Archive of SID

دانشور
پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال هیجدهم– شماره ۸۹
آبان ۱۳۸۹

اثر هسپرتین بر سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات و آلانین آمینو ترانسفراز و سطح کبدی و قلبی مالون دی آلدئید در موش صحرایی دیابتی

نویسندگان: دکتر جمشید نارنجکار[۱]، دکتر مهرداد روغنی*[۲] و مهدی شکوهی[۳]

۱- دانشیار- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

۲- استاد- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، تهران، ایران،

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: دکتر مهرداد روغنی E-mail: mehjour@yahoo.com

وصول: ۸۹/۶/۱۶
آخرین اصلاحات: ۸۹/۹/۲۵
پذیرش: ۸۹/۹/۲۹

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت قندی با افزایش میزان مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو و افزایش سطح سرمی آنزیم‌های بافتی نظیر آسپارتات وآلانین آمینوترانسفراز ناشر از آسیب بافتی مشخص می‌شود. با توجه به اثر ضددیابتی هسپرتین، هدف از انجام این مطالعه ارزیابی اثر این ماده بر سطح این فاکتورها در حالت دیابت است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، موش‌های صحرایی نر در گروه‌های ۳۲ تایی کنترل، کنترل تحت تیمار، دیابتی و دیابتی تحت تیمار تقسیم شدند. برای القاء دیابت، استرپتوزوسین با دوز 60 mg/kg به صورت داخل صفاقی تزریق شد. هسپرتین با دوز 10 mg/kg برای مدت چهار هفته به‌طور روزانه یک هفته پس از شروع کار تجویز شد. سطح سرمی آسپارتات وآلانین آمینوترانسفراز قبل و در انتهای کار اندازه‌گیری شد؛ به‌علاوه سطح مالون دی آلدئید در دو بافت قلب و کبد اندازه گیری شد.

نتایج: افزایشی معنادار در سطح سرمی آسپارتات و آلانین آمینوترانسفراز در موش‌های دیابتی مشاهده شد ($p<0.05$-0.01) و درمان با هسپرتین تنها سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز را در حد معنادار کم‌کرد ($p<0.05$)؛ به‌علاوه، حالت دیابت، افزایش سطح مالون دی آلدئید در دو بافت قلب و کبد را سبب شد ($p<0.01$) و درمان با هسپرتین سطح مالون دی آلدئید را در این دو بافت در حدی معنی‌دار کاهش داد ($p<0.05$).

نتیجه‌گیری: درمان با هسپرتین می‌تواند سطح سرمی آلانین آمینو ترانسفراز و همچنین استرس اکسیداتیو را کاهش دهد که با سطح بافتی کمتر مالون دی آلدئید در دو بافت قلب و کبد مشخص می‌شود.

