

اثر تجویز طولانی مدت سیلی مارین بر پاسخ انقباضی و شل شدگی آئورت سینه‌ای موش

صحرائی دیابتی

جمشید نارنجکار^۱، مهرداد روغنی^{۲*}، الناز قاسمی^۳

خلاصه

مقدمه: بیماری دیابت قندی با افزایش رخداد بیماری‌های قلبی عروقی همراه می‌باشد. از آنجا که شواهدی مبنی بر اثر ضد دیابتی سیلی مارین وجود دارد، در این تحقیق اثر تجویز دراز مدت این ماده بر پاسخ انقباضی و رفع انقباضی آئورت سینه‌ای ایزوله در مدل تجربی دیابت در موش صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفت.

روش: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرائی نر به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با سیلی مارین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، دیابتی، و دو گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی مارین (۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. سیلی مارین ۱۰ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۴ هفته (داخل صفاقی و روزانه) تجویز شد. در انتها، پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل افرین و شل شدگی به استیل کولین با استفاده از بساط بافت ایزوله مورد سنجش قرار گرفت.

یافته‌ها: حداکثر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به‌طور معناداری در گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی مارین به کلرور پتاسیم در دوز بالا ($P < 0.05$) و فنیل افرین در هر دو دوز ($P < 0.05$ و $P < 0.01$) کمتر از گروه دیابتی بود. به‌علاوه، حداکثر پاسخ شل شدگی حلقه‌های آئورتی به استیل کولین فقط در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین در مقایسه با گروه دیابتی بیشتر و معنی‌دار بود ($P < 0.05$). در ضمن، حداکثر پاسخ شل شدگی در گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین به‌طور معنی‌دار بیشتر از گروه کنترل بود ($P < 0.05$). نتیجه‌گیری: تجویز دراز مدت سیلی مارین موجب کاهش پاسخ انقباضی و افزایش پاسخ شل شدگی در بافت آئورت موش صحرائی دیابتی می‌گردد که این در جلوگیری از برخی عوارض عروقی دیابت در دراز مدت می‌تواند سودمند باشد.

واژه‌های کلیدی: سیلی مارین، دیابت قندی، آئورت، پاسخ انقباضی، پاسخ شل شدگی

۱- دانشیار فارماکولوژی، گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد تهران ۲- استاد فیزیولوژی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد تهران

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد تهران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۲/۱۶ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۰/۹/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۳۹۰/۱۱/۱۲

مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی عوارض نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، و بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). کمبود و یا کاهش نسبی میزان انسولین در این بیماری با عوارض متابولیکی حاد و مزمن همراه می‌باشد (۲). در بیماری دیابت قندی عوامل متعددی مثل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن در اثر افزایش سطح گلوکز خون و همچنین تشدید پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی عروقی می‌گردد. در همین ارتباط نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که پاسخ انقباضی برخی نواحی عروقی مثل آئورت سینه‌ای به نورآدرنالین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین به‌طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش می‌یابد. در افزایش پاسخ انقباضی عروق، عوامل متعددی از جمله تشدید تولید اندوتلین به‌عنوان یک منقبض‌کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش سنتز و ترشح برخی از پروستاگلاندین‌های تنگ‌کننده عروقی، افزایش غلظت داخل سلولی دی‌آسیل گلیسرول و به دنبال آن افزایش کلسیم داخل سلولی به‌عنوان عامل محرک انقباض در عضله صاف عروقی و کاهش توانایی تولید عوامل گشادکننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید می‌تواند مطرح باشد. همچنین پاسخ اتساعی سیستم عروقی دارای آندوتلیوم مثل آئورت در موش‌های صحرایی دیابتی به استیل‌کولین، به‌طور محسوسی کمتر از موش‌های صحرایی سالم می‌باشد (۳،۴). هدف اصلی روش‌های تیماری دیابت قندی برقراری میزان طبیعی قند خون و جلوگیری یا به تعویق انداختن ظهور عوارض آن می‌باشد (۵). از دیرباز گیاهان دارویی و مشتقات حاصل از آنها به‌علت عوارض جانبی کمتر از جایگاه ویژه‌ای در علم پزشکی برای درمان بیماری‌های رایج بشری به‌ویژه آن دسته از امراض با ماهیت متابولیک نظیر دیابت قندی برخوردار بوده‌اند (۶). همچنین، در طی سالیان اخیر هدف بسیاری از تحقیقات، بررسی اثر بخشی مواد

