زیست فناوری دانشگاه تربیت مدرس
دوره 8، شماره 3، پاییز 1396

اثر پیشگیری کننده مکمل ویتامین C بر تغییرات حاصل از استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول در چشم

پریسا حسنین[1*]، سعید شاکری[2]

1- دانشیار فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
2- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

* همدان، صندوق پستی 65178-33391
p.hasanein@basu.ac.ir
(دریافت مقاله: 94/11/25 پذیرش مقاله: 95/8/1)

چکیده- یکی از مکانیسم‌های مولکولی ایجاد مسمومیت توسط الکل، ایجاد استرس اکسیداتیو است. در این تحقیق اثر پیشگیری کننده مصرف خوراکی مقادیر متفاوت ویتامین C بر آسیب چشمی حاصل از مصرف مزمن اتانول در موش‌های صحرایی آزمایش شد. هشت گروه از رت‌ها تحت تیمار سی روزه قرار گرفتند: کنترل (C)، گروه‌های VC (50mg/kg، 100 و 200 وزن بدن)، گروه اتانول (4g/kg) و گروه اتانول + ویتامین C (50، 100 و 200 mg/kg وزن بدن). سپس شاخص‌های نسبت اکسیدان به آنتی‌اکسیدان شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و مالون دی آلدهید (MDA) در چشم رت‌ها اندازه‌گیری گردید. اتانول فعالیت SOD، CAT و GPX را در چشم کاهش داد. این تغییرات به همراه پراکسیداسیون لیپیدی مانند افزایش سطح MDA همراه بود. میزان ذخیره آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی در گروه‌های ویتامین C (50 mg/kg، 100 و 200) و کنترل تغییر معنی‌داری نداشت. هرچند گروه VC (200mg/kg) به وضوح مانع برهم خوردن تعادل نسبت اکسیدان به آنتی‌اکسیدان می‌شود. جالب توجه اینکه میزان بالای ویتامین C پراکسیداسیون لیپیدی را به طور قوی مهار و دفاع آنزیمی آنتی‌اکسیدانی را نسبت به مقادیر دیگر ویتامین C در گروه‌های الکلی بهبود بخشیده است. تجویز خوراکی 200mg/kg ویتامین C به مدت 30 روز با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی مانع استرس اکسیداتیو ناشی از مصرف مزمن اتانول، می‌شود. مکمل‌های ویتامینی نسبت به داروهای شیمیایی فاقد اثرات جانبی می‌باشد، بنابراین آنتی‌اکسیدان‌های ویتامینی پتانسیلی برای جلوگیری از مسمومیت الکلی ناشی از مصرف اتانول ایجاد می‌کنند.

کلیدواژگان: ویتامین C، الکل، آنتی‌اکسیدان، چشم، پراکسیداسیون لیپیدی.

1- مقدمه

استعمال الکل و آسیب‌های پزشکی و اجتماعی آن یکی از چالش‌های سلامت عمومی در جهان می‌باشد [1]. مصرف طولانی مدت اتانول باعث آسیب رساندن به سیستم بینایی

می‌شود [2]. بیشتر یافته‌ها نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو با افزایش تولید پر اکسیدان‌ها در ترکیب با احیا کننده‌ها ی دفاع آنتی‌اکسیدانی دربسیاری آسیب‌های چشمی مانند رتینوپاتی دیابتی [3]، ایجاد شدن لکه‌های وابسته به سن [4] و التهاب ملتحمه چشم [5] شرکت می‌کند.

تحقیقات بسیار گسترده‌ای در بیست سال گذشته برای کاهش اثرات مصرف الکل انجام شده است [6]. متاسفانه مصرف داروهای ساخته شده برای مسمومیت الکلی دارای عوارض جانبی بسیاری هستند [7]. امروزه توجه خاصی به محصولات طبیعی برای مقابله با اثرات سمی اتانول وجود دارد [8]. برای مثال برخی آنتی‌اکسیدان‌ها از جمله ویتامین C، تیامین، کیورسیتین و N استیل سیستئین قادر به جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو در کبد می‌باشند [9]. در این زمینه، گزارش شده که ویتامین C به همراه سیلی مارین استرس اکسیداتیو حاصل از اتانول و التهاب سلول‌های کبدی را مهار می‌کند [10]. گرچه مطالعات بسیار زیادی در مورد مسمومیت اتانول در مغز و کبد انجام شده است ولی در مورد اثرات مسمومیت اتانول بر چشم مطالعات کمتری انجام شده است. بنابراین در این تحقیق از بین بافت‌هایی که با کمترین میزان اتانول، دچار تغییر در شاخص‌های استرس اکسیداتیومی شوند، چشم اتخاب شد. ویتامین C یک آنتی‌اکسیدان مفید در داخل و خارج سلول محسوب می‌شود که از بر هم خوردن تعادل اکسیداتیو در بیماری‌هایی که باعث آسیب‌های جدی به عدسی و قرنیه می‌شوند، پیشگیری می‌کند [13،11]. علاوه بر این گزارش‌هایی وجود دارد که ویتامین C می‌تواند از آسیب‌های ایجاد شده در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول در بافت‌هایی مانند بیضه‌ها [14]، کلیه‌ها [15] و آئورت [16] پیشگیری کند. در بررسی متون، اطلاعاتی در مورد بررسی تأثیر تیمار خوراکی مقادیر متفاوت ویتامین C بر استرس اکسیداتیو ناشی از اتانول در چشم موش‌ها بصورت in vivo به دست نیامد.

