

اثر ویتامین C بر التهاب القا شده توسط فرمالین در موش صحرایی

ندا موحد اول^۱، دکتر مسعود فریدونی^۲

fereidoni@um.ac.ir

نویسنده‌ی مسوول: مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، دانشکده‌ی علوم، گروه زیست شناسی

دریافت: ۹۲/۱۰/۴ پذیرش: ۹۳/۶/۸

چکیده

زمینه و هدف: ویتامین C یا آسکوربیک اسید یک عنصر غذایی ضروری است که دارای اثرات محافظتی نوروئی بوده و موجب کاهش فعالیت آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ و کاهش سنتز پروستاگلاندین‌ها می‌گردد. بنابراین قابل فرض است که آسکوربیک اسید فرآیند ادم التهابی را کاهش دهد، به‌منظور بررسی این فرضیه از مدل ادم التهابی القاء شده توسط فرمالین در پای موش صحرایی استفاده گردید.

روش بررسی: از ۵۶ موش‌های صحرایی ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرمی نر بالغ نژاد ویستار استفاده شد. گروه‌های رت، شامل سالین داخل پری‌توئن (IP)، سالین داخل نخاعی (intrathecal; IT)، آسکوربیک اسید IP (با غلظت‌های ۲۰۰، ۱۰۰، ۱۰، ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) و آسکوربیک اسید IT (۲٪ میلی‌گرم در ۱۰ میکرولیتر) در فرم معمول و خنثی شده بودند. نیم ساعت پس از تجویز IP و ۵ دقیقه پس از تجویز IT، ۰/۰۵ میلی‌لیتر فرمالین ۲/۵ درصد به کف پای چپ حیوان تزریق شد. حجم ادم از تفاضل حجم اندازه‌گیری شده پا به روش پلتیسمومتری قبل از تزریقات، از حجم همان پا یک ساعت پس از تزریق فرمالین، محاسبه گردید.

یافته‌ها: تجویز داخل صفاقی دزهای ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ($P < ۰/۰۵$)، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ($P < ۰/۰۰۱$) و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم ($P < ۰/۰۱$) آسکوربیک اسید و همچنین تجویز نخاعی غلظت (۲٪ میلی‌گرم در ۱۰ میکرولیتر) آسکوربیک اسید در هر دو وضعیت معمول و خنثی شده ($P < ۰/۰۰۱$) موجب کاهش معنی‌دار ادم التهابی شدند.

نتیجه‌گیری: اثرات ویتامین C در کاهش میزان ادم التهابی قابل ملاحظه بود. این اثرات احتمالاً وابسته به دوز و مستقل از حالت اسیدی آن می‌باشند.

واژگان کلیدی: آسکوربیک اسید، التهاب، تجویز داخل صفاقی، تجویز نخاعی، فرمالین

مقدمه

التهاب وجود پراکسیدهای چربی و گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species - ROS) می‌باشد. شواهد موجود، نقش مهم اکسیدان‌ها را در ایجاد التهاب به خوبی نشان می‌دهند، در نتیجه اثرات آنتی اکسیدان‌ها از جمله آسکوربیک اسید به‌عنوان یک آنتی اکسیدان مهم در بهبود این قبیل بیماری‌ها حایز اهمیت می‌باشد (۱ و ۲). آسکوربیک اسید

التهاب، پاسخ زیستی پیچیده‌ای از بافت‌های خونی است که در اثر مواجهه با محرک‌های مضر مانند پاتوژن‌ها، سلول‌های آسیب دیده و یا حساسیت به وجود می‌آید. بدون فرآیند التهاب، زخم‌ها و عفونت‌ها هرگز بهبود پیدا نخواهند کرد و در طول زمان، آسیب‌های پیش‌رونده به بافت‌ها، بقای ارگانیسم را به خطر خواهند انداخت. یکی از دلایل ایجاد

۱- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- دکترای تخصصی فیزیولوژی، دانشیار دانشکده‌ی علوم، دانشگاه فردوسی مشهد

موجب کاهش تورم شده در حالی که اعمال آن قبل از ایجاد زخم اثری نخواهد داشت (۸)، از طرفی مصرف خوراکی روزانه آسکوربیک اسید در بیمارانی که تحت عمل جراحی قلبی ریوی قرار گرفته‌اند، موجب کاهش التهاب ناشی از جراحی شده است (۹)، یکی از بیماری‌های التهابی شایع که در افراد سیگاری مشاهده می‌شود بیماری‌های تنفسی مزمن است. این بیماری‌ها ناشی از دود سیگارهایی است که حاوی مواد شیمیایی سمی است و همراه تمام این بیماری‌ها علایمی از التهاب مشهود است. مطالعات نشان داده است که مصرف آسکوربیک اسید تا حدی از این التهاب‌های ایجاد شده می‌کاهد (۱۱ و ۱۰).