طبیعی با خاصیت هیپوگلیسمیک بر روی عوارض بافتی و ارگانیک ناشی از دیابت بوده است (۶). با توجه به افزایش دانش بشری در مورد تنوع این بیماری، نیاز برای یافتن ترکیبات مؤثر با عوارض جانبی کمتر در جلوگیری از دیابت یا عوارض ناشی از آن احساس می‌شود (۷). در این رابطه، سیلی‌مارین به‌عنوان مهم‌ترین ماده‌ی موثر گیاه ماریتیغال (*Silybum marianum*) می‌باشد که از گروهی از عناصر به نام فلاونو لیگنان‌ها تشکیل شده است (۸). نتایج مطالعات نشان می‌دهد که سیلی‌مارین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه بوده و سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت سوپراکسید دیس‌موتاز می‌شود. به‌علاوه این ماده دارای اثر ضد التهابی بوده، سبب مقاومت در برابر تخلیه‌ی ذخایر گلوکوتایون شده و به هنگام آسیب پارانشیم کبد، سنتز پروتئین توسط هپاتوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (۹،۱۰). در چندین مطالعه نیز اثربخشی آن در درمان بیماری‌های کبد الکلی مزمن، سیروز، کبد چرب و هپاتیت‌های ویروسی اثبات شده است (۱۱). همچنین اثرات کاهش دهنده‌ی کلسترول و قند خون، ضد سرطانی و تعدیل‌کنندگی ایمنی آن تأیید شده است (۱۲-۱۴). به‌علاوه، در مطالعه‌ی دیگری مشخص گردید که سیلی‌مارین دارای خواص ضد گلیکوزیلاسیون و ضدالتهاب می‌باشد و باعث کاهش سطح بیومارکرهای اکسیداتیو و التهابی دیابت می‌شود (۱۵). همچنین، مطالعات دیگری نشان داده‌اند که سیلی‌مارین در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان موجب حفاظت بافت کلیه در برابر آسیب اکسیداتیو می‌شود (۱۶). وصال و همکاران نیز نشان داده‌اند که سیلی‌مارین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های با خواص آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپید در بافت کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین می‌گردد (۱۷). با توجه به نقش مهم استرس اکسیداتیو و گلیکوزیلاسیون در بروز عوارض عروقی دیابت و همچنین تغییرات عملکردی در سیستم عروقی به صورت تشدید پاسخ انقباضی و کاهش پاسخ شل‌شدگی (۱)، در بررسی حاضر اثر تجویز مزمن این ماده بر

پاسخ انقباضی و شل شدگی آئورت سینه‌ای موش صحرائی نر مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی از ۴۰ موش صحرائی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۴۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. تمام حیوانات در دمای ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوانات آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند. در ضمن، بررسی بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (National Institute of Health: NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی به انجام رسید (۱۸).

در این بررسی از موش‌های صحرائی نری استفاده شد، که در شرایط طبیعی و در حالت روزه داری (به مدت یک شب)، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۱۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. برای خونگیری از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه استفاده شد. حجم خون اخذ شده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی‌لیتر بود. موش‌ها به‌طور تصادفی به ۵ گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با ۱۰۰ میلی‌گرم سیلی‌مارین (سیگما، آلمان)، دیابتی، و دو گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. دوز سیلی‌مارین بر اساس آزمایش‌های مقدماتی و رفرنس‌های موجود انتخاب شد (۱۹). سیلی‌مارین ۱۰ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به مدت ۴ هفته (داخل صفاقی و روزانه) تجویز شد. برای دیابتی نمودن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سرم فیزیولوژی سرد استفاده شد. یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکو یاب، تهران) کنترل شد (۲۰) و فقط حیوانات دیابتی با میزان قند ادرار بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، که با میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰

میلی‌گرم بر دسی‌لیتر با در نظر گرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری می‌کند، برای شروع تیمار به مرحله بعدی راه یافتند. البته در روزهای بعد علائم بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، پر ادراری، و کاهش وزن نیز در برخی موش‌ها به تدریج دیده شد. ضمناً کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌ها مشاهده گردید. تعیین وزن حیوانات قبل از انجام کار و در طی هفته‌های ۳ و ۶ پس از بررسی به انجام رسید. همچنین، اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام شد.

