دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هفدهم– شماره ۸۶
اردیبهشت ۱۳۸۹

وصول: ۸۸/۸/۱
آخرین اصلاحات: ۸۹/۲/۲۰
پذیرش: ۸۹/۲/۲۵

اثر فقرغذایی، نابرابری و تبعیض و بی ثباتی در موقعیت اجتماعی بر ایجاد آسیب سلولی در عضله قلب خرگوش نر سفید نیوزلندی

دکتر محمدرضا واعظ مهدوی*[۲]، شهناز مجرب[۱]، دکتر تقی الطریحی[۳]، دکتر مهرداد روغنی[٤]، دکتر سقراط فقیه‌زاده[٥]، دکتر مجید حسن‌پورعزتی[٦]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد زیست‌شناسی،دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد
۲- دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد؛ گروه پژوهشی عدالت در سلامت، مرکز تحقیقات پزشکی دانشگاه شاهد
۳-استاد آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
٤- دانشیار فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد
٥- استاد آمار زیستی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس
٦- استادیار زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شاهد
* نویسنده مسئول: Email:vaezmahdavi@shahed.ac.ir

چکیده

مقدمه و هدف: محرومیت و نابرابری‌های اجتماعی ارتباط تنگاتنگی با سطح سلامت جوامع و افراد دارد. نشان داده شده که بین فقر و نابرابری با بیماری و امید به زندگی رابطه معناداری وجود دارد. این که فقر و نابرابری از طریق کدام گروه از مکانیزم‌های بیولوژیک می‌تواند سبب بروز آثار پاتولوژیک شود و این که کدام یک از مکانیسم‌های مربوط به « شیوه زندگی» ، « فقر» ، ویا « استرس‌های اجتماعی » ، عامل ایجاد این آثار است، محل تردید است. مطالعه حاضر اهتمام به طراحی مدلی حیوانی از نابرابری در دریافت غذا به همراه ناپایداری در شرایط اجتماعی کرده است تا ضمن بررسی آثار هیستوپاتولوژیک فقر غذایی، تبعیض و عدم ثبات اجتماعی بر عضله قلب خرگوش، نقش هر یک از عوامل یادشده در تجمع رنگدانه لیپوفوشین در عضله قلب به‌عنوان فاکتور تسریع‌کننده پیری سلولی (براساس مطالعات گذشته) را نیز مورد ارزیابی قرار دهد.

مواد و روش کار: ۵۴ سر خرگوش در شش گروه مختلف مورد استفاده قرار گرفت. استرس محرومیت از غذای کامل و عدم ثبات در مکان زندگی و همخانه به مدت ده هفته به روش‌های مختلف در گروه‌ها اعمال و در طول دوره تغییرات وزن ثبت و نمونه خون گرفته شد. سپس خرگوش‌ها بیهوش شده و پس از پرفیوژن بافتی ، عضله قلب با محلول فیکساتیو جدا شد. سپس، مراحل پاساژ بافتی برای مشاهده میزان تجمع رنگدانه لیپوفوشین و سایر تغییرات بافتی با میکروسکوپ نوری و الکترونی انجام گرفت. در تحلیل نتایج با توجه به ساختار غیرپارامتریک یافته‌ها از آزمون‌های آماری Mann-Whitney و Kruskal-Wallis استفاده شد.

نتایج: نابرابری در دریافت غذا به همراه ناپایداری در شرایط اجتماعی، سبب تجمع بیشتر گرانول‌های لیپوفوشین و پیری زودرس سلولی در مقایسه با گروه کنترل شد ($P<0.05$). این امر حتی در شرایطی که ناپایداری اجتماعی بدون محرومیت غذایی اعمال شد، نسبت به گروه کنترل معنادار بود ($P<0.05$). ناپایداری در شرایط اجتماعی چنانچه همراه با محرومیت از غذا همراه شود، لیپوفوشین بیشتری را نسبت به شرایطی که صرفاً محرومیت غذایی اعمال شود، ایجاد می‌کند ($P<0.05$). در بررسی نمونه‌های بافتی با میکروسکوپ الکترونی پیدایش رنگدانه لیپوفوشین در شرایط آزمایش، احراز شد.

نتیجه‌گیری: عدم ثبات در موقعیت اجتماعی و تغییر در مکان زندگی و همخانه و استرس‌های اجتماعی متعاقب آن می‌تواند زمینه‌ساز پیدایش علائم استرس اکسیداتیو و بروز پیری زودرس در سلول‌های قلبی شود و اگر این شرایط به همراه محرومیت غذایی و احساس نابرابری و تبعیض باشد، اثرات فوق به شدت تشدید می‌شود.

واژگان کلیدی: نابرابری، فقر غذایی، شرایط اجتماعی، پیری، لیپوفوشین، قلب، خرگوش

مقدمه

تحقق عدالت اجتماعی یکی از اهداف مهم در برنامه‌ریزی‌های اجتماعی تلقی می‌شود. به لحاظ نظری عدالت یک مفهوم آرمانی جهانی و مفهومی‌منطبق با فطرت بشری است که جوامع مختلف برای تحقق آن تلاش می‌کنند. عدالت به مثابه عامل پایداری و بقاء اجتماع و حتی کل جهان، تلقی می‌شود «بالعدل قامت السماوات و الارض» و بدون وجود آن بقاء ملک و دولت میسر نیست «الملک یبقی مع الکفر و لا یبقی مع الظلم». نابرابری در سلامت و جنبه‌های متعدد آن بعد مهمی‌از بی‌عدالتی اجتماعی را تشکیل می‌دهد.

