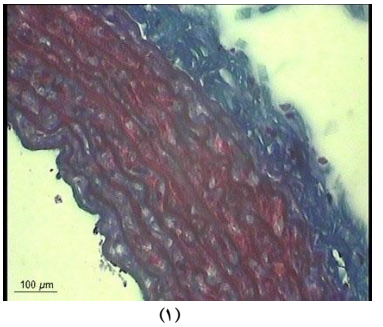
نتایج مربوط به مطالعات هیستولوژی بافت سرخرگ‌های آئورت در زیر میکروسکوپ نوری

فتومیکروگراف نوری مقطعی از سرخرگ آئورت در گروه‌های کنترل، گروه تیمار با دوز پائین (۱۷۵ **میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز**) و تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم (۳۵۰ **میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز**) در پایان آزمایش، روز شصتم را نشان می‌دهد.

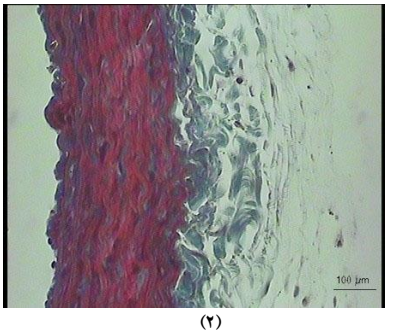
همان‌گونه که در شکل ۱، ۲ و ۴ که مربوط به دو گروه دریافت کننده ۱۷۵میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت سدیم و گروه کنترل است؛ ملاحظه می‌شود ظاهر تمام نواحی لایه مدیا کاملاً منظم، یکنواخت و ضخامت نرمال را داشته ولی در شکل ۳ و ۵ که مربوط به گروه دریافت کننده ۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتریت سدیم می‌باشد ظاهر تمام نواحی لایه مدیا نسبتاً نامنظم، غیریکنواخت بوده و مقادیر زیادی از تجمع لنفوسیت در لایه‌ی انتیما مشاهده می‌شود که نشان دهنده ارتشاح لنفاوی است (شکل ۵).

مطالعات میکروسکوپ نوری بافت سرخرگ آئورت

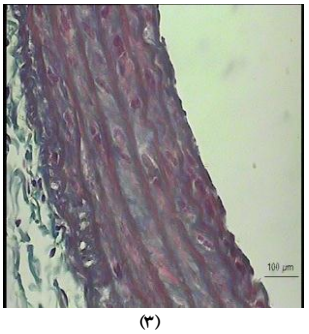
شکل ۱ و ۴ سرخرگ آئورت را در گروه کنترل به ترتیب با رنگ‌آمیزی ماسون تری کروم و هماتوکسیلین ائوزین، شکل ۲ سرخرگ آئورت را در گروه تیمار با دوز پایین (۱۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیتریت سدیم با رنگ‌آمیزی ماسون تری و شکل ۳ و ۵ ضایعات ایجاد شده در سرخرگ آئورت را در گروه تیمار با دوز بالا (۳۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نیتریت سدیم با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ به ترتیب با رنگ‌آمیزی ماسون تری‌کروم و هماتوکسیلین ائوزین نشان می‌دهد.



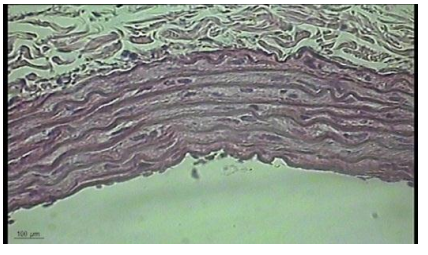
(۱)

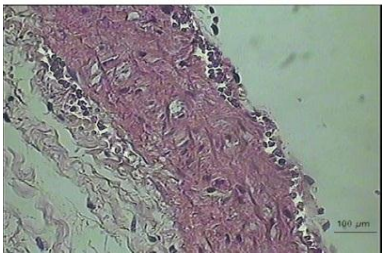


(۲)



(۳)


(۴)



(۵)