اندازه‌گیری پاسخ انقباضی و شل شدگی آئورت سینه‌ای

در پایان کار، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش شده، با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای جدا و در داخل محلول کریس سرد (که به‌طور مداوم به‌داخل آن گاز کربون دمیده می‌گردید) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کریس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به‌قرار زیر بود (بر حسب میلی‌مولار):

NaCl: ۱۱۸/۵; KCl: ۴/۷۴; CaCl₂: ۵/۲; MgSO₄: ۱/۱۸;

NaHCO₃: ۲۴/۹; KH₂PO₄: ۱/۱۸; Glucose: ۱۰

در داخل محلول کریس سرد (به‌منظور کاهش دادن متابولیسم بافت و کاهش مرگ و میر سلولی)، آئورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک شده و سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ (۳-۵) میلی‌متر تقسیم گردید. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت ۱۰-۶ مولار فنیل‌افرین، استیل‌کولین با غلظت ۵-۱۰ مولار به حمام بافت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد اضافه شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیشتر از ۴۰-۳۰ درصد در حلقه‌های آئورت به‌عنوان ملاک سالم بودن آندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخ، حلقه‌های آئورتی به کمک سیم‌های پلاتینی L شکلی که به‌موازات هم قرار داشتند، از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس‌دیوسر ایزومتریک F-60 (نارکو بیوسیستم، آمریکا) متصل شدند. در این بررسی

تمام نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان شده است. در مورد وزن و میزان گلوکز سرم حیوانات در هفته‌های مختلف از آزمون ANOVA با اندازه‌گیری مکرر و در مورد نتایج عروقی و برای مقایسه بین گروهی آنها از آزمون ANOVA یک‌طرفه و تست Tukey استفاده گردید. به علاوه، سطح معنی‌داری در تمام آنالیزها، $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

از نظر وزن، هیچگونه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها در هفته قبل از کار (سطح پایه) مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین در حد کمتر از گروه کنترل، یک افزایش طبیعی در وزن را در پایان هفته ششم نشان داد. در گروه دیابتی در هفته ششم کاهش معنی‌داری در مقایسه با هفته قبل از بررسی ($P < 0.05$) مشاهده گردید. همین وضعیت در مورد گروه دیابتی دریافت‌کننده سیلی‌مارین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز وجود داشت. از طرف دیگر، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای سیلی‌مارین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دیابتی در هفته ششم در حد معنی‌داری ($P < 0.05$) کمتر بود (نمودار ۱).