با توجه به مطالعات پیشین انجام شده بر اثرات ضد التهابی و همچنین نوروپروتکتیو آسکوربیک اسید و اهمیت فراوان این ماده به‌عنوان یک عنصر غذایی مهم و قابل ورود به سیستم عصبی مرکزی (۱۲)، بر آن شدیم تا اثرات آسکوربیک اسید را طی تجویز داخل صفاقی و همچنین تجویز نخاعی به‌عنوان بخشی از سیستم عصبی مرکزی که در تشدید التهاب محیطی خصوصا در محل القای درد اهمیت دارد (۱۳)، بر فرآیند ادم التهابی بررسی کنیم، همچنین با توجه به اینکه یکی از خواص آسکوربیک اسید، اسیدیته‌ی بالای (۳~pH) آن است (۸)، در این مطالعه به‌منظور حذف این خاصیت و اثرات احتمالی ناشی از آن بر التهاب، سعی در از بین بردن خاصیت اسیدی آن و متعاقبا بررسی اثرات بیشتر آسکوربیک اسید بر ادم التهابی داشته‌ایم. بدین‌منظور از مدل ادم التهابی القا شده توسط فرمالین در پای موش صحرایی استفاده گردید.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی تجربی از موش‌های صحرایی نر بالغ، نژاد ویستار با وزن ۲۰۰ تا ۲۵۰ گرم استفاده گردید. موش‌ها در شرایط روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته در قفس‌هایی از جنس Plexy Glass و در درجه‌ی حرارت 22 ± 2 درجه‌ی

یک قند با وزن مولکولی ۱۷۶/۱۳ دالتون است که در محلول‌های آبی، یک فاکتور احیا کننده‌ی بسیار قوی می‌باشد (۳). مطالعات بسیاری اثرات ضد التهابی آسکوربیک اسید را نشان می‌دهند. بررسی‌های انجام شده حاکی از آن می‌باشند که آسکوربیک اسید یکی از آنتی‌اکسیدان‌هایی است که نقش حفاظتی در برابر التهاب بافت چشم ایفا می‌کند (۴) و همچنین قادر است از اثرات سوء ناشی از اشعه ماوراءبنفش بر روی قرنیه‌ی چشم نیز جلوگیری کند (۵) همچنین مطالعات انجام شده بر خوکچه‌های هندی و انسان نشان می‌دهند، کاهش میزان آسکوربیک اسید موجب افزایش هیستامین موجود در خون آن‌ها شده به‌طوری‌که با مصرف خوراکی آسکوربیک اسید میزان هیستامین کاهش پیدا کرده و به سطح طبیعی نزدیک می‌شود. از طرفی هیستامین موجب گشادی رگ‌ها و بروز التهاب می‌شود که در مبتلایان به بیماری اسکورو (Scurvy) نیز قابل رویت است؛ تصادفی نبودن این تشابهات کاملا مشهود می‌باشد. بنابراین ممکن است اسکورو تا حدی به دلیل مسمومیت هیستامینی ایجاد شود (۶). همچنین شواهد بسیاری نشان می‌دهند التهاب و استرس اکسیداتیو طی بیماری‌های نورودژنراتیو همچون آلزایمر و پارکینسون و ... در مرگ نورون‌ها شرکت دارند. فرآیندهای التهابی در نورودژنره شدن، با دخالت و آزاد سازی سائتوکاین‌های پیش التهابی، ROS، نیتریک اکساید و پروستاگلاندین‌ها انجام می‌گیرد. پروستاگلاندین‌ها توسط عمل آنزیمی سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase - COX) تولید می‌شوند. COX-2 در بسیاری از سلول‌ها مانند مونوسیت‌ها و ماکروفاژها پس از تحریک التهابی بیان می‌شوند، تولید پروستاگلاندین‌ها و القای COX-2 منجر به آبخاری از واکنش‌های التهابی می‌گردد. اثرات نوروپروتکتیو آسکوربیک اسید به توانایی آن در کاهش فعالیت COX-2 و سنتز PGE2 (Prostaglandin E2) بستگی دارد (۷). علاوه بر آن تجویز غلظت‌های بالای آسکوربیک اسید پس از زخم