مطالعات متعددی نشان داده‌اند، سلامت روحی و جسمی‌افراد در بزرگسالی پدیده‌ای مستقل از دوران کودکی نیست. بخش مهمی‌از تجربیات دوران کودکی، مرتبط با موقعیت اجتماعی- اقتصادی والدین است. سطح سواد، میزان درآمد، محیط زندگی اعم از محیط فیزیکی خانه، محله، شهر، نحوه ارتباط با همسایگان، اعتیاد والدین، مناقشات خانوادگی، وجود خدمات مربوط به سلامت و بهره‌مندی از آن‌ها همه عواملی هستند که موقعیت اقتصادی و اجتماعی فرد را در دوران بزرگسالی تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱). در حقیقت، محرومیت از منابع ثروت و فرصت‌ها همیشه به مثابه دور باطلی است که بر پیکر سلامت ضربات جبران‌ناپذیری وارد می‌کند. به همین دلیل، افرادی که از موقعیت اقتصادی و اجتماعی پایین‌تری در جامعه برخوردار هستند، میزان مرگ‌ومیر بالاتر و امید به زندگی کمتری دارند. این مطلب که به گرادیان اجتماعی در سلامت معروف است، در گروه‌های مختلف سنی و با شاخص‌های متفاوت از موقعیت اقتصادی و اجتماعی در جوامع مختلف تحت بررسی قرار گرفته است (۲،۳). ظلم و بی‌عدالتی با تشدید اختلافات طبقاتی بر حیات طبقات محروم سایه شومی‌انداخته است که ابتدا آن‌ها را از مواهب معمول زندگی محروم می‌کند. سپس با ایجاد استرس‌های گوناگون محیطی، پتانسیل بالقوه آن‌ها را برای ادامه حیات نشانه گرفته و کهولت و ناتوانی زودرس را بر آن‌ها تحمیل می‌کند که حاصل روند طبیعی حیات نیست، بلکه نتیجه انباشتگی اثرات زیانبار انواع استرس‌هایی است که به دلیل بی‌عدالتی بر پیکر آن‌ها فرود آمده است.

به منظور ارزیابی اثرات ارگانیک فقر و موقعیت اجتماعی، مدلی حیوانی طراحی شد که با اعمال استرس‌هایی مانند نابرابری در دریافت موادغذایی و ناپایداری در شرایط اجتماعی، اثرات زیانبار استرس‌های مذکور بر تغییرات بافتی عضله میوکارد قلب خرگوش نر سفید نیوزلندی مورد مطالعه قرار گیرد. این کوشش ادامه پژوهش‌هایی است که قبلاً در دانشگاه شاهد صورت گرفته است (٤) و با ارتقاء مدل، به شرایط اجتماعی نیز توجه شده و آثار هر دو نوع استرس، منفرد یا به صورت تجمعی مورد مقایسه قرار گرفته است.

مطالعات تجربی با مدل‌های حیوانی نشان می‌دهد، حیوان نیز مانند انسان نسبت به نابرابری واکنش منفی نشان می‌دهد. در مطالعه‌ای که دکتر سارا بروسان[1] روی ده میمون نر و ماده انجام داد، نشان داده شد، اگر برای حیوان‌های یک گروه در صورت انجام عملی خاص جایزه معینی تعیین شود و عمل دادن جایزه تکرار شود، در صورتی که به یک حیوان در گروه که همان عمل را انجام می‌دهد، جایزه‌ای داده شود که با جایزه دیگر اعضا گروه متفاوت باشد، حیوان در واکنش به این بی‌عدالتی حاضر به دریافت جایزه نخواهد شد (۵).

استرس‌های روحی می‌تواند روند بیماری آرترواسکلروزیس را در میمون‌ها تسریع کند (٦). همچنین در خرگوش‌هایی که به لحاظ ژنتیکی در کلیرانس لیپوپروتئین نقصان دارند، استرس‌های محیطی می‌تواند روند آرترواسکلروزیس را در حیوان‌های تحت استرس تشدید کند (۷).

در مدل‌های انسانی نیز دنیس رافائل[2] طی گزارشی در سال ۲۰۰۲ با عنوان طنزآمیز «عدالت برای قلب‌های مان خوب است» تشریح کرد، ۲۲ درصد از سال‌های

1- Sara Brasnan
2- Dennis Raphael

زندگی که قبل از سن ۷۵ سالگی از دست می‌رود، ناشی از تفاوت در درآمد است. وی در گزارش خود متذکر شد، «وضعیت اجتماعی و اقتصادی که مردم در آن زندگی می‌کنند و نه درمان‌های طبی و شیوه‌های زندگی به‌کار گرفته شده، عواملی اصلی و تعیین‌کننده در بروز بیماری‌های قلبی عروقی در افراد است» (۸).

بسیاری از مطالعات بر وقوع بعضی از بیماری‌ها به خصوص بیماری‌های قلبی و عروقی با حضور رادیکال‌های آزاد و پدیده استرس اکسیداتیو تأکید کرده‌اند و روشن شده است که استرس‌های گوناگون از جمله شرایط روحی و روانی به عنوان منابع ایجاد رادیکال‌های آزاد در ارگانیسم‌های زنده عمل می‌کنند. همچنین تاریخچه مطالعه روی استرس اکسیداتیو و رادیکال‌های آزاد با تحقیق درباره پدیده «aging» و بیولوژی وقوع آن در سلول مرتبط است (۹).

یکی از مهم‌ترین یافته‌های پس از میتوز در سلول‌های پیر، تجمع پروتئین‌های به شدت اکسیدشده به نام لیپوفوشین است. پروتئین‌های درون لیپوفوشین با اتصالات درون مولکولی یا خارج مولکولی متصل شده‌اند که شامل محصولات اکسیداسیون هستند. تجمع درون‌سلولی لیپوفوشین حاصل واکنش‌های پیچیده سلولی است که با بسیاری از بخش‌ها و آنزیم‌های درون سلول و ضایعات مربوط به آن‌ها مرتبط است. سرعت شکل‌گیری لیپوفوشین با طول عمر سلول‌های پس از میتوز رابطه عکس دارد و در سلول‌های پیر افزایش می‌یابد. ثابت شده که بالا رفتن سرعت تشکیل لیپوفوشین در طول زمان، پتانسیل بالقوه سلول را برای حیات کاهش می‌دهد. امروزه نشانه‌های بسیاری وجود دارد که استرس اکسیداتیو عامل اصلی در شکل‌گیری لیپوفوشین در سلول‌های عصبی به خصوص در زمان پیری است. بنابراین یکی از شاخص‌های اساسی وقوع پیری، تجمع گرانول‌های پیگمنتی لیپوفوشین قلمداد شده است (۱۰،۱۲،۱۱).

مواد و روش‌ها

حیوان‌های مورد مطالعه ٥٤ سر خرگوش نر سفید نیوزلندی بودند که در حدود هشت هفته طول کشید تا به وزن مطلوب رسید و همه در موقعیت مشابه قرار گرفتند. در این مدت، خوراک روزانه آن‌ها وزن می‌شد و محدودیتی به لحاظ دریافت غذا و آب نداشتند.