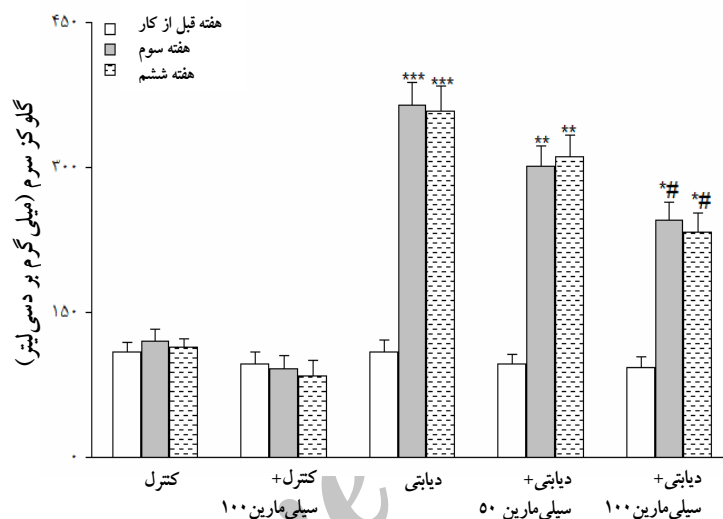
کشش اولیه اعمال شده به حلقه‌های آئورتی ۱/۵ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده شد تا وضعیت ثابت پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض گردید. پس از حصول حالت تعادل، بافت به ترتیب در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) و فنیل‌افرین به‌عنوان آگونیست اختصاصی گیرنده‌های آلفا آدرنژیک نوع ۱ (۹-۱۰ تا ۵-۱۰ مولار) قرار گرفت. برای ثبت پاسخ شل‌شدگی، حلقه‌های آئورتی در ابتدا در معرض غلظتی از فنیل‌افرین که حدود ۸۰٪ حداکثر پاسخ را ایجاد می‌کند قرار گرفته و سپس در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده استیل‌کولین (۹-۱۰ تا ۴-۱۰ مولار) قرار گرفت. در این رابطه، استیل‌کولین از طریق تحریک آنزیم نیتریک اکسید سنتاز اندوتلیوم رگ موجب افزایش تولید نیتریک اکسید و در نتیجه ایجاد پاسخ گشاد‌شدگی رگ می‌گردد (۲۱). برای ثبت و آنالیز داده‌ها نیز از نرم‌افزار فیزیوگراف ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده گردید. در این خصوص برای انتقال داده‌ها به کامپیوتر از برد آنالوگ به دیجیتال با فرکانس نمونه برداری ۲۰۰ هرتز استفاده شد. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به‌صورت گرم و در مورد پاسخ شل‌شدگی به صورت درصد بیان شد.



نمودار ۱. تغییرات وزن در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با سیلی‌مارین ($P < 0.05$ در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)

یافت. به علاوه، در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین، میزان گلوکز سرم در هفته ششم به طور معنی داری کمتر از گروه دیابتی تیمار نشده بود ($P < 0/01$). گروه کنترل تحت تیمار با سیلی مارین کاهش معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۲).

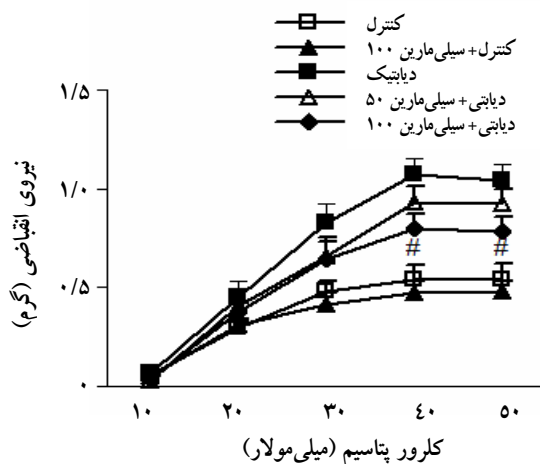
میزان گلوکز سرم گروه‌های مختلف در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی داری نداشت، در هفته ششم میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با سیلی مارین در حد معنی داری ($P < 0/0005$) تا $P < 0/01$) بیشتر از گروه کنترل بود؛ هر چند که با افزایش دوز سیلی مارین، این افزایش میزان گلوکز سرم تخفیف



نمودار ۲. تغییرات گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیلی مارین ($P < 0/01$ * $P < 0/005$ ** $P < 0/0005$ *** (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، $P < 0/05$ # (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته)

حلقه‌های آئورتی به کلرور پتاسیم از غلظت ۳۰ میلی مولار و بالاتر شده است ($P < 0/01 - P < 0/005$). همچنین تیمار موش‌های دیابتی با دوز بالای سیلی مارین موجب کاهش حداکثری پاسخ انقباضی ناشی از کلرور پتاسیم گردید ($P < 0/05$). در مورد گروه کنترل تیمار شده با سیلی مارین نیز کاهش کم و غیر معنی داری در مقایسه با گروه کنترل از غلظت ۳۰ میلی مولار به بعد مشاهده شد.

