

## تعدیل اثر یون مس بر غلظت کاتکولامین های هیپوتالاموس مغز رات بوسیله ویتامین C

منوچهر مصری پور (PhD)\*

\*- استاد گروه بیوشیمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

### چکیده

• **زمینه و هدف:** مطالعات انجام شده حاکی از آن است، آنزیم دوپامین بتاهیدروکسی لاز باعث تبدیل دوپامین به نور آدرنالین در مغز می شود، از سوی دیگر مشخص شده است عنصر مس بعنوان کوآنزیم برای این آنزیم ایفای نقش می نماید. از آنجا که ویتامین C در جذب یون مس توسط بافتهای مختلف بدن نقش دارد این مطالعه به بررسی نقش ویتامین C بر اثر یون مس و غلظت کاتکولامین هیپوتالاموس مغز رات می پردازد.

• **مواد و روشها:** در این بررسی اثر تجویز مقادیر مختلف یون مس ( $Cu^{++}$ ) و ویتامین C بر غلظت دوپامین و نوراپی نفرین هیپوتالاموس جدا شده از مغز رات مورد آزمایش قرار گرفته است. و سپس داده های به دست آمده به وسیله آزمون آماری ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

• **یافته ها:** تجویز محلول سولفات مس با دوزهای ۳، ۵ و ۱۰ میلی گرم یون مس به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث کاهش غلظت نوراپی نفرین و افزایش غلظت دوپامین هیپوتالاموس جدا شده از بافت مغز گردید. تغییرات رفتاری مشاهده شده در این حیوانات عبارت بود از: فلج دست و پا، افتادگی سر و خواب آلودگی که تقریباً ۱۵ دقیقه بعد از تزریق یون مس شروع شده بود. تجویز یون مس با دوز ۱/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن حیوان برای مدت ۴ هفته تاثیر قابل ملاحظه ای بر میزان کاتکولامین های هیپوتالاموس نداشت. تزریق ویتامین C با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن باعث افزایش غلظت نوراپی نفرین و کاهش غلظت دوپامین در هیپوتالاموس گردید. افزایش میزان دوز ویتامین C با غلظت کاتکولامین های اندازه گیری شده به صورت خطی هماهنگ نبود و دوز بیشتر از ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم، تغییری در میزان کاتکولامین ها ایجاد نکرد؛ همچنین با تزریق مس و ویتامین C با هم، تغییر قابل ملاحظه ای در غلظت کاتکولامین های هیپوتالاموس مشاهده نشد.

• **نتیجه گیری:** احتمالاً ویتامین C با احیا نمودن یون مس دو ظرفیتی ( $Cu^{++}$ ) به یون مس یک ظرفیتی ( $Cu^{+}$ ) می تواند در نقش یون مس بر سنتز و ذخیره سازی کاتکولامین های هیپوتالاموس مداخله نماید. یافته های این بررسی نشان می دهد که با تجویز ویتامین C می توان قسمتی از اثرات زیان آور تراکم یون مس را در مغز کاهش داد.

• **کلید واژه ها:** کاتکولامین، دوپامین، نوراپی نفرین، یون مس، ویتامین C.

پذیرش مقاله: ۸۴/۴/۲۰

اصلاح نهایی: ۸۴/۳/۲۵

وصول مقاله: ۸۴/۱/۲۸

نویسنده مسئول: اصفهان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، ص پ: ۱۵۸-۸۱۵۹۵، تلفن: ۰۳۱۱-۵۲۱۱۲۲۹

همراه: ۰۹۱۳۱۱۴۹۷۷۹

Email: [m\\_mwssripour@yahoo.com](mailto:m_mwssripour@yahoo.com)

## • مقدمه

شد. غذای حیوانات از نوع پلت استاندارد حاوی گندم، جو، کتک، پودر ماهی و ویتامین های مورد نیاز بود که در کارخانه فراورده های غذایی و دامی تهیه شده بود. آب و غذای کافی همیشه در دسترس حیوانات قرار داشت. حیوانات در چهار گروه جداگانه نگهداری شدند. گروه اول به چهار زیر گروه تقسیم شدند. در هر زیر گروه ۶ حیوان مورد آزمایش قرار داده شد و محلول سولفات مس تهیه شده در سرم فیزیولوژی با دوزهای ۱/۵، ۳، ۵ و ۱۰ میلی گرم یون مس به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی (IP) دریافت نمودند. گروه دوم نیز چهار زیر گروه (۶ حیوان در هر زیر گروه) داشت که به آنها محلول ویتامین C تهیه شده در سرم فیزیولوژی با دوزهای ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم به ازای یک کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید.