بنابراین این مطالعه برای بررسی اثرات بلند مدت تجویز مقادیر متفاوت ویتامین C بر تغییرات شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی که در اثر مصرف اتانول در چشم رت ایجاد می‌شود، طراحی شده است.

2- مواد و روش‌ها

2-1- داروها و مواد شیمیایی مورد نیاز

دهیدرو آسکوربیک اسید خالص از شرکت سیگما (Sigma, St. Louis, USA) و کتامین از شرکت Rotexmedica (Trittau, Germany) خریداری شد. بقیه مواد شیمیایی مورد نیاز برای آنالیز از شرکت سیگما تهیه شد.

2-2- حیوانات

پنجاه وشش عدد موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن بین 220-225 گرم برای این آزمایش استفاده گردید. همه حیوانات در دمای ثابت (22 ± 0.5°C) و تحت نور 12 ساعت روشنایی و12 ساعت تاریکی قرار گرفتند. غذا و آب در محل غذا و آبخوری قفس موش‌ها، بدون محدودیت قرار گرفت. پیش‌نویس طرح براساس مصوبات آزمایشگاهی دانشگاه بوعلی سینا به تصویب رسید.

2-3- طراحی آزمایش

پس از اینکه حیوانات به شرایط آزمایشگاه عادت کردند، به هشت گروه مساوی تقسیم شدند (n = 7). چهار گروه با اتانول تیمار شدند و چهار گروه کنترل در نظر گرفته شدند. گروه‌های کنترل و اتانول به مدت سی روز نرمال سالین و اتانول (4g/kg در روز به وسیله گاواژ) دریافت کردند. ویتامین C (50،100و200mg/kg) به وسیله گاواژ

از طریق دهانی به مدت 30 روز به گروه‌های کنترل و اتانول تجویز شد. مقادیر ویتامین C و طول دوره تیمار بر اساس اطلاعات منتشر شده از مطالعات پایه‌ای در مورد اثر پیشگیری کننده ویتامین C بر آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو در نظر گرفته شد [1،11،17]. مقدار و روش استفاده از اتانول، بر اساس مطالعات قبلی منتشر شده در مورد اثرات اتانول در ایجاد سمیت اکسیدانی انتخاب شد [1،18،19]. در پایان دوره موش‌ها را با تزریق کتامین (50mg/kg) بیهوش کرده و چشم‌ها به سرعت جدا گردید و پس از حذف ماهیچه‌ها و بافت‌های اضافی، به سرعت با نرمال سالین سرد شستشو داده شد. سپس بافت چشم‌ها در بافر فسفات سرد (pH 7.4, 0.1 M) هموژنیزه و در دور 2750 به مدت 15 دقیقه سانتریفوژ شدند. مایع شفاف رویی جدا گردیده و در دمای 70°C - برای مراحل بعدی تعیین نسبت شاخص‌های اکسیدان به آنتی‌اکسیدانی، نگهداری شد.

2-4- اندازه‌گیری مالون دی آلدهید (MDA)

مقدار MDA (مقدار پراکسیداسیون لیپیدی) به روش تعیین مواد واکنش دهنده با تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد [20]. به طور خلاصه، به عصاره چشم 1/5میلی‌لیتر TCA (W/V20%) تری کلرو استیک اسید اضافه و در دور 3000g به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شد. رسوب جدا شده در اسید سولفوریک حل گردیده و 1/5 میلی‌لیتر از آن با 1/5 میلی‌لیتر TBA (تیو باربیتوریک اسید 0/2%W/V) مخلوط شد. پس از انکوبه کردن مخلوط به مدت یک ساعت در بن ماری جوش، 2 میلی‌لیتر n بوتانول به مایع انکوبه شده اضافه و سپس محلول سانتریفوژ می‌گردد. جذب محلول رویی در طول موج 532 نانومتر قرائت می‌شود. رسم منحنی استاندارد با محلول ترا اتوکسی پروپان برای تعیین غلظت‌های TBA + MDA در نمونه‌ها انجام می‌پذیرد.

2-5- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز SOD

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز با استفاده از کیت با نام تجاری رانسود (Randox Co., UK) انجام شد. در این روش از زانتین[1] و زانتین اکسیداز[2] (XOD)، برای تولید رادیکال‌های سوپراکسید استفاده می‌گردد. این رادیکال‌های تولید شده با ماده‌ای موسوم به آی. ان. تی (INT) 2-(4 یدوفنیل)-3-(4-نیتروفنل)-5-فنیل تترازولیوم کلراید)[3] که در کیت موجود می‌باشد، واکنش داده و ماده‌ی قرمز رنگی موسوم به رد فرمازان دای[4]، تولید می‌کند. سپس میزان فعالیت آنزیم SOD از طریق اندازه‌گیری درصد مهار انجام این واکنش تعیین می‌گردد. یک واحد از آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی است که توانایی مهار 50 درصد از سرعت احیای ماده‌ی آی. ان. تی را در شرایط آزمایش دارد. سطوح SOD در جذب 505 نانومتر خوانده شده و یک منحنی استاندارد بر حسب واحد بر میلی گرم پروتئین بافتی رسم می‌شود.