پس از شروع دوره مطالعه، چهار استرس مختلف به شرح زیر به گروه‌های آزمایش اعمال شد.

محرومیت از غذای کامل روزانه که با اندازه‌گیری اولیه میزان غذای روزانه در حیوان و کاهش آن به میزان یک‌سوم (برای هر حیوان پنجاه گرم) در نظر گرفته شد.

تغییر در موقعیت اجتماعی از طریق «محرومیت داشتن هم‌خانه ثابت» به طوری که هر دو هفته یک‌بار هم‌خانه حیوان تغییر می‌کرد و حیوان مجبور بود خود را با شرایط جدید هماهنگ کند.

قرار گرفتن حیوان‌های محروم از غذای کامل در محیط حیوان‌هایی که از غذای کامل برخوردار بودند، برای مقایسه با گروهی که در اتاق جدا نگهداری می‌شدند و غذا خوردن دیگران را نمی‌دیدند (گروه ایزوله) (۵،٦،۷).

شرایط گروه‌ها

گروه ۱. به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد، هیچ‌گونه استرسی به این گروه اعمال نمی‌شد و در تمام طول دوره مطالعه از غذای کامل برخوردار بوده، هم‌خانه ثابت داشتند. گروه شاهد در کنار سایر گروه‌ها در یک اتاق قرار داشت. هر حیوان به میزان ۱۵۰ گرم در روز غذا دریافت می‌کرد (بدون محدودیت).

گروه ۲. محروم از غذای کامل بود. هر حیوان در روز پنجاه گرم غذا دریافت می‌کرد، اما هم‌خانه آن‌ها ثابت بود و در کنار سایر گروه‌ها قرار داشتند (محرومیت از غذا + مواجهه).

گروه ۳. محروم از غذای کامل بودند. هر حیوان در روز پنجاه گرم غذا دریافت می‌کرد. هم‌خانه آن‌ها ثابت نبود و هر دو هفته یک‌بار مکان حیوان تغییر می‌کرد و در کنار حیوان جدید از گروه خود قرار می‌گرفت. این

گروه نیز در کنار سایر گروه‌ها در اتاق قرار داشتند (محرومیت از غذا + مواجهه + تغییر در موقعیت اجتماعی).

گروه ٤. شرایطی مانند گروه سوم داشتند، با این تفاوت که هر سه استرس گفته‌شده، یعنی محرومیت از غذای کامل، نداشتن هم‌خانه ثابت و قرار گرفتن در کنار گروه‌های بر خوردار از غذا تنها در نصف دوره مطالعه اعمال شد.

گروه ٥، محروم از غذای کامل بودند، یعنی پنجاه گرم غذا برای هر حیوان، هم‌خانه حیوان در گروه ثابت نبود و هر دو هفته یک‌بار تغییر می‌کرد. حیوان‌های این گروه در اتاق ایزوله قرار داشتند، درب اتاق بسته بود، به‌طوری که بوی غذای گروه‌های برخوردار از غذا به درون اتاق راه پیدا نکند (محرومیت از غذا + تغییر در موقعیت اجتماعی، بدون مواجهه).

گروه ٦. برخوردار از غذای کامل بودند، اما هم‌خانه آن‌ها مرتب تغییر می‌کرد (هر دو هفته یک‌بار) و در کنار چهار گروه دیگر قرار داشتند (تغییر در موقعیت اجتماعی بدون محرومیت از غذا).

در طول ده هفته دوره مطالعه حیوان‌ها در هر گروه سه بار وزن شده و نمونه خون به منظور اندازه‌گیری گلوکز، تری‌گلیسرید و کلسترول گرفته شد. اقدامات فوق در آغاز، میان و پایان دوره انجام گرفت و نتایج ثبت گردید.

پس از پایان ده هفته، در حیوانات تحت بیهوشی با اتر، پرفیوژن بافتی انجام گرفت. به این ترتیب که با وارد کردن کتتر به بطن چپ حیوان، ابتدا با محلول سالین نُه درصد بافت‌ها را شست‌شو داده و سپس با محلول فیکساتیو چهار درصد در بافر فسفات ۰/۱ مولار، بافت‌ها فیکس شدند. پس از آن قلب حیوان را به‌طور کامل بیرون آورده، وزن شد و از بطن چپ برشی به اندازه یک تا دو میلی‌متر تهیه شد و برای بررسی با روش TEM[3] مراحل آماده‌سازی انجام پذیرفت. در بررسی با میکروسکوپ الکترونی، هدف مشاهده گرانول لیپوفوشین به لحاظ کیفی بود و مقایسه کمی در نظر نبود. همچنین از قسمت‌های مختلف قلب که شامل بطن چپ و راست و دهلیز چپ و راست بود، برش‌های بافتی به منظور بررسی با میکروسکوپ نوری جدا شد. در این روش از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین (H&E) استفاده شد.

پس از آماده‌سازی برش‌های بافتی، بررسی اولیه صورت پذیرفت. تفاوت بارزی در تجمع رنگ‌دانه‌های لیپوفوشین در نمونه‌ها مشاهده شد. تجمع رنگ‌دانه‌ها را درجه‌بندی کرده، برای حداقل تجمع عدد صفر و برای حداکثر آن عدد پنج در نظر گرفته شد و برای سایر مقادیر تجمع برحسب میزان لیپوفوشین مشاهده شده، بین +۱ و +٤ در نظر گرفته شد (۱۱). در بررسی‌های بعدی، تغییرات بافتی دیگری مورد توجه قرار گرفت. این تغییرات شامل ادم، آتروفی عضله قلب، فیبروزیس، تغییر اندازه هسته سلول (کوچک شدن هسته) و حتی آپوپتوزیس بود. تمامی‌تغییرات مزبور به لحاظ کمی‌نمره‌دهی شد (۱۱،۱۲).

اطلاعات آماری با نرم‌افزارSPSS/13 تحلیل شد و آزمون‌های آماری Kruskal-Wallis بین گروه‌ها و Mann-Whitney برای مقایسه هر دو گروه با هم انجام گرفت و اثربخش بودن مداخلات آزمون شد.

نتایج

میکروسکوپ نوری

گروه اول. (کنترل) نمونه‌های تهیه‌شده از حیوانات این گروه، دارای حداقل یا حتی بدون هیچ اثری از لیپوفوشین بود (تصویر۱) (A, B).