بحث

در مطالعه‌ی حاضر در گروه تجربی تیمار شده با نیتریت سدیم به دلیل مصرف نیتریت سدیم در آب آشامیدنی غلظت نیتریک اکساید در سرم افزایش یافته است در حالی که در گروه‌های کنترل غلظت نیتریت در سطح نرمال می‌باشد به‌طوری که باعث ایجاد

تغییرات معنی‌داری در میانگین غلظت پلاسمایی نیتریک اکساید در گروه‌های تیمار شده نسبت به گروه کنترل در پایان آزمایش شده است و میزان نیتریک اکساید در گروه‌های تیمار با دوز پائین و بالای نیتریت سدیم نسبت به گروه کنترل خود به طور معناداری افزایش یافته است ($p\leq ۰/۰۵$) از آنجا که سرعت جذب نیترات و نیتریت توسط دستگاه گوارش، در گونه‌های مختلف جانوران، متفاوت می‌باشد. سرعت جذب در دستگاه گوارش انسان‌ها و موش‌های صحرایی نسبتاً زیاد اما در نشخوارکنندگان سرعت جذب کمتر می‌باشد. نیترات‌ها و نیتریت‌ها در اکثر گونه‌ها از قسمت بالایی روده – شکمبه به خوبی جذب می‌شود و بعد از مصرف یک وعده غذایی سرشار از نیترات سطح این ماده در پلاسما افزایش یافته و تا مدت طولانی در آن حد باقی می‌ماند (نیمه عمر پلاسمایی نیترات ۶–۵ ساعت می‌باشد). علاوه بر این میزان نیتریت پلاسما نیز پس از مصرف نیترات افزایش می‌یابد (۲ و ۵).

در سال ۲۰۰۸، آلوسیک (Alusik) و همکاران به بررسی میزان نیترات و نیتریت خون افراد جوان و مسن پرداختند و سطح نیترات و نیتریت را با شاخص‌های التهابی مرتبط نشان دادند (۱۳). همچنین طبق مطالعات قبلی مصرف نیتریت سدیم به صورت محلول در آب آشامیدنی میزان نیتریت و نیترات در پلاسما، بافت قلب و کبد را افزایش می‌دهد (۱۲).

در مطالعه حاضر نیز میزان نیتریک اکساید در گروه‌های دریافت کننده به طور معنی‌داری افزایش یافته که ناشی از دریافت این ماده از طریق اب آشامیدنی می‌باشد.

اندازگیری ضخامت لایه مدیا (IMT) روش استاندارد برای تشخیص عوامل خطر سیستم قلبی عروقی محسوب می‌شود (۱۶). در این مطالعه ضخامت این لایه مورد بررسی قرار گرفت که میانگین ضخامت لایه مدیا کاهش معناداری را در گروه‌های تیمار شده با دوز بالای نیتریت سدیم نسبت به گروه کنترل در پایان آزمایش نشان می‌داد ($p\leq ۰/۰۵$). مطالعات دیگری نشان می‌دهد که تیمار با نیتریت سدیم باعث تغییری در میزان ضربان قلب در موش صحرایی نمی‌شود و حتی در طی دوران آزمایش تنظیم درجه حرارت بدن به خوبی صورت می‌گیرد (۱۴). همچنین در سال ۲۰۰۹، استوکز (Stokes) و همکاران نشان دادند که مصرف نیتریت با دوز پایین در آب آشامیدنی مانع از چسبندگی لوکوسیت‌ها، باعث مهاجرت آن‌ها و مانع از اختلالات سرخرگی می‌شود. که این در ارتباط با کاهش یافتن اندک میزان tetrahydroprotein و کم شدن پروتئین c-reactive می‌باشد. این داده‌ها خصوصیات جدید ضد التهابی نیتریت را نشان داد ضمناً، نیتریت می‌تواند به عنوان درمان طبیعی برای التهاب میکرو و سکولارها و اختلالات اندوتلیالی وابسته به افزایش کلسترول خون معرفی گردد (۱۲).