2-6- اندازه‌گیری فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)

فعالیت ویژه‌ی آنزیم GP_X توسط کیت رانسل(Randox Co., UK) بر اساس دستور العمل شرکت راندوکس اندازه‌گیری شد. آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GP_X) واکنش اکسیداسیون گلوتاتیون (GSH) به وسیله‌ی کیومن ئیدرو پراکساید[5] را کاتالیز می‌کند. در حضور آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و NADPH، گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) فوراً به فرم احیا شده (GSH) تبدیل می‌گردد. این واکنش با اکسیداسیون NADPH به $NADP^+$ همراه است. کاهش جذب در طول موج 340 نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت

[1] xanthine
[2] xanthin oxidase
[3] 2-(4-iodophenyl)-3-(4-nitrophenol)-5-phenyltetrazolium chloride
[4] Red formazan dye
[5] Cumene hydroperoxide

یک واحد GPX(U) بنا به تعریف عبارت است از مقدار آنزیمی که بتواند در مدت یک دقیقه یک میکرومول از NADPH را به $NADP^+$ تبدیل کند .فعالیت GPX برحسب واحد (U) بر میلی گرم پروتئین بیان می‌شود.

7-2- اندازه‌گیری میزان فعالیت کاتالاز (CAT)

این آنزیم بر اساس روش Claiborne اندازه‌گیری گردید [21]. برای این امر از بافر فسفات 50 میلی‌مولار با pH=7 و محلول 380 میلی مولار آب اکسیژنه استفاده شد و نمونه وسرعت تجزیه آب اکسیژنه توسط نمونه با اندازه‌گیری تغییرات جذب در مدت دو دقیقه در طول موج 240 نانومتر اندازه‌گیری شد. فعالیت کاتالاز بر حسب میلی‌مول آب اکسیژنه تحلیل رفته در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین نمایش داده می‌شود.

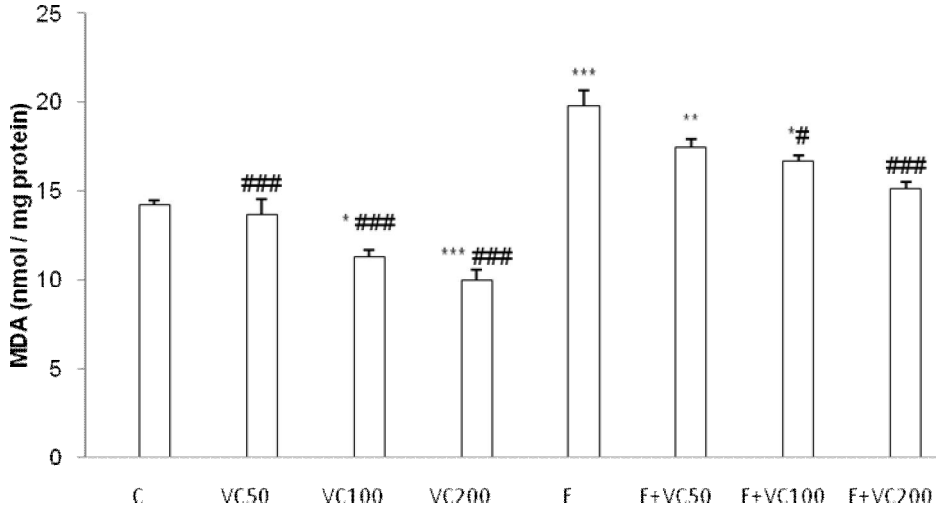
8-2- تجزیه تحلیل آماری

میانگین مربوط به تمام مقادیر بدست آمده به صورت میانگین ± خطای معیار (Mean ± S.E.M) بیان شدند. آنالیز آماری با استفاده از SPSS 21/5 صورت گرفت. اختلاف آماری بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) انجام شده و از آزمون Tukey برای مقایسه دو گروه استفاده شد. $P < 0.05$ به عنوان معیار معنی‌دار بودن اختلاف بین گروه‌های مورد آزمایش در نظر گرفته شد.

3- نتایج

1-3- اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر مقدار MDA چشم در رت‌های گروه کنترل و تیمار الکل

مقادیر (100 mg/kg و 200) ویتامین C مقدار MDA را در رت‌های گروه کنترل کاهش داد ($P < 0.05$, $P < 0.001$). غلظت MDA به وضوح در گروه تیمار شده با اتانول (19.79 ± 0.89 mmol/mg protein) در مقایسه با گروه کنترل (14.25 ± 0.22 nmol/mg protein) افزایش نشان داد ($P<0.001$).