سانتی گراد و رطوبت مناسب نگهداری شده و آب و غذا را به صورت آزادانه دریافت کردند. آن‌ها چند روز قبل از انجام آزمایش‌ها، برای تطابق با محیط در فضای آزمایشگاه قرار می‌گرفتند و تنها برای انجام آزمایش‌ها بین ساعت ۱۰ صبح تا ۲ بعدازظهر از قفس خارج و سپس دوباره به محل خود برگردانده می‌شدند. کلیه‌ی مراحل تکثیر و پرورش موش‌ها در حیوان‌خانه و انجام آزمایش‌ها در آزمایشگاه تحقیقاتی فیزیولوژی جانوری گروه زیست‌شناسی دانشکده‌ی علوم دانشگاه فردوسی انجام گرفت. تمامی عملیات آزمایشگاهی روی حیوانات با رعایت مقررات بین‌المللی اخلاق و حمایت از حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت (۱۴). برای انجام آزمایش‌ها، موش‌ها به‌طور تصادفی در ۸ گروه هفت‌تایی قرار گرفتند. گروه‌ها شامل گروه دریافت‌کننده‌ی سالین (i.p)، گروه‌های دریافت‌کننده‌ی آسکوربیک اسید (pH~3) با دوزهای ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم (i.p)، ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (i.p)، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (i.p) و ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم (i.p)، گروه دریافت‌کننده‌ی سالین (i.t)، گروه دریافت‌کننده‌ی آسکوربیک اسید با غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در ۱۰ میکرولیتر (i.t) و گروه دریافت‌کننده‌ی آسکوربیک اسید، ۰/۰۲ میلی‌گرم در ۱۰ میکرولیتر خنثی شده (i.t) بودند (۱۵). در این آزمایش از پودر ویتامین C (تولید شده در شرکت داروسازی اسوه، تهران) و از سالین برای حل کردن و از محلول هیدروکسید سدیم یا سود سوزآور (NaOH) ۰/۱ درصد برای خنثی کردن حالت اسیدی آن طی انجام عمل تیتراسیون (pH~7) استفاده گردید (۱۶). میزان غلظت استفاده شده در تجویز نخاعی، از دوزی از آسکوربیک اسید که مطلوب‌ترین اثر را در کاهش حجم ادم التهابی در مقایسه با دیگر دوزهای آزمایش شده طی تجویزهای داخل صفاقی دارا بود، معادل سازی شد. بدین‌منظور بخش کمری نخاع موش صحرایی بیرون آورده و توزین گردید و وزن این قسمت به‌همراه مایعات همراه آن تقریباً ۰/۲ میلی‌گرم در نظر

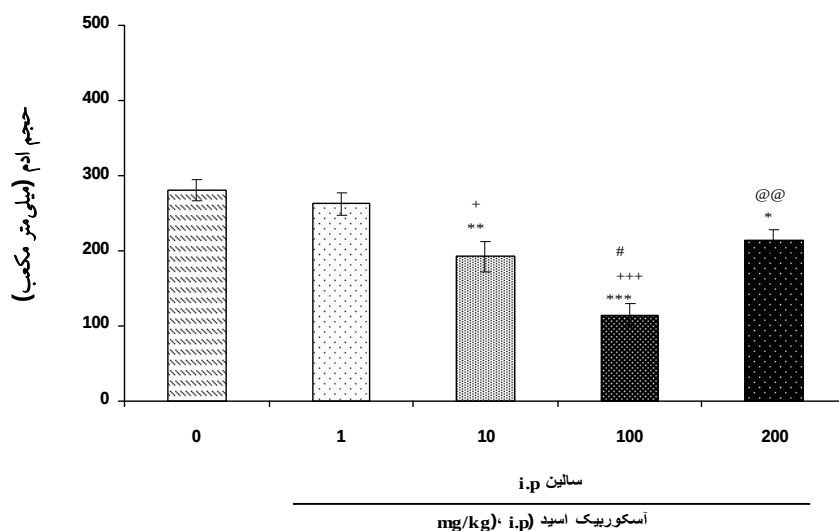
گرفته شد و غلظت مورد استفاده محاسبه گردید. ضمناً برای اطمینان از بی‌اثر بودن عمل جراحی جهت تجویز نخاعی در روند آزمایش و نتایج حاصله، یک گروه کنترل نیز در نظر گرفته شد که در آن، موش‌ها عمل جراحی نشده و همچنین تیماری دریافت نکردند، سپس کلیه‌ی مراحل، مشابه سایر گروه‌ها بر روی آن‌ها انجام گردید. به‌منظور تجویز نخاعی از تکنیک کانول گذاری در فضای تحت عنکبوتیه‌ی نخاع استفاده شد (۱۷). ابتدا موش‌ها با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و زایلازین (۲۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) بیهوش شدند سپس سر حیوان در دستگاه استریوتاکس ثابت شده و یک برش کوچک به طول ۲ سانتی‌متر از بین گوش‌ها به‌طرف پایین ایجاد و عضلات گردنی به آرامی از روی تیغه‌ی اکسی پیتال جمجمه آزاد شدند. به دنبال آن وسط غشای اطلس - اکسی پیتال سوراخ کوچکی ایجاد گردید و مایع مغزی نخاعی خارج شد که موید دسترسی به فضای زیر عنکبوتیه است. سپس یک لوله‌ی پلی‌اتیلن ۱۰ (PE-10) یازده سانتی‌متری را که قبل از استفاده توسط اتانول ۷۰ درصد استریل و به خوبی با سالین استریل شسته شده بود را، خیلی آرام درون فضای زیر عنکبوتیه به طرف قطعه‌ی کمری نخاع پیش برده و طوری که سه سانتی‌متر از آن بیرون بماند، به‌وسیله‌ی پارافیلیم برجستگی کوچکی روی آن ایجاد شد تا سه سانتی‌متر آن خارج از نخاع برای تزریق دارو استفاده شود. لازم به ذکر است که پس از کانول گذاری و گذشت یک دوره‌ی زمانی بهبودی ۵ روزه، نباید در موش‌ها نقص حرکتی دیده شود. اسید آسکوربیک و یا سالین در حجم ۱۰ میکرولیتر به‌صورت داخل نخاعی توسط لوله‌ی رابط و سرنگ هاملتون تجویز گردید. در این پژوهش برای القای التهاب، از مدل التهاب القا شده پا به‌وسیله فرمالین استفاده شد (۱۸). مراحل انجام آزمایش‌ها در تمام گروه‌ها به این شکل بود که ابتدا حجم پای چپ به‌روش پلتیسومتری اندازه‌گیری شد سپس دارو و یا سالین در هر گروه به روش