همچنین کارل استروم (Carlestrom) و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که نیترات موجود در رژیم غذایی می‌تواند مسیر نیترات – نیتریت –NO را تحریک کند و تا حدی اختلال تولید NO از مسیر Enos داخلی را جبران کند که این روند می‌تواند باعث به وجود آمدن روشی برای تغذیه جدید در درمان یا پیشگیری علیه بیماری قلبی – عروقی یا دیابت نوع دو باشد (۱۵). اما از طرف دیگر NO در دوزهای بالا از طریق ایجاد اختلالات مختلف باعث انحطاط و از بین رفتن سلول‌ها (خصوصاً در سیستم عصبی) می‌شود NO خود نیز می‌تواند اثرات مضری را ایجاد کند (۱۷).

اونو (Ono) و همکاران در سال ۲۰۰۸ گزارش دادند که با استفاده از داروی Candesartan ضخامت لایه میانی سرخرگ کاروتید کاهش می‌یابد وعلت این کاهش را, افزایش میزان NO در بدن توصیف کردند. همچنین در بعضی از شرایط پاتولوژیکی NO و O_2^- به طور همزمان ساخته می‌شود و زمانی که NO و O_2^- به طور خود به خود در کنار همدیگر قرار بگیرند، تولید پروکسی نیتریت افزایش می‌یابد (۱۹). پروکسی نیتریت به طور نسبتاً آهسته با بیشتر مولکول‌های بیولوژیک واکنش داده و به عنوان یک اکسیدکننده انتخابی شناخته شده می‌باشد (۷).

سمیت پروکسی نیتریت از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، نیتروژن‌دار کردن پروتئین‌ها و اکسیداسیون آن‌ها، آسیب از طریق اکسیداتیو DNA، فعال کردن متالو پروتئین‌های ماتریکس و غیرفعال شدن یکسری از آنزیم‌ها به وجود می‌آید. همچنین پروکسی نیتریت در نتیجه آسیب‌های میتوکندریایی، آسیب‌های DNA، فعال‌سازی کاسپازها، اختلال در انتقال سیگنال‌ها، تنظیم نبودن میزان Ca^{2+} سبب مرگ سلولی در کاردیو میوسیت‌ها، و سلول‌های اندو تلیال و عضلات صاف عروق می‌شود (۱۸).

همچنین القا مرگ سلولی در لایه میانی و میتوکندری‌ها توسط نیتریک اکساید و پروکسی نیتریت نیز می‌تواند از عوامل کاهش ضخامت لایه میانی محسوب شود (۸). اما از آنجا که در این مطالعه نیتریت با دوز بالا مورد استفاده بود و میزان NO خون به طور معنی‌دار افزایش یافته است که این افزایش غلظت NO می‌تواند کاهش ضخامت لایه میانی را القا و تأیید کند (۱۹). مطالعات میکروسکوپی بر روی سرخرگ آئورت در گروه تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم (۳۵۰ میلی‌گرم/ کیلوگرم وزن بدن/ روز) حاکی از تغییرات لایه مدیا نسبت به گروه تیمار با دوز پایین نیتریت سدیم و گروه کنترل می‌باشد. بدین صورت که در گروه تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم لایه مدیا نسبتاً نامنظم و حالت غیریکنواخت را نشان می‌دهد و مقادیری از تجمع لنفوسیت در این لایه به وفور یافت می‌شود.

دلیل اصلی آسیب لایه اندوتلیال و ماهیچه‌های صاف عروق، را می‌توان به تولید زیاد پروکسی نیتریت (ONOO) در دیواره عروق نسبت داد (۲۱).

مانین (Maneen) در سال ۲۰۰۶ در مطالعات خود بر روی موش صحرایی نشان داد که پروکسی نیتریت بر روی بافت عضلانی صاف سرخرگ‌های مغزی از طریق دپلیمرازسیون f- اکتین تأثیر می‌گذارد. (۱۱). همچنین قرار گرفتن در معرض سوپر اکسید، پر اکسید هیدروژن، نیتریک اکساید و پروکسی نیتریت نیز به DNA سلول آسیب وارد می‌کند. پروکسی نیتریت در دوزهای مختلف مانع از سنتز پروتئین میتوکندریایی شده در نتیجه سطح ATP و عملکرد اکسیداسیون و احیای میتوکندریایی سلول را کاهش می‌دهد (۲۰).