واژگان کلیدی: هسسپرتین، دیابت قندی، آمینوترانسفراز، مالون دی آلدئید

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای اختلال‌های دیگر نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی و بیماری‌های قلبی- عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به‌عمل‌آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش‌خواهدیافت (۱)؛ به‌علاوه، مشکلات قلبی، عروقی و کبدی ناشی از بیماری‌ها به‌ویژه بیماری‌های متابولیک مانند دیابت قندی درصد بالایی از افراد جامعه را در سنین بالا گرفتارمی‌کند (۲). از نظر بالینی، حتی در زمان تشخیص، بیماری دیابت به میزان زیادی پیشرفت‌کرده‌است که این اهمیت کنترل رژیم غذایی و لزوم استفاده از درمان‌ها و اقدام‌های پیشگیری‌کننده را به خوبی مشخص‌می‌سازد (۳-۲). دیابت قندی همچنین ارتباط گسترده و نزدیکی با استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارد. مطالعات مختلفی نشان‌داده‌اند که افزایش قند خون با افزایش استرس اکسیداتیو در بافت‌های مختلف همراه است و خود این بسیاری از عوارض بیماری را به‌دنبال دارد (٦-٤). از نظر بیوشیمیایی، از جمله شاخص‌های بافتی این پدیده‌های مخرب، افزایش سطح دو آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز درپی آسیب بافت‌های نظیر قلب و کبد در سرم و افزایش سطح مارکر مالون دی آلدئید در جایگاه یکی از شاخص‌های معتبر استرس اکسیداتیو است (۷-٦)؛ از طرف دیگر، کاهش‌دادن این تغییرها با استفاده از مواد مؤثر گیاهی با خاصیت آنتی اکسیدانت اهمیت زیادی دارد (۳)؛ در این خصوص، هسپرتین در گروهی از فلاونوئیدها به نام فلاوانون‌ها به فراوانی در پوست میوه مرکباتی مثل پرتقال و گریپ فروت یافت می‌شود و آثار فیزیولوژیک و سودمند متعددی از جمله «کاهش دادن آسیب‌پذیری دیواره مویرگی و ضد تومور را (۸)؛ آثار آنتی اکسیدانتیو کاهش دادن استرس اکسیداتیو و آسیب بافتی (۹)، کاهش دادن فشار خون شریانی، پایین آوردن کلسترول خون و بهبود دادن متابولیسم چربی‌ها» را درپی‌دارد (١٤-١٠)؛ به‌علاوه، این ماده، خاصیت محافظت‌کنندگی سیستم عصبی (۱۵) و ضد تجمع پلاکتی (١٦) را داراست؛ در این بررسی، اثر تجویز هسپرتین بر سطح سرمی آنزیم‌های آسپارتات و آلانین آمینو ترانسفراز و میزان مالون دی آلدئید کبد و قلب در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین بررسی‌شد.

مواد و روش‌کار

حیوانات

در این مطالعه تحقیقاتی تجربی از ۳۲ سر موش صحرایی نر سفید، نژاد ویستار (انستیتو پاستور، کرج) در محدوده وزنی ۲۸۰ تا۲۳۰ گرم استفاده‌شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های سه یا چهارتایی در هر قفس قرارداده‌شدند. موش‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) برای مدت شش هفته دسترسی داشتند.

روش انجام کار

در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده‌شد که در شرایط طبیعی، بدون برقراری حالت روزه‌داری، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود؛ در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خون‌گیری استفاده‌شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با هسپرتین، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با هسپرتین تقسیم شدند. تیمار با هسپرتین به فرم داخل صفاقی به میزان ده میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت چهار هفته به‌طور روزانه یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین و اطمینان از دیابتی‌بودن حیوان‌ها انجام‌شد. داروی هسپرتین در حلال کروموفور (سیگما) حل و با نرمال سالین رقیق شده، به حجم مورد نظر برای تزریق رسید؛ حجم تزریق در مورد هر حیوان نیز در حد ۰/۳ میلی‌لیتر بود. برای دیابتی‌کردن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (فارماشیا-آپجون) به صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان شصت

www.SID.ir

Archive of SID

میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. میزان گلوکز سرم با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (زیست شیمی) قبل از انجام کار و در هفته‌های دو و چهار با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی (آنزیمی) سرم

برای به‌دست‌آوردن مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی و قلبی شامل آلانین آمینوترانسفراز (ALT) و آسپارتات آمینوترانسفراز (AST) از کیت‌های بیوشیمیایی مربوط و با توجه به دستورالعمل کیت (زیست شیمی) استفاده گردید؛ در این خصوص، مقادیر جذب بلانک سرم، جذب نمونه تست، جذب استاندارد و جذب بلانک معرف به‌دست‌آمد که در نهایت، طبق فرمول زیر، نسبت درصد پیروات حاصل شد و با قراردادن عدد به‌دست‌آمده روی محور عمودی منحنی استاندارد کیت، میزان فعالیت آنزیم در محور افقی خوانده‌شد.