محاسبه گردید. حجم پا قبل از تزریق کف پای فرمالین - حجم پا یک ساعت پس از تزریق کف پای فرمالین = حجم ادم القا شده داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار پا ارائه شدند. معنی‌داری تفاوت بین میانگین‌ها با آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و به کمک نرم‌افزار آماری Graphpad Prism 5 و به دنبال آن مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی و با حداقل سطح معنی‌داری $P < 0.05$ برآورد شدند.

یافته‌ها

مقایسه‌ی نتایج حاصل از آزمون پلتیسومتری بین گروه‌های کنترل (بدون جراحی و دریافت تیمار)، دریافت کننده‌ی سالین (i.p) و دریافت کننده‌ی سالین (i.t) حاکی از آن بود که تفاوت معنی‌داری در حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین بین گروه‌ها وجود نداشت.

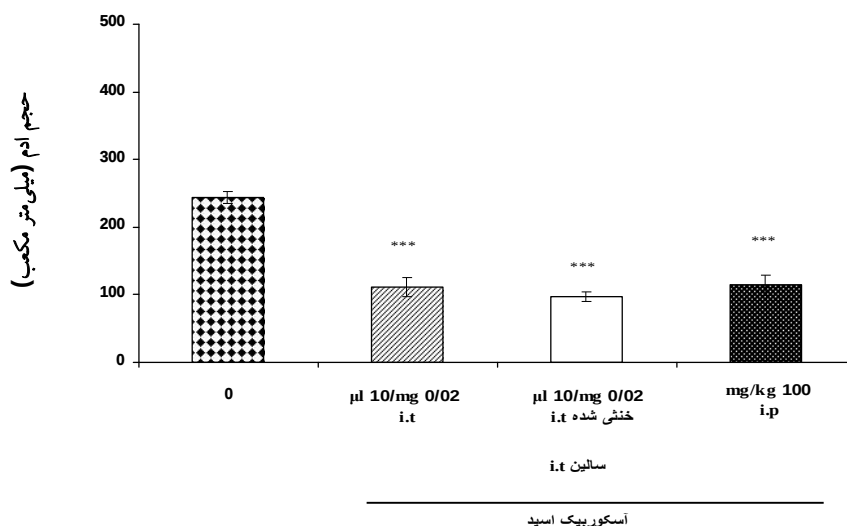
i.p یا i.t تجویز گردید آن گاه ۳۰ دقیقه پس از تجویز داخل صفاقی و ۵ دقیقه پس از تجویز نخاعی، ۰/۰۵ سی‌سی از محلول فرمالین رقیق شده به میزان ۲/۵ درصد به صورت زیر جلدی به کف پای چپ تزریق شد و بعد از گذشت یک ساعت از تزریق کف پای فرمالین بار دیگر حجم پای چپ به روش پلتیسومتری اندازه‌گیری شد. در این مطالعه از روش پلتیسومتری دیجیتالی برای اندازه‌گیری حجم ادم ناشی از عوامل پاتولوژیک یا آزمایشگاهی استفاده گردید (۱۹). در این روش ابتدا پای حیوان در قسمت مچ علامت‌گذاری و در ستون پلتیسومتری جیوه‌ای که بر روی ترازوی دیجیتال قرار گرفته بود فرو برده شد. یک ساعت بعد از تزریق فرمالین نیز این عمل تکرار گردید. اعداد مشاهده شده آن بر جرم حجمی جیوه ۱۳/۶ گرم بر سانتی‌متر مکعب تقسیم شده، حجم ادم ناشی از تزریق کف پای فرمالین به روش زیر