گروه دوم. دراین گروه تجمع رنگ‌دانه لیپوفوشین به میزان بسیار کم و میزان آتروفی کم بود، اما هسته سلول‌ها کوچک شده و بیشترین میزان ادم مشاهده می‌شد. فیبروسیس و مرگ سلولی به میزان کم مشاهده شد (تصویر۱) (C, D). میزان گرانول لیپوفوشین در این گروه با گروه شاهد تفاوت معناداری نداشت، در حالی که با گروه سه به لحاظ آماری معنادار بود ($P<0.05$ ؛ دیاگرام۱).

1- Transmission Electron Microscopy

گروه سوم. در این گروه تجمع رنگ‌دانه لیپوفوشین به میزان بسیار زیاد و بیش از سایر گروه‌ها ($P<0.05$ در مقایسه با گروه ۱و ۲و ٤ ؛ دیاگرام۱). همچنین میزان آتروفی زیاد بوده، هسته سلول‌ها کوچک شده، ادم و فیبروز مشاهده شد. مرگ سلولی تنها در این گروه دیده می‌شود (تصویر۲) (E, F).

گروه چهارم. در این گروه ما شاهد تجمع کمتر گرانول لیپوفوشین هستیم. تغییرات در هسته سلول کم و آتروفی به میزان کمی‌دیده می‌شود. ادم، فیبروز و مرگ سلولی نیز وجود ندارد (تصویر۲) (G, H).

گروه پنجم. در این گروه تغییرات بافتی مشابه با گروه سوم است. لیپوفوشین بیشتری نسبت به گروه شاهد تجمع یافته ($P<0.05$ ؛ دیاگرام۱)، اما مرگ سلولی دیده نمی‌شود (تصویر۳) (I, J).

گروه ششم. تغییرات بافتی مشاهده‌شده در این گروه، شامل گرانول‌های لیپوفوشین به میزان زیاد ($P<0.05$ نسبت به گروه کنترل؛ دیاگرام۱)، تغییر در اندازه هسته اندک و آتروفی به میزان کم بود (تصویر۳) (K, L).

میکروسکوپ الکترونی

هدف مشاهده گرانول‌های لیپوفوشین یا مراحل اولیه شکل‌گیری این گرانول‌ها به منظور ایجاد اطمینان در احراز پیدایش لیپوفوشین بود. نتیجه بررسی با میکروسکوپ الکترونی، وجود گرانول‌های لیپوفوشین را که با شدت بیشتر در گروه سه مشاهده می‌شد احراز کرد (تصویر٤) (M,N).

بحث

مقایسه بین گروه‌ها در شش فاکتور پاتولوژیک بافتی به وسیله آزمون Kruskal-Wallis گواه بر تفاوت‌های معنادار بین گروه‌ها با توجه به تعدادی از فاکتورهای مورد مطالعه بود ($p<0.001$).

بین استرس و ایجاد تغییرات پاتولوژیک بافتی و به عبارت دیگر، تسریع در روند پیری «aging» حلقه بیولوژیکی وجود دارد، به نحوی که پیری بیولوژیکی به دلیل اختلال و انباشتگی فرآورده‌های متابولیک درون سلول و این امر نیز در تعادل با مکانیزم‌های دفاع سلولی بیان شده است (۱۲).

عوامل اثرگذار بر تسریع روند پیری بیولوژیک متفاوت هستند، اما همگی از مسیر اختلال در مکانیسم‌های درون‌سلولی ایجاد ضایعات انباشته و ناکارآمد شدن مکانیزم‌های محافظتی درون سلول اثر خود را اعمال می‌کنند. از سال‌ها قبل، بافت‌شناسان گرانول‌های پیگمنتی را درون سلول‌های عصبی مشاهده کردند که به موازات افزایش سن در حیوانات و انسان مشاهده می‌شدند. انباشتگی درون‌سلولی این پیگمنت‌ها در رابطه با سن، نتیجه تغییرات بارز در فیزیولوژی سلول و انحطاط و عدم توانایی سلول در پالایش این پیگمان، اساس پدیده پیری دانسته شده است (۱۳).

مطالعات بیوشیمیایی دیگر پیشنهاد کردند، گرانول‌های لیپوفوشین در سیتوپلاسم سلول‌های عصبی با افزایش سن در تحت شرایط خاص شکل می‌گیرد. علاوه بر این، شروع رسوب و اساس مورفولوژیکی و بیوشیمیایی این پیگمنت‌ها حتی در سنین بالا به‌طور قابل توجهی در گروه‌های مختلف سلول‌های عصبی متفاوت است و حتی در گروه‌های مشابه سلولی نیز تفاوت وجود دارد. تجمع لیپوفوشین به دلیل ضایعات اکسیداتیو مداوم یا استرس احتمالاً به وسیله حضور سیستم آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سلول‌های قلب تحت تأثیر قرار می‌گیرد، به نحوی که کاهش فعالیت یا حضور مداوم آنزیم‌های ترمیمی‌اکسیداتیو بر روند ضایعات اکسیداتیو در پدیده «aging» اثر دارد و تجمع گرانول‌های لیپوفوشین را به دنبال می‌آورد. در قلب در بیماری «Brown Atrophy» حضور این گرانول‌ها به وضوح و با مقادیر افزایش یافته، مشاهده می‌شود (۱۵).

توانایی پاسخ مناسب به استرس‌های اکسیداتیو با افزایش سن کاهش می‌یابد. بنابراین سلول‌های پیرتر برای ضایعات اکسیداتیو مستعدتر هستند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون، پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز با توجه به سن در موش‌ها کاهش می‌یابند (١٦).

همچنین تجمع نورونی گرانول‌های لیپوفوشین در شرایط استرس پایدار در سلول‌های عصبی به وقوع می‌پیوندد. تفاوت در حضور آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پایه انباشتگی ضایعات و ترکیبات سلولی اکسیداتیو مانند لیپوفوشین است. بنابراین لیپوفوشین‌ها می‌توانند مارکری برای ضایعات مداوم اکسیداتیو در سلول درنظر گرفته شوند (۱۶،۱۵).