همچنین زوی (Zou) در سال ۲۰۰۴ در طی تحقیقات خود نشان داده است که تشکیل ONOO در بیماری دیابت ملیتوس باعث شروع و پیشرفت مشکلات عروقی می‌شود و آسیب‌هایی از قبیل اتصال پلاکت‌ها و منوسیت‌ها، ترومبوسیت و آسیب‌های بافتی را به وجود می‌آورند (۲۱). به طور کلی بر اساس مطالعات انجام شده نیتریک اکساید و پروکسی نیتریت به وسیله مکانیسم‌های مختلف بر روی سیستم قلبی و عروقی تأثیر می‌گذارد و باعث ایجاد و راه‌اندازی پروسه‌ی مرگ سلولی می‌شود و آسیب‌هایی از قبیل اتصال پلاکت‌ها و منوسیت‌ها، ترومبوسیت و آسیب‌های بافتی را به وجود آورده و باعث اتساع عروق می‌شود. از آنجا که در این مطالعه میزان نیتریک اکساید خون

در گروه‌های تیمار با دوز پائین و بالای نیتریت سدیم افزایش یافته بود. این حالت غیر یکنواخت لایه مدیا در گروه تیمار با دوز بالای نیتریت سدیم (۳۵۰ میلی‌گرم برکیلوگرم) می‌تواند ناشی از تأثیر نیتریک اکساید و پروکسی نیتریت بر سیستم قلبی و عروقی نسبت داد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که مصرف نیتریت در دوزهای بالا یک فاکتور مضر برای بدن بوده و با کاهش میزان آن و یا جایگزینی این ماده با مواد دیگر می‌توان از اثرات مضر این ماده پرهیز کرد.

References:

1.Forest J, Aberle E, Hedrick H, et al. Principle of MeatScience. 5th ed. English: Kendall Hunt Publishing, 2012, 30-5.
2.Alexander J, Benford D, Cockburn A, et al. Scientific Opinion Nitrite as undesirable substances in animal feed. EFSAJ 2009; 1017: 1-47.
3.Ismail AM, Mostafa AM, Abd El-Rahman. Microscopic Studies of The effect of some food additives on the kidney of albino rat. Egyptian J Hospital Med 2003; 12: 12-27.
4.Nasehinia HR, Mehdinia SM, Ghorbani R, et al. Nitrite concentration in distributed sausage in Semnan Province. Payesh Health Manitor 2008; 7: 3. (Persian)
5.Lundberg JO, Weitzber E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2008; 7: 156-67.
6.Dezfulian C, Raat N, Shiva S, et al. Role of the anion nitrite in ischemia-reperfusion cytoprotection and therapeutics. Cardiovasc Res 2007; 75: 327-38.
7.Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and the ugly. Am J Physiol 1996; 271: C1424-37.
8.Li J, Li W, Su J, et al. Peroxynitrite induces apoptosis in rat aortic smooth muscle cells: possible relation to vascular diseases. Exp Biol Med (Maywood) 2004; 229: 264-9.
9.Alef MJ, Carchman E, Gladwin MT, et al. Dietary nitrates and nitrites modulate vascular intimal hyperplasia. J Ame College Surg 2010; 211: 138-9.
10.Borbély A, Tóth A, Édes I, et al. Peroxynitrite-induced alpha-actinin nitration and contractile alterations in isolated human myocardial cells. Cardiovasc Res 2005; 67: 225-33.
11.Maneen MJ, Hannah R, Vitullo L, et al. Peroxynitrite diminishes myogenic activity and is associated with decreased vascular smooth muscle F-Actin in rat posterior cerebral arteries. Stroke 2006; 37: 894-9.
12.Stokes KY, Dugas TR, Tang Y, et al. Dietary nitrite prevents hypercholesterolemic microvascular inflammation and reverses endothelial dysfunction. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2009; 296: H1281-8.
13.Alusik S, Jedlickova V, Paluch Z, et al. Plasma levels of nitrite/nitrate and inflammation markers in elderly individuals. Bratisl lek Listy 2008; 109: 289-92.
14.Helal E, Zahkak S, Soliman GZA, et al. Biochemical studies on the effect of sodium nitrite and/or glutathione treatment on male rats. Egyp J Hospital Med 2008; 30: 25-38.
15.Carlström M, Persson AEG, Larsson E, et al. Dietary nitrate attenuates oxidative stress, prevents. cardiac and renal injuries, and reduces blood pressure in salt-induced hypertension. Cardiovasc Res 2011; 89: 574-85.
16.Litwin M, Niemirska A. Intima-media thickness measurements in children with cardiovascular risk factors. Pediat Nephrol 2009; 24: 707-19.
17.Meij JT, Haselton CL, Hillman KL, et al. Differential mechanisms of nitric oxide- and peroxynitrite-induced cell death. Mol Pharmacol 2004; 66: 1043-53.
18.Pacher P, Beckman JS, Liaudet L. Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. Physiol Rev 2007; 87: 315-424.
19.Ono H, Minatoguchi S, Watanabe K, et al. Candesartan decreases carotid intima-media thickness by enhancing nitric oxide and decreasing oxidative stress in patients with hypertension. Hyperten Res 2008; 31: 271-9.
20.Ballinger SW, Patterson C, Yan CN, et al. Hydrogen peroxide– and peroxynitrite-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in vascular endothelial and smooth muscle cells. Circ Res 2000; 86: 960-6.
21.Zou MH, Cohen RA, Ullrich V. Peroxynitrite and vascular endothelial dysfunction in diabetes mellitus. Endothelium 2004; 11: 89-97.