نمودار ۱: مقایسه‌ی حجم ادم التهابی القا شده توسط فرمالین در پا بین گروه سالین (i.p) و گروه‌های دریافت کننده‌ی دوزهای مختلف آسکوربیک اسید (۲۰۰، ۱۰۰، ۱۰، ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم) طی تجویز داخل صفاقی. افزایش دوز آسکوربیک اسید به صورت پیش رونده منجر به کاهش ادم التهابی شد و دوز ۱۰۰ (میلی‌گرم در کیلوگرم) آسکوربیک اسید مؤثرترین دوز بود. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند ($P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.001$ در مقایسه با سالین (i.p)، $P < 0.05$ و $P < 0.001$ در مقایسه با آسکوربیک اسید، ۱ میلی‌گرم در کیلوگرم، $P < 0.05$ در مقایسه با آسکوربیک اسید ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم و $P < 0.01$ در مقایسه با آسکوربیک اسید، ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) و ($n=7$).

بنابراین تجویز داخل صفاقی سالین و تجویز نخاعی آن تغییری در میزان التهاب ناشی از فرمالین در پای موش ایجاد نکردند. حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین در گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف آسکوربیک اسید (۲۰۰ و ۱۰۰، ۱۰، ۱ میلی گرم در کیلوگرم) به صورت داخل صفاقی در مقایسه‌ی با گروه دریافت کننده‌ی سالین (i.p) نشان داد که تجویز داخل صفاقی دوز ۱ میلی گرم در کیلوگرم آسکوربیک اسید اختلاف معنی داری در حجم ادم التهابی ایجاد نکرد در حالی که آسکوربیک اسید با دوزهای ۲۰۰ و ۱۰۰، ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم طی تجویز داخل صفاقی منجر به کاهش معنی داری در میزان ادم التهابی شد که اثر بخش ترین دوز آن نیز، دوز ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم آسکوربیک اسید بود ($P < 0/01$). ادم التهابی القا شده توسط تزریق کف پای فرمالین در گروه دریافت کننده‌ی سالین (i.t)، گروه دریافت کننده‌ی غلظت

معادل سازی شده آسکوربیک اسید (۰/۰۲ میلی گرم در ۱۰ میکرولیتر) طی تجویز نخاعی با مؤثرترین دوز ضد التهابی آسکوربیک اسید حین تجویز داخل صفاقی و همچنین گروه دریافت کننده‌ی غلظت معادل سازی شده آسکوربیک اسید خنثی (۰/۰۲ میلی گرم در ۱۰ میکرولیتر) به صورت تجویز نخاعی نشان داد که تجویز نخاعی آسکوربیک اسید (۰/۰۲ میلی گرم در ۱۰ میکرولیتر) در حالت‌های معمول و خنثی شده‌ی به طور معنی داری حجم ادم التهابی ناشی از تزریق کف پای فرمالین را می‌کاهد ($P < 0/001$)، اما تفاوت معنی داری از نظر توان کاهش ادم بین دو محلول خنثی و معمول آسکوربیک اسید مشاهده نگردید. همچنین مقایسه‌ی نتایج حاکی از آن بود که تجویز داخل صفاقی مؤثرترین دوز آسکوربیک اسید (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) نسبت به غلظت معادل سازی شده آن حین تجویز نخاعی (۰/۰۲ میلی گرم در ۱۰ میکرولیتر) اختلاف معنی داری از نظر قدرت کاهش ادم ایجاد شده، نشان نداد (نمودار ۲).



نمودار ۲: مقایسه‌ی میزان ادم التهابی القا شده توسط فرمالین در پا بین گروه سالیان (i.t)، گروه‌های دریافت کننده‌ی آسکوربیک اسید معمول و خنثی شده (۱۰ میکرو لیتر، ۰/۰۲ میلی گرم) طی تجویز i.t و گروه دریافت کننده‌ی آسکوربیک اسید (۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم) طی تجویز i.p. تجویز نخاعی آسکوربیک اسید معمول و خنثی و تجویز داخل صفاقی مؤثرترین دوز آن، هر سه میزان ادم التهابی را تخفیف داده‌اند و هیچ یک بر دیگری از نظر قدرت کاهندگی ادم التهابی برتری نداشت. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ارائه شده‌اند ($P < 0/001$ در مقایسه با سالیان (i.t) و ($n=7$)).