شکل 1 فعالیت GPx در چشم در گروه‌های کنترل، ویتامین C با مقادیر 50، 100 و 200 mg/kg، اتانول، اتانول درمان شده با مقادیر مختلف ویتامین C در 30 روز بعد از شروع درمان (n = 7).

*P < 0.05, **P < 0.01 and * * *P < 0.001 در مقایسه با گروه کنترل

#P < 0.01 and ###P < 0.001 در مقایسه با گروه اتانول

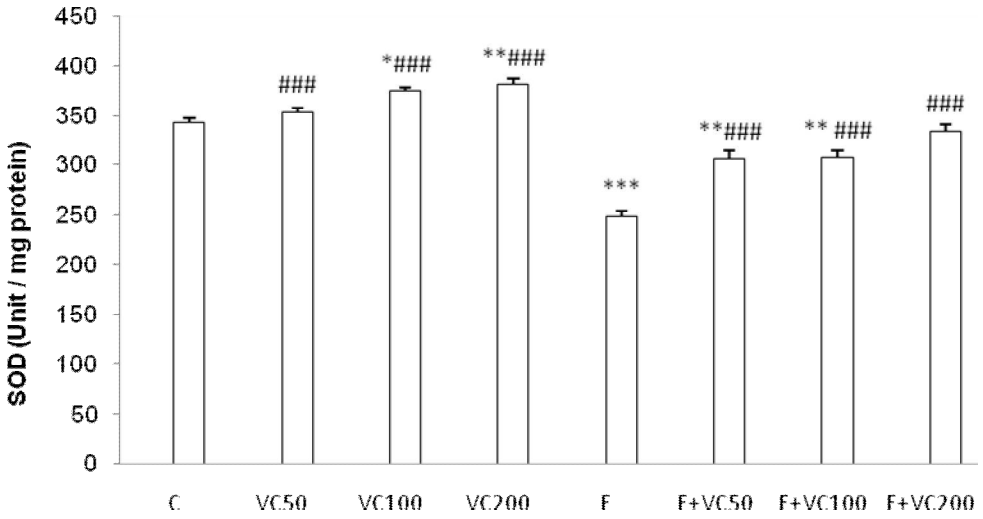
هرچند ویتامین C در مقادیر 50mg/kg و 100 میزان MDA را در نمونه‌های تیمار شده با اتانول در مقایسه با گروه شاهد تیمار شده با اتانول کاهش داده بود ولی هنوز اختلاف معنی‌داری در مقادیر MDA در بین این گروه‌ها و گروه کنترل ($P < 0.01, P < 0.05$) مشاهده می‌شود. بالاترین مقدار ویتامین C از افزایش مقادیر MDA در گروه اتانول پیشگیری می‌کند، بطوری که گروه اتانول که با ویتامین C (200mg/kg) تیمار شده‌اند، تغییر معنی‌داری در میزان MDA نسبت به موش‌های گروه کنترل نشان نمی‌دهند ($P > 0.05$) (شکل 1).

3-2- اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر مقدار SOD در چشم رت‌های گروه کنترل و تیمار الکل

مقادیر 50 میلی‌گرم برکیلوگرم ویتامین C نتوانست سطح فعالیت SOD را افزایش دهد ($P > 0.05$). مقادیر بالاتر ویتامین C در مقایسه با گروه کنترل ($P < 0.05, P < 0.01$) فعالیت SOD را افزایش داد. در نمونه عصاره چشم حیواناتی که با اتانول تیمار شده بودند، نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری در فعالیت SOD دیده شد ($P < 0.001$). ویتامین C 50mg/kg و100 فعالیت SOD را در نمونه‌هایی که با اتانول تیمار شده بودند نسبت به گروه اتانول تنها افزایش داد، هرچند هنوز اختلاف معنی‌داری بین این گروه‌ها در مقایسه با گروه کنترل دیده نمی شود ($P < 0.01$). تیمار 200 mg/kg ویتامین C به طور کامل مانع از کاهش فعالیت SOD در گروه اتانول شد. بین نمونه اتانول تیمار شده با ویتامین C 200mg/kg در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌داری دیده نشد ($P > 0.05$) (شکل 2).

3-3- اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر مقدار فعالیت GPX در چشم رت‌های گروه کنترل و تیمار اتانول

شکل 3 اختلاف مقادیر فعالیت GPX را در حیوانات گروه‌های مختلف نمایش می‌دهد.



شکل 2 فعالیت CAT در چشم در گروه‌های کنترل، با مقادیر 50، 100 و 200 mg/kg، اتانول، اتانول درمان شده با مقادیر مختلف ویتامین C در 30 روز بعد از شروع درمان ($n = 7$).