ISMJ 2016;19(2): 225-233

Original Article

Survey the effects of dietary sodium nitrite on the histological changes of the aortic artery in the adult male rats

S. Khatamsaz [1*], F. Juibar [2]

[1] Department of Biology, Kazerun Branch , Islamic Azad University, Kazerun, Iran

[2] Young Researchers and Elite Club, Kazerun Branch, Islamic Azad University, Kazerun, Iran

(Received 21 Nov, 2014 Accepted 17 May, 2015)

Abstract

Background: Because of high consumption of nitrite in processed (fast) foods and high level of nitrite in water, soil and ecosystem, nitrite can endanger humans health. In this study the effects of sodium nitrite on aorta was examined in adult male rats.

Materials and Methods : In the present study, 30 Wistar adult male rats were randomly divided into three groups of 10, including; control group. First experimental group that received low dose of sodium nitrite (175 mg/kg.bw), second experimental group that received high dose of sodium nitrite (350 mg/kg.bw). They were examined for 60 days. The rats got sodium nitrite through drinking water. At the end of the experiment the rats were taken to the anesthesia jar and based on ether principles, they anesthetized with ether and their blood samples were collected from their hearts. Then their aorta were extracted from their bodies and the tissue sections were prepared for testing tissue changes. Features such as histological features of aorta (morphometric and morphologic features) were analyzed. The samples were stained with masson trichrome and Hematoxylin- Eosin methods. The internal media layer was measured with Image tool software. Then the amount of nitrite oxide in their blood were tested. At the end results were analyzed by 17 version of SPSS software and ANOVA test was run.

Results: The results of this study showed that thickness of medial layer in two experimental group that received low and high dose of sodium nitrite compared with the control group decreased (p 0.05), and the group that received of high dose of sodium nitrite showed irregular and non- uniform state in aortic media layer.

Conclusion: The finding of this study indicated that consumption of sodium nitrite in long term can induce damage in artries tissue**.**

Key words: sodium nitrite, aorta artery, rats, nitric oxide

*****Address for correspondence*: Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic azad university Kazeroon branch, Kazeroon, Iran, Email: saeed1617@yahoo.com