بحث

یافته‌های این تحقیق حاکی از آن بود که حجم ادم التهابی پا در گروه‌های دریافت کننده‌ی آسکوربیک اسید به صورت داخل صفاقی و نخاعی کاهش یافت. اثر ضد التهابی ویتامین C وابسته به دوز می‌باشد و این اثر در دوز ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم بیشتر از دوزهای دیگر است، اما اثر ضد التهابی آسکوربیک اسید در دوزهای بالاتر و کمتر از دوز ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم به تدریج کاهش پیدا می‌کند در نتیجه شاید بتوان یک منحنی U شکل برای اثر ضد التهابی وابسته به دوز آسکوربیک اسید پیشنهاد داد.

با توجه به نتایج این تحقیق، مبنی بر اثرات ضد التهابی ویتامین C و ضمن توجه به مطالعات پیشین که حاکی از رخ داد پدیده التهاب در پی عفونت و یا آسیب بافت می‌باشند، با آسیب بافت، سلول‌های خونی مانند بازوفیل‌ها، ماست سل‌ها و پلاکت‌ها در آن محدوده، میانجی‌های التهابی مانند سروتونین، هیستامین، نیتریک اکساید، اینترلوکین‌ها و سیتوکاین‌ها را ترشح می‌کنند. همچنین پروتئین‌های پپتیدی التهابی کوتاه مدت مانند ماده‌ی P (SP) و CGRP نیز ترشح می‌شود. همچنین در ناحیه‌ی آسیب و متعاقبا در نخاع آنزیم‌هایی مانند سیکلواکسیژناز، تولید میانجی‌های التهابی را افزایش می‌دهند (۲۱ و ۲۰). بررسی‌ها و شواهد فراوانی حاکی از اثرات ضد التهابی آسکوربیک اسید می‌باشد. یکی از دلایلی که نشان می‌دهد حضور آسکوربیک اسید در پاسخ‌های التهابی مؤثر است علایم قابل مشاهده در بیماری scurvy است. از علایم مشهود این بیماری که به دلیل کمبود آسکوربیک اسید بروز می‌کند التهاب و تورم آن می‌باشد. بنابراین می‌توان گفت کاهش میزان آسکوربیک اسید منجر به افزایش پاسخ‌های التهابی می‌شود و بررسی‌ها نشان می‌دهند که مصرف آسکوربیک اسید به کاهش شدت التهاب کمک می‌کند (۶). همچنین تحقیقات نشان می‌دهند که رادیکال‌های آزادی مانند

ROS و موادی مانند NO که در پاسخ‌های التهابی افزایش می‌یابند، با مصرف و حضور آسکوربیک اسید بسیار کاهش پیدا کرده و در نتیجه در میزان التهاب کاهش چشمگیری مشاهده می‌شود (۲۲). بنابراین با توجه به نتایج مطالعات و تحقیقات ذکر شده می‌توان اثرات ضد التهابی مشاهده شده آسکوربیک اسید در این تحقیق را توضیح داد بدین صورت که احتمالا آسکوربیک اسید با مهار عوامل دخیل در التهاب منجر به کاهش حجم ادم ایجاد شده در پی التهاب القا شده با فرمالین شده است. همچنین احتمال دارد که آسکوربیک اسید با تأثیری مهاری که بر روی گیرنده‌های غشایی از جمله NMDA دارد (۲۳) فعالیت نورون‌ها را در سطح نخاع کاهش داده و رهایش میانجی‌های مولد و پیشبرنده التهاب در مرکز و محیط را کاهش داده باشد (۶) و منجر به بروز اثر ضد التهابی مشاهده شده در آزمایش‌های این مطالعه شده باشد. با توجه به نمودار ۱ اثرات ضد التهابی آسکوربیک اسید به صورت وابسته به دوز بود طوری که از دوز بالاتر از ۱۰۰ میلی گرم در کیلوگرم این اثر کاهش یافت که نیازمند تحقیق بیشتر است. ممکن است خاصیت پرواکسیدانی آسکوربیک اسید یکی از این دلایل باشد. اگر چه که آسکوربیک اسید به عنوان یک فاکتور احیایی شناخته شده است (۲۴) اما در شرایط مناسب می‌تواند فرآیند اکسیداسیون را تسهیل بخشد. علاوه بر آن آسکوروبات (فرم خنثی شده آسکوربیک اسید) از طریق واکنش با رادیکال‌ها از اکسیداسیون جلوگیری می‌کند؛ اما تحت شرایط مساعد می‌تواند به عنوان یک پرواکسیدان عمل کرده و در واکنش‌های تولید کننده‌ی رادیکال‌ها شرکت کند که نشان دهنده‌ی اثر پرواکسیدانی احتمالی آسکوربیک اسید می‌باشند (۲۶ و ۲۵). از طرفی نتایج نشان می‌دهد خنثی کردن اسیدیته‌ی آسکوربیک اسید تأثیر چشمگیری بر حجم ادم نداشته است. از جمله عدم ارتباط مهار رهایش SP یا CGRP به اسیدیته آسکوربیک اسید (۲۱) و همچنین با توجه