$^{*}P < 0.05, ^{**}P < 0.01$ در مقایسه با گروه کنترل

$^{\#}P < 0.05, ^{\#\#}P < 0.01$ and $^{\#\#\#}P < 0.001$ درمقایسه با گروه اتانول

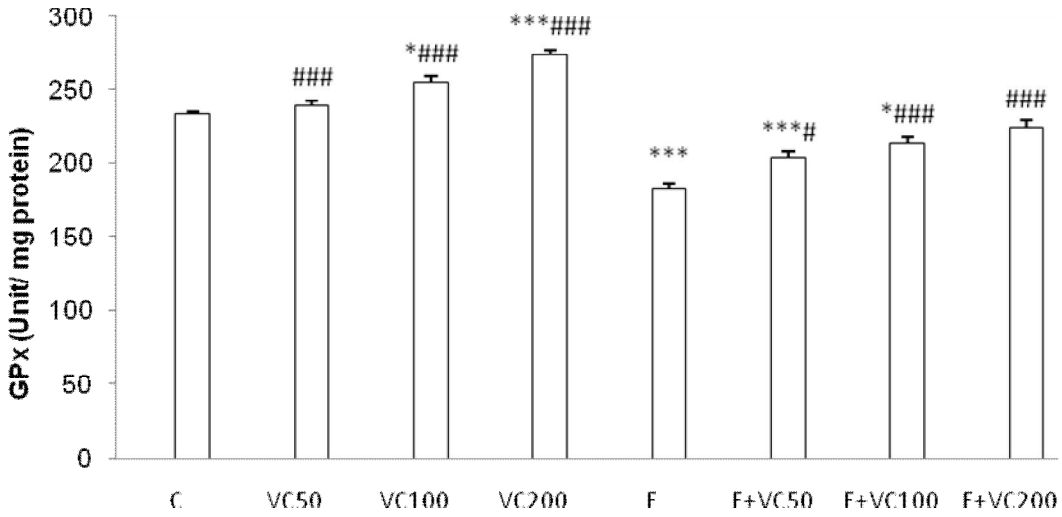
درحالی‌که کمترین مقدار ویتامین C نمی تواند تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت GPX در گروه‌های حیوانی

تیمار شده با اتانول ایجاد کند ($P > 0.05$)، مقادیر mg/kg 100 و 200 سطح GPX را در مقابل گروه کنترل افزایش می‌دهد. بعلاوه فعالیت GPX در گروه‌های تیمار شده با ویتامین C (100mg/kg و 200) معنی‌دار بود ($P < 0.05$). مواجهه بلندمدت با اتانول در مقابل گروه کنترل مقدار GPX را بطور معنی‌داری کاهش داد ($P < 0.001$). هرچند مقدار پایین ویتامین C در حیوانات تیمار شده با اتانول میزان فعالیت GPX را به طور معنی‌داری افزایش داده ($P < 0.05, P < 0.001$)، در مقایسه با گروه کنترل نیز این تغییر معنی‌دار دیده می‌شود ($P<0.001, P < 0.05$). البته مقدار mg/kg 200 ویتامین C بطور کامل مانع از کاهش سطح GPX در گروه تیمار شده با اتانول می‌شود (شکل 3).

3-4- اثر مقادیر مختلف ویتامین C بر مقدار فعالیت CAT درچشم رت‌های گروه کنترل و تیمار الکل

میزان تأثیر مقادیر مختلف ویتامین C بر فعالیت کاتالاز در شکل 4 نشان داده شده است. مقدار بالای ویتامین C افزایش معنی‌داری در فعالیت کاتالاز نسبت به گروه کنترل در رت‌ها ایجاد می‌کند ($P < 0.01$). تیمار طولانی مدت اتانول در رت‌ها سطح دفاع آنزیمی کاتالاز را نسبت به گروه کنترل کاهش می‌دهد($P < 0.01$) .

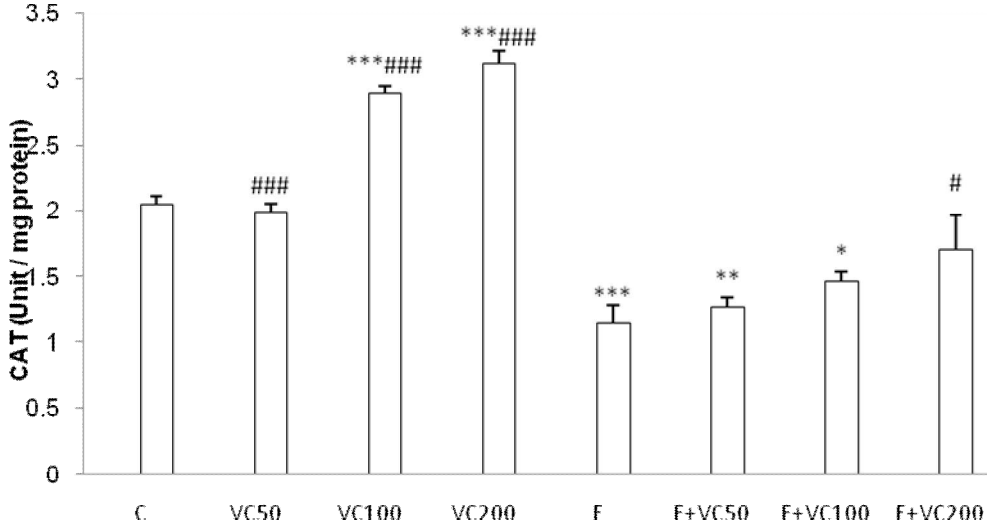
درمان با مقادیر 50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C در رت‌هایی که تحت تیمار اتانول قرار گرفته بودند، مقدار فعالیت کاتالاز را افزایش داد. هرچند بالاترین مقدار ویتامین C نسبت به گروه تیمار شده با اتانول افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد ولی ویتامین C mg/kg 200 به همراه اتانول تغییر معنی‌داری نسبت به گروه کنترل نشان نمی دهد ($P > 0.05$).