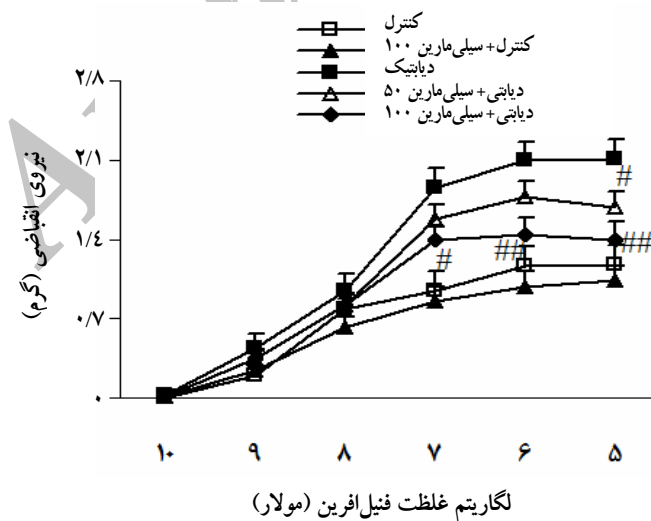
پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم نمودار ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی را به غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم در گروه‌های کنترل، کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین، دیابتی، و دیابتی‌های تحت تیمار با دوز پائین و بالای سیلی مارین نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در مورد این گروه‌ها از یک الگوی وابسته به غلظت تبعیت می‌کند و دیابت موجب افزایش پاسخگویی



نمودار ۳. پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم در گروه‌های مختلف (در مقایسه با گروه دیابتی) $P < 0.05 \#$

پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای به فنیل افرین نمودار ۴، پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورتی را به غلظت‌های افزایش یابنده فنیل افرین در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد. همانطور که مشخص است پاسخ انقباضی به فنیل افرین در مورد این گروه‌ها از یک الگوی وابسته به غلظت تبعیت نموده است و دیابت موجب افزایش بارز و معنی دار پاسخ حلقه‌های آنورتی به فنیل افرین از

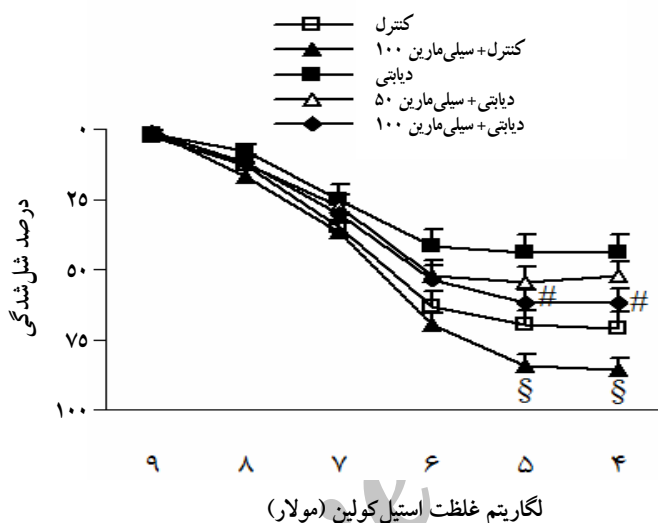
۷-۱۰ مولار به بعد گردیده است ($P < 0.01$). همچنین تیمار موش‌های دیابتی با سیلی مارین موجب کاهش معنی‌دار پاسخ انقباضی به فنیل افرین از غلظت ۷-۱۰ مولار به بعد در مقایسه با گروه دیابتی گردیده است ($P < 0.05$ - $P < 0.01$). در مورد گروه کنترل تیمار شده با سیلی مارین نیز کاهش کم و غیر معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد.



نمودار ۴. پاسخ انقباضی حلقه‌های آنورت سینه‌ای به غلظت‌های افزایش یابنده فنیل افرین در گروه‌های مختلف ($P < 0.05 \# \# \#$, $P < 0.01$) (در مقایسه با گروه دیابتی)

می‌دهد ($P < 0/05 - P < 0/01$). همچنین، پاسخ شل شدگی در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین از غلظت ۶-۱۰ مولار به بعد در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده بیشتر و معنی‌دار بود ($P < 0/05$). از طرف دیگر، گروه کنترل تحت تیمار نیز افزایش معنی‌دار این پاسخ را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0/05$).