اسید موجب کاهش حجم ادم التهابی القا شده توسط فرمالین شده است از طرفی کاهش حجم ادم التهابی بین تجویز داخل صفاقی و نخاعی و حالت معمولی و خشتی شده‌ی آن تفاوتی نداشت که خود حاکی از دخیل نبودن حالت اسیدی ویتامین C در اثرات ضد التهابی آن و احتمال مرکزی بودن بخشی از اثرات ضد التهابی این ویتامین می باشد.

تقدیر و تشکر

این مقاله‌ی حاصل پایان نامه‌ی دانشجویی در مقطع کارشناسی ارشد در دانشگاه فردوسی مشهد می باشد. بدینوسیله از آن دانشگاه مراتب تقدیر و تشکر به عمل می آید.

به نقش COX-2 و PGE2 در پاسخ‌های التهابی (۷)، احتمال دارد که اسیدیته‌ی آسکوربیک اسید در فعالیت ضد التهابی این ماده چندان اهمیتی نداشته باشد. همچنین مقایسه اثر ضد التهابی تجویز آسکوربیک اسید به صورت داخل صفاقی نسبت به تجویز نخاعی آن تفاوت معنی داری نشان نداد. بنابراین شاید بتوان از این موضوع نتیجه گرفت که حداقل بخشی از اثرات ضد التهابی آسکوربیک اسید به طور مرکزی اعمال می گردند.

نتیجه گیری

با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه آسکوربیک

References

- 1- Helmersson J, Arnlöv J, Larsson A, Basu S. Low dietary intake of beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid is associated with increased inflammatory and oxidative stress status in a Swedish cohort. *Br J Nutr*. 2009; 101: 1775-82.
- 2- Skaper S, Fabris M, Ferrari V, Dalle Carbonare M, Leon A. Quercetin protects cutaneous tissue-associated cell types including sensory neurons from oxidative stress induced by glutathione depletion: cooperative effects of ascorbic acid. *Free Radic Biol Med*. 1997; 22: 669-78.
- 3- Pauling L. Evolution and the need for ascorbic acid. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1970; 67: 1643-8.
- 4- Williams R, Paterson C. A protective role for ascorbic acid during inflammatory episodes in the eye. *Exp Eye Res*. 1986; 42: 211-8.
- 5- Suh M, Kwon J, Wee W, Han Y, Kim J, Lee J. Protective effect of ascorbic acid against corneal damage by ultraviolet B irradiation: a pilot study. *Cornea*. 2008; 27: 916-22.
- 6- Clemetson C. Histamine and ascorbic acid in human blood. *J Nutr*. 1980; 110: 662-8.
- 7- Candelario-Jalil E, Akundi R, Bhatia H, et al. Ascorbic acid enhances the inhibitory effect of aspirin on neuronal cyclooxygenase-2-mediated prostaglandin E2 production. *J Neuroimmunol*. 2006; 174: 39-51.
- 8- Spillert C, Spillert K, Hollinshead M, Lazaro E. Inhibitory effect of high dose ascorbic acid on inflammatory edema. *Agents Actions*. 1989; 27: 401-2.
- 9- Gunes T, Bozok S, Kestelli M, et al. α -tocopherol and ascorbic acid in early postoperative period of cardiopulmonary bypass.