$$\text{نسبت درصد پیروات} = \frac{\text{جذب بلانک سرم} - \text{جذب تست}}{\text{جذب بلانک معرف} - \text{جذب استاندارد}} \times ۱۰۰$$

سنجش مالون دی آلدئید بافتی

پس از پایان کار و کشتن حیوان به روش یوتنزی، قلب و کبد از بدن جدا شده، پس از شست‌وشو با محلول سالین سرد و خشک‌کردن سریع، توزین شدند و سپس بافت‌ها جداگانه همراه بافر تریس به مدت دو دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور پانصد دور در دقیقه هموژنیزه گردیدند و محلول هموژنیزه‌شده، سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمامی مراحل گفته‌شده در دمای چهار درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام‌شد. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جداشده، بخش زیرین رسوب‌کرده دور ریخته‌شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده شد.

اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید MDA طبق روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید TBA است که در دمای جوش انجام‌می‌گیرد؛ در این آزمایش، مالون دی آلدئید یا مواد شبه مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده رنگ صورتی ایجادمی‌کند که بیشترین جذب نوری آن در طول موج ۵۳۲ نانومتر است؛ این واکنش در PH= 2- 3 و در دمای نود درجه سانتی‌گراد به مدت پانزده دقیقه انجام و بعد از سردکردن نمونه، جذب نوری خوانده‌شد.

برای این کار، از نمونه‌های سانتریفوژشده به مقدار ۱۵۰ میکرولیتر برداشته‌شده، به cc ۱/۵ تری کلرو استیک اسید و cc ۱/۵ از TBARS اضافه شد و تمامی نمونه‌ها و لوله‌های استاندارد با رقت‌های مختلف به مدت هشتاد دقیقه در بن‌ماری آب‌جوش قرار داده‌شد که واکنش صورت بگیرد؛ سپس محلول‌ها در دور سه هزار دور به مدت ده دقیقه سانتریفوژ شده، جذب نوری آنها در طول موج nm ۵۳۲ در دستگاه اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) خوانده شد؛ منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت‌های تترا اتوکسی پروپان تهیه شد و جذب‌های نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌ها در منحنی استاندارد تطبیق داده‌شده، غلظت مالون دی آلدئیدیه این ترتیب به‌دست‌آمد و نتایج بر حسب میکروگرم در میکرولیتر حاصل‌شد.

سنجش پروتئین

سنجش پروتئین به روش برادفورد انجام‌گرفت؛ در این روش، ابتدا معرف مربوط تهیه شد؛ این معرف به این صورت تهیه گردید که ۲۵ میلی‌گرم کوماسی بلو در

www.SID.ir

Archive of SID

۱۲/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد حل شد، سپس ۲۵ میلی‌لیتر اسید فسفوریک ۸۵٪ اضافه شد و حجم آن به یک لیتر رسید و با کاغذ صافی، تصفیه گردید؛ همچنین غلظت‌های استاندارد تهیه شد که برای تهیه محلول استاندارد، آلبومین سرم گاوی به‌کاررفت. برای سنجش غلظت پروتئین در نمونه‌های بافتی از هر نمونه، lµ100 برداشته‌شده، به پنج میلی‌لیتر از معرف تهیه‌شده به آن اضافه شد؛ همچنین از غلظت‌های استاندارد تهیه شده (با غلظت ۱۲/۵ ،۲۵، ۵۰، ۱۰۰) نیز lµ100 برداشته به پنج میلی‌لیتر از معرف اضافه شد. تمامی محلول‌ها، پنج دقیقه در دمای ۳۷ درجه انکوبه شدند و سپس جذب نوری آنها در طول موج nm ۵۹۵ با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) خوانده‌شد. در نهایت، غلظت پروتئین در نمونه‌ها با استفاده از انطباق مقادیر جذب‌های نوری به‌دست‌آمده از نمونه‌ها روی منحنی استاندارد تعیین شد و نتایج بر حسب میکروگرم در میکرولیتر به‌دست‌آمد.