شکل 3 فعالیت SOD در چشم در گروه‌های کنترل، ویتامین C با مقادیر 50، 100 و mg/kg 200، اتانول، اتانول درمان شده با مقادیر مختلف ویتامین C در 30 روز بعد از شروع درمان ($n = 7$).

$^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ and $^{***}P < 0.001$ درمقایسه با گروه کنترل

$^{\#}P < 0.001$ در مقایسه با گروه اتانول



شکل 4 میزان پراکسیداسیون چربی بر اساس محتوای MDA در چشم در گروه‌های کنترل، ویتامین C با مقادیر 50، 100 و 200 mg/kg، اتانول، اتانول درمان شده با مقادیر مختلف ویتامین C در 30 روز بعد از شروع درمان (n = 7).

$^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ and $^{***}P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل

$^{\#}P < 0.001$ در مقایسه با گروه اتانول

4- بحث

مصرف اتانول باعث ایجاد طیف وسیعی از ناهنجاری‌ها در سیستم عروقی می‌شود. در مورد تأثیر مواد طبیعی برای کاهش اثرات مسمومیت اتانول بر چشم، اطلاعات کمی وجود دارد. هدف از این مطالعه تحقیق در باره نقش مقادیر مختلف ویتامین C بر عدم تعادل نسبت اکسیدان به آنتی‌اکسیدان‌ها که در اثر مصرف اتانول در چشم موش‌ها ایجاد می‌شود، است. استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌های مولکولی ایجاد مسمومیت در اثر مصرف اتانول می‌باشد [22]. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی مانند GPX، CAT و SOD اولین خط دفاع طبیعی در مقابل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌باشند. SOD آنیون سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) را به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن (O_2) کاتالیز می‌کند. پراکسید هیدروژن توسط کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز به آب تبدیل می‌شود که خنثی است[9]. در این مطالعه نشان داده شد که فعالیت SOD در چشم رت‌هایی که با اتانول تیمار شده بودند، کاهش می‌یابد. اگرچه گزارش شده بود که در اثر مصرف اتانول میزان فعالیت SOD در گلبول‌های قرمز انسان افزایش می‌یابد [23]،که این مسأله مخالف یافته‌های این تحقیق می‌باشد. این اختلاف ممکن است به علت سازگاری گلبول‌های قرمز به اتانول در زمان دوره آسیب در انسان باشد (50-40 سال). علاوه براین ما متوجه شدیم که GPX و CAT به طور معنی‌داری در گروه تیمار اتانول نسبت به رت‌های گروه کنترل کاهش یافته است. این نتایج با یافته‌های قبلی در مورد کاهش فعالیت آنتی‌آکسیدان‌های آنزیمی در چشم رت‌هایی که اتانول دریافت کرده بودند، مطابقت دارد [24]. کاهش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی در اثر مسمومیت اتانول ممکن است ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد در طول اکسیداسیون اتانول باشد. بعلاوه در مطالعه اخیر مشاهده شد که پراکسیداسیون لیپیدی MDA در رت‌هایی که اتانول دریافت کرده بودند، افزایش یافت. افزایش در سطح MDA ممکن است به دلیل افزایش نسبت

استالدهید به اکسیژن - رادیکالهای آزادی که در طول اکسیداسیون اتانول تولید می‌شوند، باشد [22]. این یافته‌ها با مطالعات قبلی که تغییراتی را در متابولیت‌های استرس اکسیداتیو پس از مواجهه طولانی مدت با اتانول در کبد [24]، مغز [25] و با مقالاتی که کاهش GSH و افزایش MDA در عصب بینایی [26] را در اثر مصرف اتانول نشان میدهند، همسویی دارد.

ویتامین C یکی از مهمترین تعدیل کننده‌های ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خوراکی در بدن انسان می‌باشد [27]. مطالعات قبلی یا ویتامین C نشان داده که تولید رادیکال‌های هیدروکسیل-1 در اثر مصرف اتانول کاهش می‌یابد. اگرچه نتایج متضادی درباره تأثیر مکمل‌های ویتامینی بر آسیب‌های ناشی از اتانول در رت‌ها وجود داشت [29،28]، نتایج مطاله اخیر، نشان می‌دهد که ویتامین C توانایی پیشگیری از ایجاد استرس اکسیداتیو در چشم رت‌ها را دارد. هرچند مقادیر 50 و 100 میلی‌گرم بر کیلوگرم ویتامین C قبل از اتانول فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی را در حد طبیعی نگه می‌دارد، ولی هنوز اختلاف معنی‌داری با حیوانات گروه کنترل دارد. در حالی که تیمار 200 میلی گرم بر کیلوگرم ویتامین C، به مدت 30 روز در گروه اتانول به وضوح از تغییر در این آنزیم‌ها پیشگیری می‌کند. این یافته‌ها با نقش ویتامین C در زدودن پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های آزاد دیگر مطابقت دارد [30].