- J Cardiovasc Med (Hagerstown)*. 2012; 13: 691-9.
- 10- Olatunji-Bello II, Olayemi SO, Daramola AO, Ogungbemi AO. Ascorbic acid and the effect of cigarette smoke on tissues--a preliminary report. *West Afr J Med*. 2008; 27: 78-81.
- 11- Silva Bezerra F, Valença S, Lanzetti M, et al. Alpha-tocopherol and ascorbic acid supplementation reduced acute lung inflammatory response by cigarette smoke in mouse. *Nutrition*. 2006; 22: 1192-201.
- 12- Dai F, Yang J, Gu P, Hou Y, Wu C. Effect of drug-induced ascorbic acid release in the striatum and the nucleus accumbens in hippocampus-lesioned rats. *Brain Res*. 2006; 1125: 163-70.
- 13- Tillement JP, Albengres E. The pharmacologic basis of pain treatment. *Therapie*. 2001; 56: 687-96.
- 14- Zimmermann M. Ethical considerations in relation to pain in animal experimentation. *Acta Physiol Scand Suppl*. 1986; 554: 221-33.
- 15- De Vito M, Wagner G. Methamphetamine-induced neuronal damage: a possible role for free radicals. *Neuropharmacology*. 1989; 28: 1145-50.
- 16- Heller R, Unbehaun A, Schellenberg B, Mayer B, Werner-Felmayer G, Werner ER. L-ascorbic acid potentiates endothelial nitric oxide synthesis via a chemical stabilization of tetrahydrobiopterin. *J Biol Chem*. 200; 276: 40-7.
- 17- Yaksh T, Rudy T. Chronic catheterization of the spinal subarachnoid space. *Physiol Behav*. 1976; 17: 1031-6.
- 18- Roche AK, Cook M, Wilcox GL, Kajander KC. A nitric oxide synthesis inhibitor (L-NAME) reduces licking behavior and Fos-labeling in the spinal cord of rats during formalin-induced inflammation. *Pain*. 1996; 66: 331-41.
- 19- Fereidoni M, Ahmadiani A, Semnani S, Javan M. An accurate and simple method for measurement of paw edema. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2000; 43: 11-4.
- 20- Dray A. Inflammatory mediators of pain. *Br J Anaesth*. 1995; 75: 125-31.
- 21- Medzhitov R, Horng T. Transcriptional control of the inflammatory response. *Nat Rev Immunol*. 2009; 9:92-703.
- 22- Peponis V, Papathanasiou M, Kapranou A, et al. Protective role of oral antioxidant supplementation in ocular surface of diabetic patients. *Br J Ophthalmol*. 2002; 86: 1369-73.
- 23- Rosa K, Gadotti V, Rosa A, Rodrigues A, Calixto J, Santos A. Evidence for the involvement of glutamatergic system in the antinociceptive effect of ascorbic acid. *Neurosci Lett*. 2005; 381: 185-8.
- 24- Kim E, Won R, Sohn J, et al. Anti-oxidant effect of ascorbic and dehydroascorbic acids in hippocampal slice culture. *Biochem Biophys Res Commun*. 2008; 366: 8-14.
- 25- Garland DL. Ascorbic acid and the eye. *Am J Clin Nutr*. 1991; 54: 1198S-1202S.
- 26- Maghbooli M, Farhadi S, Esmaealzadeh A, Mazloomzadeh S. Assessment of serum uric acid and vitamin C levels in acute atherothrombotic stroke. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2012; 20: 64-74.

The Effect of Vitamin C on Inflammation Induced by Formalin in Rats

Movahhed Avval N¹, Fereidoni M¹

¹Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Fereidoni M, Dept. of Biology, Faculty of Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

E-mail: fereidoni@um.ac.ir

Received: 25 Dec 2013 **Accepted:** 30 Aug 2014

Background and Objective: Vitamin C (Vit.C) or ascorbic acid is an essential micronutrient which has neuroprotective effects and can decrease Cyclooxygenase-2 (COX-2) activity and then prostaglandins synthesis. Therefore, it is hypothesized that Vit. C is able to reduce the inflammatory edema. In order to verify this hypothesis, a model of inflammatory paw edema was induced by formalin in rats.

Materials and Methods: 56 Male Wistar rats (200-250g) were used to carry out this study. Each group consisted of 7 mice, composed of Saline (intraperitoneal; IP), Saline (intrathecal; IT), Vit.C at the dose groups of (1, 10, 100, 200 mg/kg, IP) and concentration of (0.02mg/10μl, IT) in normal and neutralized forms of Vit.C. 30 minutes after IP and 5 minutes after IT administrations, 0.05ml formalin 2.5% was injected in the sub plantar region of left hind paw. Volume of edema was measured by subtraction of paw volume assessed using plethysmometric method before the injections, from the paw volume 1 hour after formalin injection.

Results: IP administration of Vit.C at doses of 200 mg/kg ($P<0.05$), 100 mg/kg ($P<0.001$) and 10 mg/kg ($P<0.01$) and also intrathecal administration of both normal and neutralized forms of Vit. C (0.02 mg/10μl) ($P<0.001$) significantly reduced the inflammatory paw edema.

Conclusion: Effects of Vit.C on inflammatory edema reduction was significant. The effects of Vit.C are probably dose dependent and acidic independent.

Keywords: Ascorbic acid, Inflammation, Intraperitoneal administration, Intrathecal administration, Formalin