آنالیز آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار بیان شد. پس از مشخص کردن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هریک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هریک از دوره-های زمانی، آزمون آنووا یک‌طرفه و پست تست توکی به‌کارگرفته‌شد؛ به‌علاوه سطح معنی‌دار، $p<0.05$ برای تمامی آنالیزها در نظرگرفته‌شد.

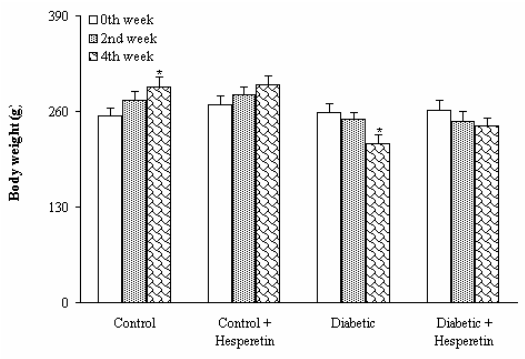
نتایج

وزن حیوانات در هفته قبل از بررسی و هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در تمام گروه‌ها اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل نشان‌داد که میزان وزن در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌داری را بین گروه‌ها نشان‌نمی‌دهد، درحالی‌که طی هفته‌های دوم و چهارم، تفاوتی معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده‌گردید؛ در این خصوص در هفته چهارم، گروه دیابتی کاهشی بارز و معنی‌دار ($p<۰/۰۵$) را در حد ۲۱/۳٪ در مقایسه با گروه کنترل نشان‌داد؛ همچنین، هرچند در هفته دوم نیز این کاهش وجودداشت ولی تفاوت موجود به سطح معنی‌دار نرسید؛ از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با هسپرتین در هفته‌های دوم و چهارم در حد معنی‌دار نبود، هرچند که میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار به ترتیب به میزان ۶/۳٪ و ۱۱/۷٪ بیشتر از گروه دیابتی تیمارنشده در همان هفته‌ها بود؛ از سوی دیگر، تیمار گروه کنترل با هسپرتین در همین هفته‌ها تغییری معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل تیمارنشده ایجادنکرد، اگرچه میزان وزن در حد مختصر از گروه کنترل بیشتر بود (نمودار ۱).

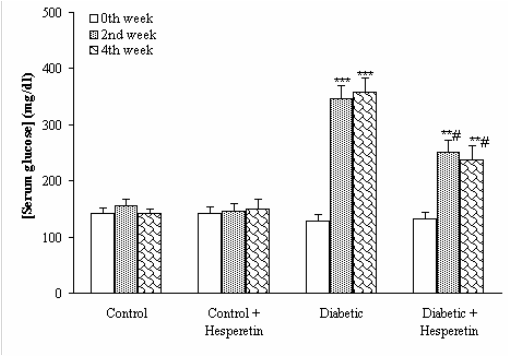
با اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم در هفته‌های قبل از بررسی و هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در تمام گروه‌ها مشخص شد که در هفته قبل از بررسی تفاوتی معنی‌دار بین گروه‌ها یافت‌نمی‌شود؛ به‌علاوه، در هفته چهارم، میزان گلوکز سرم در دو گروه دیابتی و دیابتی تحت تیمار با هسپرتین به‌طور بسیار بارز و معنی‌دار ($p<۰/۰۰۱$ و $p<۰/۰۱$) بیشتر از نتایج هفته قبل از کار بوده‌است، درحالی‌که گروه کنترل تحت تیمار تفاوت معنی دار را در مقایسه با گروه کنترل نشان‌نداد؛ همچنین تیمار با هسپرتین در گروه دیابتی در همین دوره زمانی کاهشی معنی‌دار را در میزان گلوکز سرم موش‌های صحرایی در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده به-وجودآورد ($p<۰/۰۵$) (نمودار ۲).