گروه سوم به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد و هنگام تزریق، محلول سرم فیزیولوژی دریافت کردند. گروه چهارم، به منظور بررسی تأثیر متقابل یون مس و ویتامین C مورد آزمایش قرار داده شدند و به آنها بر اساس دوزهای موثر یون مس و ویتامین C نتایج حاصل از گروههای اول و دوم محلول سولفات مس با دوز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق گردید و ده دقیقه بعد محلول ویتامین C با دوز ۵۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تزریق شد. با توجه به اینکه بیشترین غلظت یون مس و ویتامین C در هیپوتالاموس، ۲۰ یا ۶۰ دقیقه پس از تزریق مشاهده شد (جدول ۱)، آزمایشات طوری تنظیم گردید که کلیه حیوانات ۲۰ دقیقه پس از تزریق قبل از ساعت ۹/۳۰ دقیقه صبح کشته شوند. کشتن حیوانات، به سرعت و با گیوتین انجام گرفت و پس از آن بلافاصله سر حیوان روی یخ قرار داده شد و پس از خارج کردن مغز از جمجمه، هیپوتالاموس روی پلیت شیشه ای قرار داده شده روی یخ بر اساس متد Clowinski and Iversen (۱۱) جدا گردید و در محلول پرکلرات (۰/۴ ملار) سرد شده روی یخ قرار داده شد. پس از وزن کردن دقیق بافت و هموژنیزه کردن آن در محلول پرکلرات، دوپامین و نور اپی نفرین بر اساس متد Taylor (۱۲)

عنصر مس (Cu) یکی از عناصر کمیاب (Trace elements) است و به صورت ریشه پروستتیک تعدادی از پروتئینها نقش مهمی در فعالیت های متابولیسمی بدن ایفا می کند (۱). این عنصر، کوآنزیم تعدادی از آنزیم های بدن از جمله آنزیم دوپامین بتاهیدروکسیلاز است که یکی از آنزیم های کنترل کننده مسیر سنتز کاتکولامین ها شناخته شده است (۲). اگرچه کاهش عنصر مس ممکن است منجر به کاهش سنتز نوراپی نفرین در مغز گردد (۳)، در تعدادی از بیماریهای اعصاب و روان افزایش یون مس در خون و مغز بیماران مشاهده شده است. آثار زیان آور تراکم یون مس بطور گسترده ای بویژه در بیماری ویلسون مشاهده شده است. در این بیماری به علت تراکم زیاد یون مس در هسته های قاعده ای مغز Basal (ganglia)، اختلالات حرکتی و شناختی گزارش شده است (۴، ۵). علاوه بر این گزارشاتی در مورد افزایش یون مس در بیماریهای پارکینسون، آلزایمر، اوتیسم و شیزوفرنی نیز انتشار یافته است (۷، ۶). نتایج حاصل از آزمایش های انجام شده روی حیوانات آزمایشگاهی و انسان حاکی از آن است که غلظت یون مس در بافتهای مختلف بدن تحت تاثیر ویتامین C تغییر می یابد (۸-۱۰). از آنجا که هسته های هیپوتالاموس مغز، یکی از مراکز مهم تجمع نرونهای ذخیره کننده کاتکولامین ها در مغز به شمار می روند و اطلاعات کمی در مورد تاثیر تراکم یون مس و ویتامین C بر میزان کاتکولامین ها در این قسمت از مغز قابل دسترسی بود، در این بررسی اثر ویتامین C بر غلظت یون مس بر میزان دوپامین و نوراپی نفرین در هیپوتالاموس جدا شده از مغز موشهای سفید آزمایشگاهی (رات) مورد مطالعه قرار داده شده است.