مطالعات قبلی، پیدایش گرانول لیپوفوشین درشرایط وجود محرومیت در دریافت موادغذایی را نشان داده است. این موضوع در گروهی که تبعیض را احساس می‌کرد از گروهی که صرفاً محرومیت غذایی داشته است، بارزتر بوده، و در هر دو گروه از گروه شاهد بیشتر بوده است (٤). مهم‌ترین یافته ما در این مطالعه این است که تحت شرایط استرس ایجادشده، شکل‌گیری گرانول‌های لیپوفوشین تسریع شده است و به خصوص در شرایط فقدان ثبات اجتماعی، ایجاد این گرانول‌ها حتی از فقر و محرومیت غذایی نیز بیشتر بوده است. شاخص‌های بافتی در نظر گرفته‌شده، براساس تغییراتی است که در لام‌های تهیه‌شده به روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین (H & E) با میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی صد قابل رؤیت بوده است. اگرچه تمرکز مطالعه ما بر حضور لیپوفوشین و میزان تجمع آن بوده، اما سایر متغیرهای پاتولوژیک مانند ادم، آتروفی و ... یافتن ارتباط وقوع این تغییرات با شرایط متابولیسمی‌ناشی ازگرسنگی،و روحی روانی متأثر از بی ثباتی اجتماعی حیوان نیز شایان توجه است. وقوع آتروفی، ادم بافتی و فیبروزیس در حیوانی که در شرایط گرسنگی حاد قرار دارد، محتمل است. اما این تغییرات متابولیسمی‌هنگامی‌که حیوان در شرایط نابرابری قرار گرفت، به شکل تجمع بیشتر گرانول‌های لیپوفوشین و حتی مرگ سلولی تشدید شده و جالب‌تر این است که ناپایداری اجتماعی حتی در صورت عدم محرومیت از غذا سبب پیدایش این ضایعات بافتی شد.

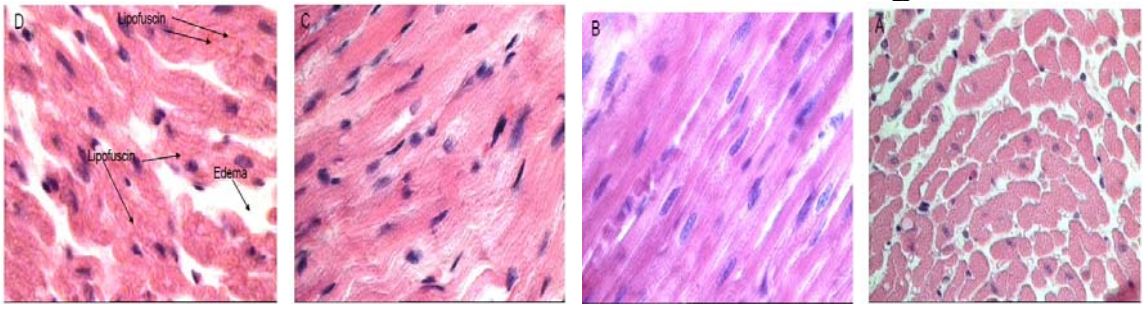
اولین هدف ما در این مطالعه، مقایسه بین تجمع گرانول‌های لیپوفوشین به‌عنوان یک نشان‌گر مهم بافتی از حضور استرس اکسیداتیو مداوم در شرایط مختلف از استرس اجتماعی بوده است. مقایسه گروهی که محرومیت غذایی به همراه ناپایداری در شرایط اجتماعی داشتند و حیوان این استرس‌ها را در محیطی تحمل می‌کرد که سایر حیوان‌های برخوردار از رفاه و آرامش نیز وجود داشتند (گروه سه)، با گروهی که در همین شرایط اما در محیط ایزوله قرار داشتند (گروه پنج)، نشان داد، میان این دو گروه (سه و پنج) از نظر آتروفی و فیبروسیس تفاوت چندانی نیست، اما میزان ادم در گروه پنج بیشتر و تغییر در اندازه هسته در گروه سه بیشتر است. تفاوت در میزان تجمع لیپوفوشین نیز وجود دارد و در گروه سه میزان آن بیشتر است. مطلب مهم این است که با وجود آن که این دو گروه از نظر محرومیت غذایی و موقعیت اجتماعی در شرایطی مشابه بوده‌اند، اما تفاوت در احساس محرومیت (در گروهی که سایر حیوانات غیرمحروم را مشاهده می‌کرده است، در مقایسه با گروهی که در شرایط تغذیه‌ای و اجتماعی مشابه اما در محیط ایزوله قرار داشته است) باعث شده تا در گروه سه که در اتاق همگانی قرار داشته، تغییرات بافتی بیشتری رخ دهد. پیدایش بارزتر گرانول‌های لیپوفوشین، نشان‌دهنده آسیب بیشتر مرتبط با استرس اکسیداتیو و پیدایش روند زودرسی از کهولت در سلول‌های میوکارد گروه مذکور است. این نتیجه تا حدودی می‌تواند اثر بارز «شاهد نابرابری بودن» را در این گروه توجیه کند (تصویر ٥). مقایسه گروه دو با سه نشان داد، اگرچه میزان ادم در برش‌های بافتی حاصل از بطن چپ در گروه دو در مقایسه با گروه سه (و نیز سایر گروه‌ها بیشتر است)، اما شدت تغییرات بافتی در تمام متغیرهای دیگر به خصوص ظهور کانون‌های مرگ سلولی در گروه سه بیشتر بوده است. در گروه دو تجمع گرانول لیپوفوشین تنها به میزان مختصری بیشتر از گروه شاهد و به میزان سه برابر کمتر از گروه سه و از نظر آماری معنادار ($p<0.05$) است. هر دو این گروه‌ها، از محرومیت غذایی رنج می‌برده و در عین حال در کنار سایر گروه‌ها بوده و شاهد نابرابری نیز بوده‌اند، اما در