مقادیر50 و 100 میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن ویتامین C مقدار MDA حاصل از مصرف اتانول در رت‌ها را کاهش می‌دهد اما این مقادیر نمی توانند بطور کامل مانع از پراکسیداسیون لیپیدی حاصل از اتانول شوند. این مطلب گزارش شده بود که ویتامینC می‌تواند آلفا توکوفرول را از نوع رادیکالی توکوفرول بازسازی کند که نتیجه آن کاهش سطح پراکسیداسیون لیپیدی است [27]. بعلاوه در گروه‌های کنترل غیر الکلی که 200 mg/kg ویتامین C دریافت کرده بودند فعالیت آنزیم‌ها با تثبیت آنتی‌اکسیدان‌های درونی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی و بهبود دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی نسبت به گروه‌های دیگر ویتامین C افزایش داشته است.

مدارک نشان می‌دهد که اتانول می‌تواند هر دو ایزو فرم سیتوکروم450 P، CYP2E1 و CYP2A5 را احیا کند[31]. CYP2E1 یک مولد فعال ROS و سبب آسیب اکسیداتیو الکلی می‌شود [30]. هر چند CYP2A5 از آسیب اکسیداتیوی که اتانول در کبد ایجاد می‌کند، به واسطه فعال سازی (که یک فاکتور رونویسی آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی که شامل$SOD_{1,2}$, CAT, GPX است) محافظت می‌کند [32،31] در مطالعه اخیر نشان داده شد که این موازنه را افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تغییر می‌دهد. همچنین گزارش شده که بعضی آنتی‌اکسیدان‌ها شامل N-استیل سیستیین و کیورسیتین فعالیت محافظتی بر استرس اکسیداتیو حاصل از اتانول را به واسطه مسیر سیگنالینگ Nrf_2 در سلول‌های کبدی کشت شده، نشان می‌دهد. در این رابطه تجویز خوراکی N-استیل سیستیین باعث کاهش سمیت اکسیدانی ناشی از اتانول در بافت چشم شده است [33].

در پایان، این گزارش ابتدا اثرات محافظتی ویتامین C در اختلال آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی ازمصرف اتانول در چشم را نشان می‌دهد. نتایج حاکی از آن است که برخی تیمارها می‌تواند از بر هم خوردن تعادل اکسیداسیون احیا ی ناشی از مصرف مزمن اتانول در چشم رت‌ها به وسیله افزایش دفاع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و مهار پراکسیداسیون لیپیدی حفاظت کنند.

مکمل‌های ویتامینی نسبت به داروهای شیمیایی، ممکن است فاقد اثرات جانبی جدی باشند [27]، بنابراین این ویتامین‌های آنتی‌اکسیدانی ممکن است یک پتانسیل درمانی جدید برای پیشگیری از مسمومیت در مواجهه با اتانول باشند که نیاز به تأیید توسط آزمایش‌های بالینی

بعدی دارد.

5- منابع

[1] Ambadath V, Venu RG, Madambath I. Comparative Study of the Efficacy of Ascorbic Acid, Quercetin, and Thiamine for Reversing Ethanol-Induced Toxicity. J Med Food. 2010; 13:1485-1459.

[2] Sahin A, Kaya S, Türkcü G, Cingü AK, Yüksel H, Türkcü FM et al. The effects of caffeic acid phenethyl ester in acute methanol toxicity on rat retina and optic nerve. Cutan Ocul Toxicol. 2013; 32: 263-267.

[3] Kowluru RA. Effect of reinstitution of good glycemic control on retinal oxidative stress and nitrative stress in diabetic rats. Diabetes 2003; 52: 818–823.

[4] Belda, JI, Rom´a J, Vilela C, Puertas FJ, Díaz-Llopis M, Bosch-Morell F et al. Serum vitamin E levels negatively correlate with severity of age-related macular degeneration. Mech Ageing Dev. 1999; 107: 159–164.

[5] Bosch-Morell F, Rom´a J, Marin N, Romero B, Rodriguez-Galietero A, Johnsen-Soriano S et al. Role of oxygen and nitrogen species in experimental uveitis: Anti-inflammatory activity of the synthetic antioxidant ebselen. Free Radic Biol Med. 2002; 33: 669–675.

[6] Xu BJ, Zheng YN, Sung CK. Natural medicines for alcoholism treatment: a review. Drug Alco Rev. 2005; 24: 525–536.

[7] Kiefer F, Wiedmann K. Combined therapy: what does acamprosate and naltrexone tell us? Alcohol Alcohol. 2004; 39: 542–547.

[8] Alimi H, Hfaeidh N, Bouoni Z, Sakly M, Rhouma KB. Ameliorative effect of Opuntia ficus indica juice on ethanol-induced oxidative stress in rat erythrocytes. Exp Toxicol Pathol. 2013; 65: 391-396.