پاسخ شل شدگی آئورت سینه‌ای به استیل کولین از نظر پاسخ شل شدگی حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل افرین، با اضافه شدن دوزهای تجمعی استیل کولین، یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت در تمام گروه‌ها مشاهده گردید (نمودار ۵)؛ به این صورت که گروه دیابتی کاهش معنی‌داری در میزان پاسخ شل شدگی در مقایسه با گروه کنترل از غلظت ۶-۱۰ مولار به بعد نشان



نمودار ۵. پاسخ شل شدگی به استیل کولین (به صورت تجمعی و وابسته به غلظت) در حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با فنیل افرین در گروه‌های مختلف

$P < 0/05$ # (در مقایسه با گروه دیابتی)، $P < 0/05$ § (در مقایسه با گروه کنترل)

تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین در مقایسه با گروه دیابتی بیشتر و معنی‌دار بود، و حداکثر پاسخ شل شدگی در گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین به‌طور معنی‌داری از گروه کنترل بیشتر بود.

اثر هیپوگلیسمیک مشاهده شده در این تحقیق در مورد سیلی مارین با نتیجه مطالعه بلوچ‌نژاد مجرد و همکاران در رابطه با تأثیر سیلی مارین بر میزان گلوکز، لیپیدهای خون و سطح استرس اکسیداتیو در موش صحرایی دیابتی مطابقت دارد. در مطالعه مذکور، نشان داده شد که تیمار با سیلی مارین، موجب کاهش میزان گلوکز، تری گلیسیرید،

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که تجویز دوز بالای سیلی مارین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از کاهش وزن در گروه دیابتی جلوگیری می‌نماید. سیلی مارین همچنین در همین دوز دارای اثر هیپوگلیسمیک می‌باشد. حداکثر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای در گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی مارین به کلرور پتاسیم در دوز بالا و فنیل افرین در هر دو دوز (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی بود. حداکثر پاسخ شل شدگی حلقه‌های آئورتی به استیل کولین فقط در گروه دیابتی

نیتریک اکسید و پروستاگلاندین‌ها در بروز اثرات سودمند این ماده در بررسی حاضر دارد. بخشی از اثرات سودمند این ماده در تحقیق حاضر را می‌توان به کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو نسبت داد. این یافته‌ها با نتایج تحقیقات قبلی در مورد اثرات سودمند سیلی‌مارین هم‌خوانی دارد (۸،۱۰). در این مورد مشخص شده است که سیلی‌مارین دارای خواص جمع‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن نظیر سوپر اکسید، محافظت سلول در برابر آسیب‌های شیمیایی مثل سموم محیطی، کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در نواحی بافتی مختلف، و محافظت بافت‌هایی نظیر کبد در برابر انواع استرس‌های شیمیایی می‌باشد که علت اصلی آن توانایی بالای آن برای عمل کردن به‌عنوان یک ماده آنتی‌اکسیدان است (۹). این مطلب در مورد بسیاری از فلاونوئیدها صدق می‌نماید. همچنین مشخص شده است که مواد سودمند و محافظت‌کننده موجود در برخی گیاهان در گروه فلاونوئیدها و پلی‌فنل‌ها خاصیت ضد دیابتی دارند. مشخص شده است که تجویز برخی فلاونوئیدها به روش داخل صفاقی در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین، موجب کاهش معنی‌دار سطح گلوکز سرم به‌صورت وابسته به دوز می‌گردد، در حالی که همین فلاونوئیدها اثر محسوسی بر غلظت گلوکز خون در حیوانات سالم ندارند (۲۲). از این رو بخشی از اثر سودمند سیلی‌مارین در بررسی حاضر را می‌توان به اثر هیپوگلیسمیک آن نسبت داد که موجب بهبودی پاسخگوئی بافت آئورت به عوامل وازواکتیو می‌گردد. از طرف دیگر برخی از فلاونوئیدهای موجود در گیاهان دارویی به‌عنوان ماده آنتی‌اکسیدان با خاصیت شبه انسولینی شناخته می‌شوند که از این طریق قادر به کاهش دادن علائم دیابت قندی و برگرداندن سطح برخی پارامترها به حد طبیعی می‌باشند (۲۲،۲۳). در ضمن این احتمال نیز وجود دارد که سیلی‌مارین حداقل در بافت کبد در حد کم توانسته