ثبات موقعیت اجتماعی (یعنی عدم تغییر هم‌خانه؛ در گروه دو که در سرتاسر دوره هم‌خانه ثابت بوده و درگیری‌های درون گروهی آن‌ها حداقل بود، برخلاف گروه سه که هم‌خانه‌ها هر دو هفته یک‌بار تغییر می‌کرد) تفاوت داشته‌اند. تفاوت مشاهده شده در میزان تجمع لیپوفوشین، این احتمال را مطرح می‌کند که ثبات موقعیت اجتماعی و آرامش درون‌گروهی در گروه دو توانسته است اثر تنش ناشی از محرومیت غذایی را به حداقل برساند (تصویر ۵). مقایسه دو گروه دو و شش و همچنین گروه شش با گروه۱ (شاهد) نیز این مطلب را تأیید می‌کند. گروه شش هیچ‌گونه محرومیت غذایی نداشت (تفاوت با گروه دو) اما هم‌خانه آن‌ها هر دو هفته یک‌بار عوض می‌شد (تفاوت با گروه شاهد). نتایج حاصل از برش‌های بافتی حاصل از بطن چپ در این گروه نشان می‌دهد، تفاوت‌های بارز در آتروفی، تغییر در اندازه هسته سلول و به خصوص ادم در مقایسه با گروه شاهد وجود دارد که همه در گروه شش بیشتر است. اما نکته قابل توجه، میزان تجمع لیپوفوشین است. در اینجا تفاوتی نزدیک به دو و نیم برابر با گروه شاهد ($p<0.05$) و نیز نزدیک به یک و نیم برابر با گروه دو وجود دارد. این مطلب بیانگر این است که «عدم پایداری در شرایط اجتماعی» عاملی مهم در تجمع گرانول پیگمنتی لیپوفوشین درون بافت است (تصویر۵: B). مقایسه دو گروه دو و سه نیز مبین همین واقعیت است. مقدار نزدیک به سه برابری تجمع گرانول‌های لیپوفوشین در گروه سه در مقایسه با گروه دو که فاقد استرس‌های درون‌گروهی بوده‌اند ($p<0.05$) نشان می‌دهد، عدم پایداری در شرایط اجتماعی حتی بدون محرومیت غذایی توانسته است به عنوان یک منبع استرس زا در تجمع لیپوفوشین‌ها عمل کند و به این ترتیب زمینه را برای پیری زودرس سلولی فراهم کند. این مطلب نتیجه‌ی مهم در این مطالعه به شمار می‌رود (تصویر ۵: B).

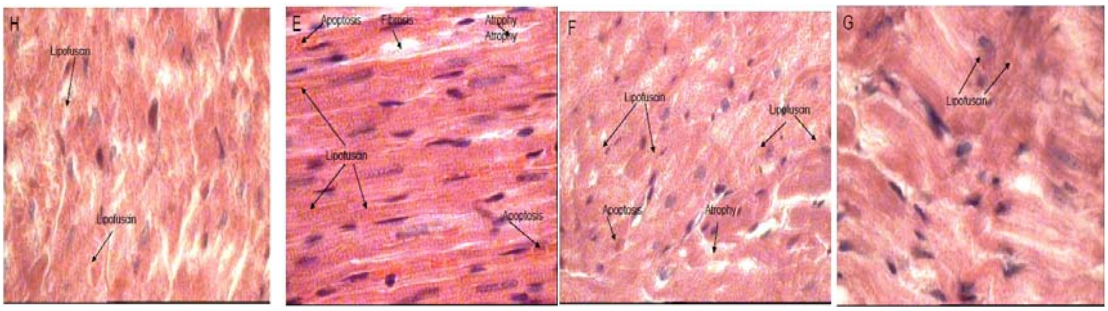
در گروه چهار استرس‌های مذکور در نصف دوره اعمال شد. تفاوت‌هایی در اندازه هسته و ادم و همچنین تجمع بیشتر لیپوفوشین در مقایسه با گروه شاهد وجود دارد و این مطلب تأییدکننده اثر مداخلات مزبور حتی در همان مدت کوتاه است (تصویر۵).

بررسی وجود تغییرات بافتی در سایر قسمت‌های قلب

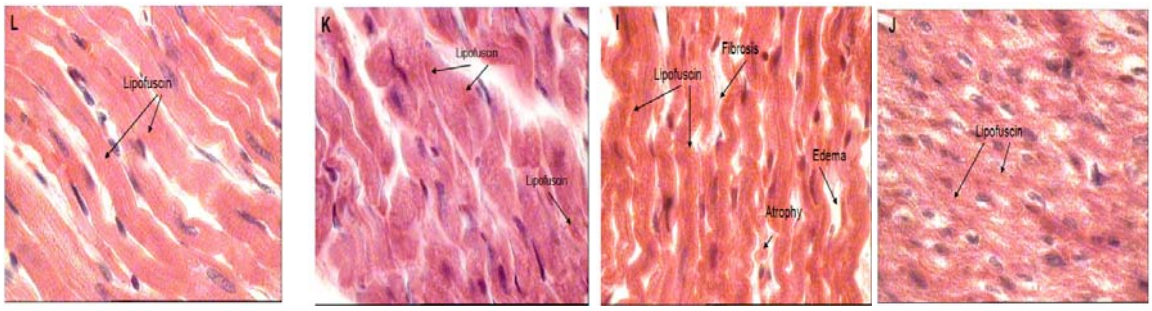
در بررسی سایر قسمت‌های قلب شامل دیواره بین دو بطن و دهلیز چپ و راست و بطن راست، در ناحیه دیواره بین دو بطن تفاوتی مشاهده نشد. در دهلیز چپ تفاوت‌هایی دیده شد، اما به لحاظ آماری چندان معنادار نبود و در دهلیز راست نیز تفاوت بین گروه‌ها ناچیز بود. در بطن راست هم در مقایسه با بطن چپ تغییرات اندک بود. بنابراین تغییرات واضح بافتی عمدتا" منحصر به سلول‌های بطن چپ مشاهده گردید.



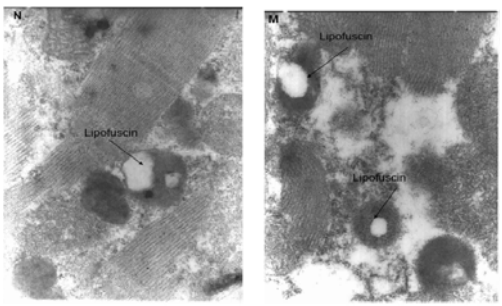
تصویر ۱. مقطع عرضی از عضله بطن چپ در گروه کنترل (A) و مقطع طولی از عضله بطن چپ در گروه کنترل (B)، ساختار نرمال را در این گروه نشان می‌دهد. مقطع طولی از عضله بطن چپ در گروه دوم (C) و مقطع عرضی از عضله بطن چپ در این گروه (D) گرانول‌های لیپوفوشین و ادم را در این گروه نشان می‌دهد. (رنگ‌آمیزی H&E، ۱۰۰×).