## • مواد و روشها

موشهای نر آزمایشگاهی (Rat) از نژاد Wistar با وزن ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم برای انجام آزمایشات این مطالعه به کار برده شدند. درجه حرارت محل نگهداری حیوانات بین ۲۲ - ۲۰ درجه سانتی گراد تنظیم

برابر  $0/34 \pm 3/11$  و  $1/73 \pm 15/92$  نانومول در یک گرم بافت بود. تغییرات ناشی از تزریق مقادیر مختلف یون مس بر میزان نوراپی نفرین و دوپامین در هیپوتالاموس رات های مورد آزمایش در شکلهای ۲ و ۱ نشان داده شده است. تزریق دوزهای بیش از ۲ میلی گرم یون مس به ازاء یک کیلوگرم وزن بدن حیوان موجب کاهش قابل ملاحظه نوراپی نفرین (شکل ۱) و افزایش دوپامین (شکل ۲) در هیپوتالاموس گردید. تاثیرات ویتامین C بر کاتکولامین های هیپوتالاموس کاملاً عکس تغییرات مشاهده شده در مورد یون مس بود (شکلهای ۳ و ۴)، بطوری که ویتامین C موجب افزایش نوراپی نفرین (شکل ۲) و کاهش دوپامین (شکل ۴) در هیپوتالاموس شد. حداکثر تغییرات، ۲۰ دقیقه پس از تزریق سولفات مس و ویتامین C مشاهده شد و پس از ۶۰ دقیقه تعدیل گردید (شکلهای ۱ تا ۴). تزریق یون مس با دوز  $1/5$  میلی گرم به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن برای مدت ۴ هفته تغییری در میزان کاتکولامین های بافت مورد آزمایش ایجاد نکرد. در آزمایش هایی که حیوانات یون مس (۵ میلی گرم به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن) و محلول ویتامین C (۵۰۰ میلی گرم به ازاء هر کیلو گرم وزن بدن) را با هم دریافت کردند، تغییرات ناچیزی در میزان نوراپی نفرین و دوپامین هیپوتالاموس در مقایسه با غلظت این نورترانسسمیترها در گروه شاهد مشاهده شد. غلظت نوراپی نفرین و دوپامین در هیپوتالاموس این گروه به ترتیب برابر  $0/44 \pm 11/09$  و  $0/17 \pm 1/94$  نانومول در هر گرم بافت اندازه گیری شد که از نظر آماری با  $p > 0/1$  تفاوت با گروه شاهد نداشت. تغییر رفتاری قابل ملاحظه ای نیز در این گروه مشاهده نشد.

جدول ۱: غلظت کاتیون مس و ویتامین C در هیپوتالاموس پس از تزریق محلولهای سولفات مس و ویتامین C

ویتامین C		آزمایش
غلظت یون مس میکروگرم در یک گرم بافت	غلظت ویتامین C میکروگرم در یک گرم بافت	
$4/78 \pm 0/28$	$4/78 \pm 0/28$	قبل از تزریق یون مس و با ویتامین C
$16/21 \pm 0/16^{**}$	$982 \pm 0/155^*$	۲۰ دقیقه پس از تزریق یون مس و با ویتامین C
$9/2 \pm 0/59^*$	$742 \pm 27$	۶۰ دقیقه پس از تزریق

استخراج و با استفاده از دستگاه اسپکتر و فلوریمتر اندازه گیری گردید. غلظت یون مس با روش اتمیک ابزوربش اسپکتروفتومتری و ویتامین C بر اساس متد Jagola and Dani (۱۳) با استفاده از معرف فولین سیالکالتو اندازه گیری شد. سپس کلیه داده ها به رایانه وارد و با برنامه آماری SPSS تحت Windows با استفاده از آزمون آماری ANOVA مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