کلسترول تام، کلسترول LDL و افزایش میزان کلسترول HDL سرم در گروه دیابتی گردیده و میزان استرس اکسیداتیو در سرم کاهش معنی‌داری نشان می‌دهد (۲۰). مکانیسم‌های متفاوتی در ایجاد اختلال در ساختمان و عملکرد عروق خونی در دیابت قندی دخالت دارند. در این ارتباط ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتز گشادکننده‌های عروقی مانند پروستاگلین و نیتریک اکسید کم شده و تنگ‌کننده‌های عروقی مانند آندوتلین به مقدار زیادی تولید می‌شوند. هر چند که در مورد نقش هیپرگلیسمی مزمن در بروز عوارض عروق بزرگ در حالت دیابت قندی شواهد قطعی وجود ندارد، ولی برخی از نتایج به‌دست آمده، خود هیپرگلیسمی و عواقب ناشی از آن را دلیل بروز این عوارض می‌دانند (۳). نتیجه یکی از مطالعات نشان می‌دهد که در دیابت قندی اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد آتروسکلروز و افزایش نفوذپذیری و اسکلروز عروق خونی دارند. به‌علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز افزایش می‌یابد (۳،۴). نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی به فیل‌افرین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به‌طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که این با نتایج مطالعه روغنی و همکاران مطابقت دارد (۲۱). به‌علاوه، با بروز دیابت قندی استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش می‌یابد این امر در جهت تغییرات نامطلوب پاسخگوئی عروقی در بافت آئورت عمل می‌نماید (۲۱).

در این مطالعه تجویز طولانی مدت سیلی‌مارین موجب کاهش پاسخگوئی آئورت به عوامل متقبض‌کننده شامل کلرور پتاسیم و فیل‌افرین و تشدید پاسخ شل‌شدگی به استیل‌کولین گردید، این مطلب خود حکایت از نقش مهم آندوتلیوم و عوامل شیمیایی مرتبط با آن نظیر سیستم

دیابتی می‌گردد. این یافته احتمالاً می‌تواند در جلوگیری از برخی عوارض عروقی دیابت سودمند باشد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل پایان نامه دانشجویی مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۸ می‌باشد و با حمایت مالی این دانشگاه به انجام رسیده است که بدینوسیله تشکر می‌گردد. ضمناً نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

References

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006;12(7):RA130-47
2. Wandell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus. An overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care* 2005; 23(2): 68-74.
3. Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. *J Diabetes Complications* 2002; 16(1): 65-8.
4. Abebe W. Effects of taurine on the reactivity of aortas from diabetic rats. *Life Sci* 2008; 82(5-6): 279-89.
5. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49(4): 635-9.
6. Grover JK, Yadav S, Vats V. Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J Ethnopharmacol* 2002; 81(1): 81-100.
7. Dey L, Attele AS, Yuan CS. Alternative therapies for type 2 diabetes. *Altern Med Rev* 2002; 7(1): 45-58.
8. Toklo HZ, Tunali T, Erkanlı G, Yüksel M, Ercan F, Şener G. Silymarin, the antioxidant component of *Silybum marianum*, protects against burn-induced oxidative skin injury. *Burns* 2007; 33(7): 908-16.
9. Uzma N, Kumar BS, Priyadarsini KI. Hepatoprotective, immunomodulatory, and anti-inflammatory activities of selenocystine in experimental liver injury of rats. *Biol Trace Elem Res* 2011; 142(3): 723-34.
10. Soto C, Recoba R, Barrón H, Alvarez H, Favari L. Silymarin increased antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp biochem physiol Toxicol Pharmacol* 2003; 136(3): 205-12.
11. Ross SM. Milk thistle (*Silybum marianum*): an ancient botanical medicine for modern times. *Holist Nurs Pract* 2008; 22(5): 299-300.