تصویر ۲. مقطع طولی از عضله بطن چپ در گروه سوم، گرانول‌های لیپوفوشین، آتروفی، فیبروسیس و کانونوژهای آپوپتوزیس را در این گروه نشان می‌دهد (E). مقطع عرضی از عضله بطن چپ در گروه سوم گرانول‌های لیپوفوشین، آتروفی و آپوپتوزیس را در این گروه نشان می‌دهد (F). مقطع طولی از عضله بطن چپ در گروه چهارم گرانول‌های لیپوفوشین را در این گروه نشان می‌دهد (G). مقطع عرضی از عضله بطن چپ در گروه چهارم گرانول‌های لیپوفوشین را در این گروه نشان می‌دهد (H) (رنگ‌آمیزی H&E، ×۱۰۰).



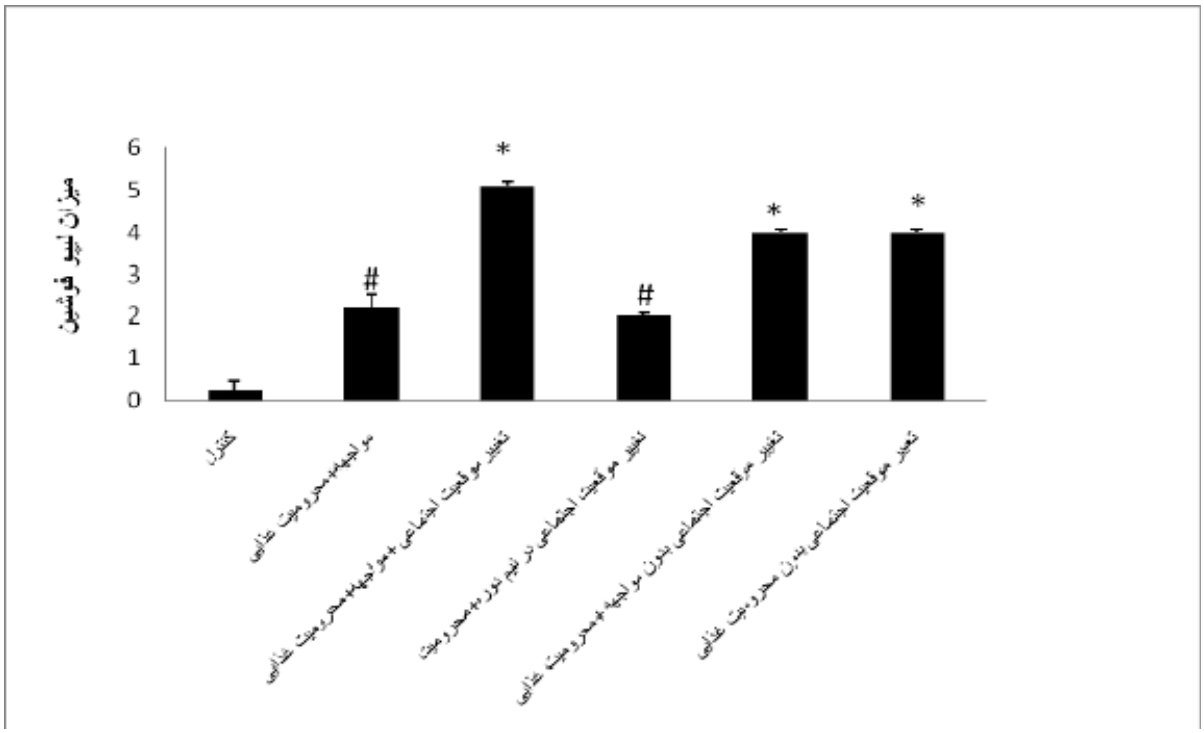
تصویر ۳. مقطع طولی از عضله بطن چپ در گروه پنجم، گرانول‌های لیپوفوشین، آتروفی، فیبروسیس و ادم را در این گروه نشان می‌دهد (I). مقطع عرضی از عضله بطن چپ در گروه پنجم گرانول‌های لیپوفوشین را در این گروه نشان می‌دهد (J). مقطع طولی از عضله بطن چپ در گروه ششم گرانول‌های لیپوفوشین را در این گروه نشان می‌دهد (K). مقطع عرضی از عضله بطن چپ در گروه ششم گرانول‌های لیپوفوشین را در این گروه نشان می‌دهد (L) (رنگ آمیزی H&E، ×۱۰۰).



تصویر ٤. تصویر الکترونی از عضله بطن چپ گروه سوم که گرانول‌های لیپوفوشین را نشان می‌دهد (M, N) (تصویر با روش TEM تهیه شده ،×۳۰۰۰۰).

قدردانی

گروه پژوهشی عدالت در سلامت مرکز تحقیقات علوم پزشکی دانشگاه شاهد، از همکاری صمیمانه گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی به خصوص سرکار خانم فریبا انصاری، همچنین بخش آناتومی‌این دانشکده تشکر می‌کند.



دیاگرام۱. مقایسه میزان پیدایش رنگدانه لیپوفوشین به‌عنوان شاخصی از پیری زودرس سلولی در گروه‌های مورد آزمایش: قرار گرفتن خرگوش‌ها در محیط نابرابر اجتماعی یا مواجهه با استرس، باعث تجمع بیشتر رنگدانه لیپوفوشین در تمامی‌گروه‌های مورد آزمایش نسبت به گروه نرمال (کنترل) شد که در گروه‌های سه و پنج و شش به لحاظ آماری معنادار بود. ($p<0.05$ *نسبت به گروه کنترل) این اثر در گروه سه که در معرض هر سه نوع استرس (محرومیت غذایی، مواجهه با گروه‌های برخوردار و عدم ثبات محیط اجتماعی) قرار داشتند، شدیدتر از سایر گروه‌ها بود. اما همین سه نوع استرس، وقتی در مدت کوتاه‌تری (چهار هفته یعنی نصف دوره آزمایش) اعمال شد، میزان لیپوفوشین کمتری را ایجاد کرد. (مقایسه گروه سه و چهار: اعمال سه نوع استرس در دوره‌های زمانی متفاوت؛ $p<0.05$#). تفاوت میزان تجمع لیپوفشین در گروه سه با گروه دو، نشان‌دهنده اثر چشمگیر عدم ثبات اجتماعی در این زمینه است، به نحوی که پیری زودرس سلولی گروه اخیر کمتر از نصف گروهی است که هر سه نوع استرس اجتماعی را تجربه کرده‌اند.