### • یافته ها

جدول ۱ غلظت یون مس و ویتامین C اندازه گیری شده در هیپوتالاموس رات های دریافت کننده سولفات مس ( $5 \text{ mg/kg}$ ) را  $20$  و  $60$  دقیقه پس از تزریق نشان می دهد. غلظت یون مس در هیپوتالاموس رات های گروه شاهد  $4/78 \pm 0/28$  میلی گرم در یک گرم بافت بود که  $20$  دقیقه پس از تزریق سولفات مس بطور قابل توجهی افزایش یافت و به حدود  $2/5$  برابر مقدار آن در مقایسه با گروه شاهد رسید، ولی پس از  $60$  دقیقه، از میزان تراکم یون مس در بافت مورد آزمایش کاسته شد و به  $2$  برابر مقدار آن در مقایسه با گروه شاهد رسید. تغییرات رفتاری حیوانات دریافت کننده یون مس عبارت بود از فلج دست و پا، افتادگی سر و خواب آلودگی که تقریباً  $15$  دقیقه بعد از تزریق محلول سولفات مس شروع شد. تغییرات رفتاری با مقدار دوز سولفات مس تزریق شده هماهنگ بود. تغییرات غلظت ویتامین C در هیپوتالاموس موشهای دریافت کننده این ویتامین شبیه تغییرات مشاهده شده در حیوانات دریافت کننده یون مس بود. غلظت ویتامین C در گروه شاهد  $982 \pm 55$  و  $742 \pm 27$  میکروگرم در یک گرم بافت محاسبه شد، که  $20$  و  $60$  دقیقه پس از تزریق ویتامین C به ترتیب به  $1621 \pm 166^{**}$  و  $982 \pm 155^*$  میکروگرم ویتامین C در یک گرم بافت تغییر یافت (جدول ۱). در حیوانات دریافت کننده ویتامین C تغییرات رفتاری ویژه ای مشاهده نشد.

میانگین غلظت دوپامین و نوراپی نفرین در هیپوتالاموس مغز رات های گروه شاهد، به ترتیب

را به عنوان مدل حیوانی بیماری شیزوفرنی معرفی نمود. از طرفی با تجویز ویتامین C غلظت نوراپی نفرین افزایش و غلظت دوپامین کاهش یافته است بدون اینکه تغییراتی در رفتار حیوانات مشاهده شود. همچنین در حیواناتی که یون مس و ویتامین C را با هم دریافت نمودند، تغییر قابل ملاحظه ای در میزان کاتکولامین های هیپوتالاموس مشاهده نشد. به نظر می رسد که ویتامین C می تواند اثرات سوء افزایش مس در مغز را کاهش دهد. تحقیقات منتشر شده نشان میدهد که یون مس فقط به صورت دو ظرفیتی ( $Cu^{++}$ ) می تواند از سد خونی مغز (Blood Brain Barrier) عبور نماید و چون ویتامین C یک احیا کننده قوی به شمار می رود، می تواند یون مس دو ظرفیتی را احیاء نموده و آن را به شکل یک ظرفیتی ( $Cu^{+}$ ) تبدیل نماید. (۱۶) با این حال پیشنهاد می شود در یک بررسی، اثرات ویتامین C بر تراکم یون مس در هسته های مختلف مغز مورد اندازه گیری قرار داده شود تا بتوان بطور مستقیم اثرات این ویتامین را بر سیستم های نورترانسسمیتری مغز ارزیابی نمود.

بر اساس یافته های این پژوهش، چون تزریق ویتامین C مانع اثر یون مس بر غلظت کاتکولامین ها می شود، به نظر می رسد که تجویز ویتامین C بتواند قسمتی از اثرات زیان آور تراکم یون مس در مغز بیماران مبتلا به شیزوفرنی را کاهش داد.

غلظت یون مس و ویتامین C قبل از تزریق - ۲۰ و ۶۰ دقیقه پس از تزریق محلولهای سولفات مس و ویتامین C اندازه گیری گردید. در هر گروه ۶ رات مورد آزمایش قرار داده شدند.  
\* تغییرات با  $P < ۰/۰۵$  و \*\* با  $P < ۰/۰۵$  از نظر آماری با معنی است.