[9] Ambadath V, Venu RG, Madambath I. Comparative study of the efficacy of ascorbic acid, quercetin, and thiamine for reversing ethanol-induced toxicity. J Med Food. 2010 ; 13:1485-1489.

[10] Abhilash PA, Harikrishnan R, Indira M. Ascorbic acid is superior to silymarin in the recovery of ethanol-induced inflammatory reactions in hepatocytes of guinea pigs. J Physiol Biochem. 2013; 69: 785-798.

[11] Jelodar G, Akbari A, Nazifi S. The prophylactic effect of vitamin C on oxidative stress indexes in rat eyes following exposure to radiofrequency wave generated by a BTS antenna model. International Journal of radiation biologyl. 2013; 89:128-131.

[12] Hegde KR, Varma SD. Protective eff ect of ascorbate against oxidative stress in the mouse lens. Biochim Biophys Acta .2004; 1670: 12–18.

[13] Balci M, Namuslu M, Devrim E, Durak I. Effects of computer monitor-emitted radiation on oxidant/antioxidant balance in cornea and lens from rats. Mol Vis. 2009; 15: 2521 - 2525.

[14] Harikrishnan R, Abhilash PA, Syam Das S, Prathibha P, Rejitha S, John F et al. Protective effect of ascorbic acid against ethanol-induced reproductive toxicity in male guinea pigs. Br J Nutr. 2013; 110: 689-698.

[15] Sönmez MF, Narin F, Akkuş D, Türkmen AB. Melatonin and vitamin C ameliorate alcohol-induced oxidative stress and eNOS expression in rat kidney. Ren Fail. 2012; 34: 480-486.

[16] Sönmez MF, Narin F, Balcioğlu E. Melatonin and vitamin C attenuates alcohol-induced oxidative stress in aorta. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2009; 105: 410-415.

[17] Stojiljkovic N, Stoiljkovic M, Randjelovic P, Veljkovic S, Mihailovic D. Cytoprotective effect of vitamin C against gentamicin-induced acute kidney injury in rats. Exp Toxicol Pathol. 2012; 64: 69-74.

[18] Bourogaa E, Jarraya RM, Damak M, Elfeki A. Hepatoprotective activity of *Peganum harmala* against ethanol-induced liver damages in rats. Arch Physiol Biochem. 2015; 121:62-۶۷.

[19] Hasanein P, Seifi R, Hajinezhad MR, Emamjomeh A. Rosmarinic acid protects against chronic ethanol-induced learning and memory deficits in rats. Nutr Neurosci. 2016:1-8. [Epub ahead of print]

[20] Moore K, Roberts LJ. Measurement of lipid peroxidation. Free Rad Res. 1998; 28: 659-671.

[21] Claiborne A. Catalase activity. In: Greenwald RA (ed) CRC handbook of methods for oxygen radical research, CRC, Boca. Raton., 1985; 283–284.

[22] Wu D, Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress, and free radical damage. Alcohol Res Health. 2003; 27: 277-284.

[23] Bogdanska J, Todorova B, Labudovic D, Korneti PG. Erythrocyte antioxidant enzymes in patients with alcohol dependence syndrome. Bratisl lek Listy. 2005; 3: 107–113.

[24] Smathers RL, Galligan JJ, Stewart BJ, Petersen DR. Overview of lipid peroxidation products and hepatic protein modification in alcoholic liver disease. Chem Biol Interact. 2011; 192:107-112.

[25] Johnsen-Soriano S, Bosch-Morell F, Miranda M, Asensio S, Barcia JM, Romá J et al. Ebselen prevents chronic alcohol-induced rat hippocampal stress and functional impairment. Alcohol Clin Exp Res. 2007; 31: 486–492.

[26] Aviñó J, Díaz-Llopis M, España E, Johnsen-Soriano S, Romero B, Marín N et al. Chronic ethanol feeding induces oxidative stress in the optic nerve of rats. Arch Soc Esp Oftalmol. 2002; 77: 263–268.

[27] Traber MG, Stevens JF. Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. Free Radic Biol Med. 2011; 51: 1000-1013.

[28] Porta EA. Dietary modulation of oxidative stress in alcoholic liver disease in rats. J Nutr 1997; 127: 912S-915S.

[29] Lee SJ, Kim SY, Min H. Effects of vitamin C and E supplementation on oxidative stress and liver toxicity in rats fed a low-fat ethanol diet. Nutr Res Pract 2013; 7: 109-114.

[30] Ojha R, Prasad R, Manzoor N, Khan LA. Vitamin C modulates oxidative stress related enzyme activities in Candida albicans. Turk J Biochem. 2010; 35: 35 - 40.

[31] Leung TM, Lu Y. Alcoholic liver disease: from CYP2E1 to CYP2A5. Curr Mol Pharmacol. 2015 Aug 17. [Epub ahead of print]

[32] Cederbaum AI. Nrf2 and antioxidant defense against CYP2E1 toxicity. Subcell Biochem. 2013; 67: 105-130.

[33] Parnell SE, Sulik KK, Dehart DB, Chen SY. Reduction of ethanol-induced ocular abnormalities in mice through dietary administration of N-acetylcysteine. Alcohol. 2010; 44: 699-705.