(*: $p<0.05$ در مقایسه با گروه کنترل و # :$p<0.05$ در مقایسه با گروه سه. مقادیر به صورت Mean ± SEM ارائه شده است. گروه ۱. کنترل : N=4 ؛ گروه ۲. محرومیت غذایی همراه با مواجهه: N=5 ؛ گروه ۳. محرومیت غذایی همراه با مواجهه و عدم ثبات در موقعیت اجتماعی N=5 ؛ گروه ٤. محرومیت غذایی همراه با مواجهه و عدم ثبات در موقعیت اجتماعی در نیم دوره: N=5 ؛ گروه ۵. محرومیت غذایی همراه با عدم ثبات در موقعیت اجتماعی در محیط ایزوله و بدون مواجهه: N=5 ؛ گروه ٦. تغییر در موقعیت اجتماعی بدون محرومیت غذایی:N=5).

منابع

1- Adams J, White M. Biological Ageing a Fundamental Biological link between Socio-Economic Status and Health. The European Journal of Public Health 2004; 14: 3: 331-334

2- Wilkinson R.G, Pickett K.E. Income Inequality and Socioeconomic Gradients in Mortality. American Journal of Public Health: 1998; 4: 699-704.

3- Goldman N. Social Inequalities in Health: Disentangling the Underlying Mechanisms. Annals of the New York Academy of Science, 2001; 954: 118-139.

4- Heidary F, Vaeze Mahdavi M.R. et al. Food Inequality Negatively Impacts Cardiac Health in Rabbits. Plos One 2008; 3: 11: e3705.

5- Brosnan S, Waal F. Monkeys Reject Unequal Pay. Nature 2003; 425: 297-299.

6- Kaplan JR, Manuck SB, Clarkson TB, Lusso FM, Taub DM. Social Status , Enviroment, and Atherosclerosis in Cynomolgus Monkeys. Arteriosclerosis 1982; 2: 359-368

7- Philip M, et al. Social Environment Influences the Progression of Arthrosclerosis in the Watanabe Heritable Hyperlipidemic Rabbit. Circulation 2002; 105: 354-359.

8- Raphael D. Social Justice is Good for Our Hearts. CSJ Foundation for Research and Education 200; full report at http:// www.socialjustice. Org

9- Kohen R, Nyska A. Oxidation of Biological Systems: Oxidative Stress Phenomena, Antioxidants, Redox Reaction, and Methods for Their Quantification. Toxicol Pathol 2002; 30: 6: 620-650.

10- Terman A, Brunk T. Lipofusion: Mechanisms of Formation and Increase with Age. Acta Patholoica Microbiologica et Imunologica Skandinavica ;1998; 106: 265-276.

11-Peixoto S, et al. Preliminary Identification and Quantification of The Age Pigment Lipofuscin in the Brain of Farfantepeneaus paulensis. Brazilian. J. Biol 2002; 62: 4B:871-876

12- Katz ML , Rice LM, Gao CL. Reversible Accumulation of Lipofuscin-like Inclusions in
Inclusions in The Retinal Pigment Epithelium. Investigative Ophthalmology & Visual Sciences. 1999; 40: 175–181.

13-Jung T, Bader N, Grune T. Lipofuscin: Formation, Distribution, and Metabolic Consequences. Ann N Y Acad Sci 2007;Nov. 1119: 97-111

14- Jokinen MP, et al. Characterization of Spontaneous and Chemically Induced Cardiac Lesion in Rodent Model systems. Cardiovascular Toxicology 2005; 05: 227-244.

15- Roffe C. Ageing of heart. Br. J. Biomed. Sci. 1998; 55: 136-148

16- Morrissey C, et al. Changes in Hormone Sensitivity in the Ventral Prostate of Aging Sprague-Dawley Rats. Andrology 2002; 23: 3: 341-51.

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University Seventeenth Year, No.86 April, May 2010

Received: 23/10/2010
Last revised: 5/10/2010
Accepted: 5/15/2010

The effect of food deprivation, social status and inequality on myocardial cell damage in male rabbits

Mohammad-Reza Vaez-Mahdavi[2*], Shahnaz Mojarab[1], Taqi Tarihi[3], Mehrdad Roghani[2], Soqrat Faghihzadeh[4], Majid Hasanpour-Ezati[5]

1- Associate Professor - Department of Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran
2- M.Sc. - Department of Physiology, School of Basic Sciences, Shahed University, Tehran.
3- Professor - Department of Histology, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran.
4- Professor - Department of Biostatistics, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran.
5- Assistant Professor - Department of Physiology, School of Basic Sciences, Shahed University, Tehran

E-mail: vaezmahdavi@shahed.ac.ir

Abstract:

Background & Objective: Social inequality and deprivation is strongly related to basic health status in different societies. Individuals with lower socioeconomic status (SES) experience higher rate of mortality and lower level of life expectancy. Although health status is affected by poverty, but the precise pathways that link socioeconomic status and health remain unclear. The aim of the present study was to produce a model of food deprivation and inequality and unstable social status to evaluate the histopathological outcomes in myocardial cells.

Materials & Methods: Fifty four rabbits were randomly assigned into six groups. The effect of free access to diet and social situation, with and without "deprivation" and "changed place or room-mate" was evaluated. Rabbit's hearts were removed for histopathologic evaluation. For statistical analysis, Mann-Whitney and Kruskal-Wallis tests were used.

Results: Relative food deprivation with unstable social status led to accumulation of lipofusion pigments in the myocardial cells of rabbits ($p<0.005$; compared with control group). This was significant even when unstable social status was inducted in absence of food deprivation ($p<0.05$). Unstable social status when combined with food deprivation induced more lipofusion compared with food deprivation alone ($p<0.05$). Electron microscope study provided reliable evidence on lipofusion accumulation during the experiment.

Conclusion: Our findings demonstrated a relation between inequality in food intake and social status instability with formation and accumulation of lipofusion pigments (representative of oxidative stress and aging phenomenon) in the myocardial cells mostly in rabbits' left ventricles.

Key words: Food deprivation, Inequality, Socioeconomic status, Aging, Lipofusion, Heart, Rabbit