### • بحث و نتیجه گیری

نتایج ارائه شده در تحقیق حاضر نشانگر آن است که هنگامی که یون مس در هیپوتالاموس مغز افزایش یابد، می تواند بر غلظت کاتکولامین های این ناحیه از مغز اثر بگذارد. هیپوتالاموس، ناحیه ای از مغز است که با تراکم نرون های کاتکولامینرژیک، نقش مهمی در کنترل فعالیت های رفتاری، حرکتی و هورمونی بدن به عهده دارد. افزایش یون مس در هیپوتالاموس منجر به تغییراتی در غلظت کاتکولامین ها این ناحیه از مغز شد که با تغییرات رفتاری حیوانات همراه بود. افزایش دوپامین و کاهش نوراپی نفرین در هیپوتالاموس موشهای دریافت کننده یون مس شباهت به تغییرات گزارش شده در میزان کاتکولامین های مغز بیماران مبتلا به شیزوفرنی دارد که پس از مرگ اندازه گیری شده است (۱۴، ۱۵). از آنجا که افزایش یون مس در مغز و خون این بیماران نیز گزارش شده است (۱۶)، به نظر میرسد که بتوان حیوانات دریافت کننده یون مس

### منابع

1. Marey PA, Nutrition, digestion and adsorption. In; Harper's Biochemistry: Muryyy RK, Granner DK, Mayer PA, and Rodwell VW, California, 1988: pp 571-588.
2. Lander J, Austin L, Subcellular distribution of dopamine beta hydroxylase and inhibitors in the hippocampus and caudate nucleus in sheep brain. J. Neurochem. 1976: 26, 661-673.
3. Morgan RF, O'Dell BI, Effect of copper deficiency on the concentration of catecholaminé and related enzymes activities in the rat brain. J Neurochem. 1976: 28, 207- 213.
4. Gronlund J, Nanto-Salonen K, Venetoklis J, Holmberg RL, Heinonen A, Stahlberg MR Poor cognitive development and abdominal pain: Wilson's disease. Scand J Gastroenterol. 2006: 41(3), 361-364.
5. Kitzberger R, Madl C, Ferenci P. Wilson disease. Metab Brain Dis. 2005: Dec;20(4):295-302.

6. Lovell MA, Robertson JD, Teesdale MI, Campbell JL, Markesbery WR, Copper and zinc in Alzheimer's disease senile plaques, *J. Neural Sci*, 1998: 158, 47-52.
7. Mortazavi SM, Ani M, Mesripour M, Mozafari MR, Distribution of divalent zinc and copper ions in the rat brain synaptosomes; Influence of calcium deficiency and depolarization., *Cell. Mol. Biol. Lett*, 2004: 9 No. 4, 4-6.
8. Milne DB, Omaye ST, Effect of vitamin C. on copper and iron metabolism in the guinea pig. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* 1980: 50, 301-308.
9. Milne DB, Omaye ST, Amos Jr.WH. Effect of ascorbic acid on copper and cholesterol in adult cynomolgus monkeys fed a diet marginal in copper, *Am. J Clin. Nutr.* 1981, 43, 2389-
10. Finley EB, Cerklowski FL, Influence of ascorbic acid supplementation on copper status in young adult man., *Am. J Clin. Nutr.* 1983, 37, 553-556.
11. Glowinski J, Iversen LL, Catecholamines in rat brain. 1- Disposition of norepinefrine, dopamine and dopa in various regions of rat brain. *J Neurochem.* 1966, 13, 655-669.
12. Taylor Km, Classical fluorimetry, In; *The neurobiology of dopamine* , Eds Horn D. Academic press, New York, 1979: pp.31-40.
13. Jagota SK, Dani HM, A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folinphenol reagent *Anal. Biochem*, 1982: 127, 178-182.
14. Bird ED, Iversen LL. Increased dopamine concentration in limbic areas of brain from patients dying from schizophrenia. *J. Brain* 1979: 102, 347-360.
15. Crow TJ, Cross AJ, Johnson J. Catecholamines and schizophrenia; an assessment of the evidence. *Neural. Neurobiol.* 1984: 8c, 11-12.
16. Pefeiffer CC, Iliev V, In; *Zinc and copper. A study of zinc deficiency and copper excess in the schizophrenia.* , In *Neurobiology of trace elements* ; Eds. Pefeiffer CC. Iliev V. Academic press, New York, 1972: pp.114-165 .

پژوهشگاه علوم انسانی و مطالعات فرهنگی  
پرتال جامع علوم انسانی