12. Abascal K, Yarnell E. The many faces of *Silybum marianum*: part 1- Treating Cancer and Hypyrlipidemia and Restoring Kidney Function. *Alternative and Complementary Therapies* 2003; 9(4): 170-5.
13. Orolin J, Vecera R, Jung D, Meyer UA, Skottová N, Anzenbacher P. Hypolipidemic effects of silymarin are not mediated by the peroxisome proliferator-activated receptor alpha. *Xenobiotica* 2007; 37(7): 725-35.
14. Sobolová L, Škottová N, Večeřa R, Urbánek K. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. *Pharmacological Res* 2006; 53(2): 104-12.
15. Wu CH, Huang SM, Yen GC. Silymarin as a novel antioxidant with antiglycation and anti inflammatory properties in vitro and in vivo. *Antioxid Redox Signal* 2011; 14(3): 353-66.
16. Soto C, Perez J, Garca V, Uria E, Vadillo M, Raya L. Effects of silymarin on kidneys of rats suffering from alloxan induced diabetes mellitus. *Phytomedicine* 2010; 17(14): 1090-94.
17. Vessal G, Akmalı M, Najafi P, Moein MR, Sagheb MM. Silymarin and milk thistle extract may prevent the progression of diabetic nephropathy in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ren Fail* 2010; 32(6): 733-9.
18. Health Research Extension Act of 1985 Public Law 99-158, November 20, 1985, "Animals in research".
19. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Khasteh khodaie Z. Chronic treatment of silymarin improves hyperalgesia and motor nerve conduction velocity in diabetic neuropathic rat. *Phytother Res* 2010; 24(8): 1120-5.
20. Baluchnejadmojarad T, Roghani M, Homayounfar H, Khasteh khodaie Z. Protective effect of chronic administration of silymarin on blood glucose and lipids and oxidative stress in diabetic rats. *Koomesh* 2009; 10: 143-49 [in Persian].
21. Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Chronic epigallocatechin-gallate improves aortic reactivity of diabetic rats: underlying mechanisms. *Vascul Pharmacol* 2009; 51(2-3): 84-9.
22. Vessal M, Hemmati M, Vasei M. Antidiabetic effects of quercetin in streptozocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 135(3): 357-64.
23. Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 290(6): E1339-46.

The Effect of Chronic Administration of Silymarin on Contractile-Relaxation Response of Thoracic Aorta of Diabetic Rats

Narenjkar J., Ph.D¹., Roghani M., Ph.D^{2*}., Ghasemi E³

1. Associate Professor of Pharmacology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Professor of Physiology, Neurophysiology Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
3. Medical Student, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

* Corresponding author; e-mail: mehjour@yahoo.com

(Received: 5 May 2011 Accepted: 31 Jan. 2012)

Abstract

Background and Aims: Diabetes mellitus is accompanied with higher incidence of cardiovascular disorders. There is some evidence on antidiabetic potential of silymarin. In this study the effect of chronic administration of silymarin on contractile-relaxation response of thoracic aorta of diabetic rats was investigated.

Methods: In this experimental study, male Wistar rats were divided into 5 groups of control, silymarin -treated control (100 mg/kg), diabetic, and silymarin -treated diabetic groups (50 and 100 mg/kg). Ten days after streptozotocin injection, silymarin was daily administered (i.p.) for 4 weeks. At the end of study, contractile reactivity of thoracic aortic rings to KCl and phenylephrine and relaxation response to acetylcholine were determined using isolated tissue setup.

Results: Silymarin-treated diabetic group showed a significantly lower maximum contraction to KCl (at high dose) and phenylephrine at both doses ($p < 0.05$ - $p < 0.01$) as compared to the diabetic group. Maximum relaxation response of rings to acetylcholine was significantly higher in silymarin-treated diabetic group (high dose) as compared to diabetics ($p < 0.05$). Meanwhile, there was also a higher relaxation response in silymarin-treated control group (high dose) in comparison to controls ($p < 0.05$).

Conclusion: Chronic administration of silymarin could decrease contractile response and enhance relaxation response in aortic tissue of diabetic rat and this may be beneficial in prevention of long-term vascular complications of diabetes.

Keywords: Silymarin, Diabetes mellitus, Aorta, Vasoconstriction, Vasodilation

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2012; 19(4): 326-336