www.SID.ir

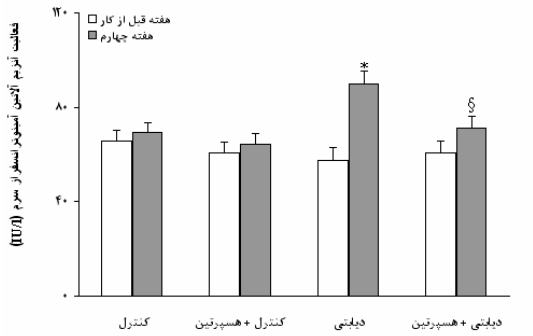
Archive of SID



نمودار ۱. تغییرهای وزن، طی هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با هسپرتین
*** p<۰/۰۵ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)**



نمودار۲. تغییرهای گلوکز سرم، طی هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با هسپرتین
**** p<۰/۰۱، *** p<۰/۰۰۱ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، # p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده در همان هفته)**



نمودار۳: فعالیت آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با هسپرتین
***p<۰/۰۱ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، $ p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده در همان هفته)**

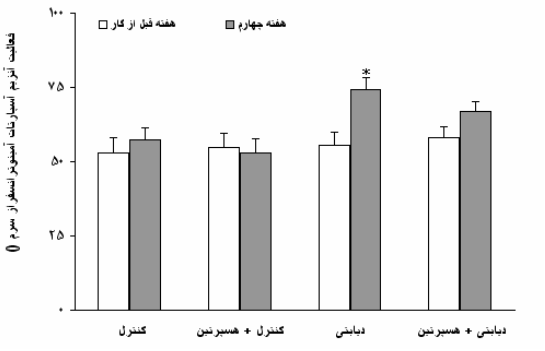
سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)

با اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه‌های مختلف تحت بررسی در هفته‌های قبل از کار و هفته چهارم پس از کار مشخص شد (نمودار ۳ و جدول ۱) که در هفته قبل از کار از نظر آماری تفاوت معناداری بین گروه‌ها یافت‌نمی‌شود

www.SID.ir

Archive of SID

هرچند که سطح این آنزیم در دو گروه دیابتی و کنترل تحت تیمار با هسپرتین در حد مختصر پایین‌تر از گروه کنترل بود، با بررسی سطح آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز در هفته چهارم مشخص شد که افزایشی کم و بی‌معنا در گروه‌های کنترل و کنترل تحت تیمار با هسپرتین وجوددارد. در گروه‌های دیابتی نیز سطح این آنزیم در هفته چهارم یک افزایش به‌نسبت قابل ملاحظه و معنادار (P<0.01) را در مقایسه با هفته قبل از کار در همین گروه نشان‌داد که همین وضعیت در مورد تفاوت بین دو گروه دیابتی و کنترل در هفته چهارم نیز وجودداشت (P<0.01). در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین نیز میزان افزایش سطح این آنزیم در هفته چهارم در مقایسه با گروه دیابتی کمتر بود، به طوری که سطح آنزیم در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین در حد ۲۰،۸٪ کمتر از گروه دیابتی تیمار نشده‌بود که این تفاوت از نظر آماری معنادار بود (P<0.05).



نمودار۴. فعالیت آنزیم آسپارتات آمینو ترانسفراز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با هسپرتین
*p<۰/۰۵ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)

سطح سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)

با اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در گروه‌های مختلف تحت بررسی در هفته‌های قبل از کار و هفته چهارم پس از کار مشخص شد (نمودار ٤ و جدول ١) که در هفته قبل از کار از نظر آماری تفاوتی معنادار بین گروه‌ها یافت‌نمی‌شود. هرچند که سطح این آنزیم در دو گروه کنترل و کنترل تحت تیمار با هسپرتین در حد مختصر پایین‌تر از گروه-های دیگر بود. با بررسی سطح آنزیم آسپارتات آمینوترانسفراز در هفته چهارم مشخص شد که افزایشی کم و غیر معنادار در گروه‌های کنترل و دیابتی تحت تیمار با هسپرتین وجوددارد. در گروه‌های دیابتی نیز، سطح این آنزیم در هفته چهارم، افزایشی به‌نسبت قابل ملاحظه و معنادار (P<0.05) در مقایسه با هفته قبل از کار در همین گروه نشان‌داد که همین وضعیت در مورد تفاوت بین دو گروه دیابتی و کنترل در هفته چهارم نیز وجودداشت (P<0.05). در گروه کنترل تحت تیمار با هسپرتین نیز کاهش سطح این آنزیم در هفته چهارم در مقایسه با همین گروه در هفته قبل از کاروجودداشت، که این تفاوت از نظر آماری معنادار نبود.

سطح آنزیم مالون دی آلدئید (MDA) در بافت کبد

با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید که شاخصی از استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید در بافت است، در گروه‌های مختلف تحت بررسی در هفته چهارم مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با هسپرتین یک کاهش مختصر و غیر معنادار در حد ۱۷،۲٪ نسبت به گروه کنترل نشان‌می‌دهد. در گروه دیابتی تیمارنشده در هفته چهارم، سطح مالون دی

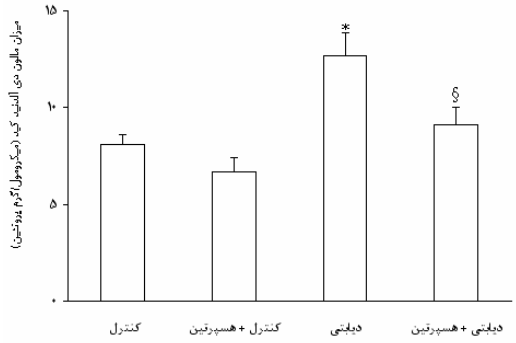
www.SID.ir

Archive of SID

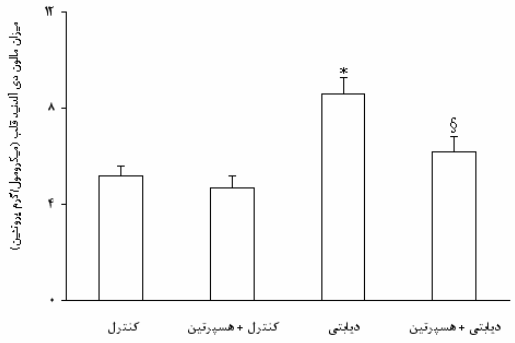
آلدئید، افزایشی قابل ملاحظه و معنی‌دار در حد ۳۶،۱٪ نسبت به گروه کنترل نشان‌داد (P<0.01) که همین وضعیت درباره تفاوت بین دو گروه دیابتی و کنترل در هفته چهارم نیز وجودداشت (P<0.01). در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به گروه کنترل در حد ۱۰،۹٪ بود؛ به‌علاوه در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین سطح مالون دی آلدئید در هفته چهارم به‌طور معنادار و در حد ۲۸،۲٪ کمتر از گروه دیابتی تیمارنشده بود (نمودار ۵ و جدول ۱) (P<0.05).

سطح آنزیم مالون دی آلدئید (MDA) در بافت قلب

با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید در بافت قلب در گروه‌های مختلف تحت بررسی طی هفته چهارم مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با هسپرتین، کاهشی مختصر و غیر معنادار در حد 8.6٪ نسبت به گروه کنترل نشان‌می‌دهد. در گروه دیابتی تیمارنشده در هفته چهارم، سطح مالون دی آلدئید، افزایشی قابل ملاحظه و معنی‌دار در حد 39.4٪ نسبت به گروه کنترل نشان‌داد (P<0.01) که همین وضعیت در مورد تفاوت بین دو گروه دیابتی و کنترل در هفته چهارم نیز وجودداشت (P<0.01). در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین نیز میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به گروه کنترل در حد 16.1٪ بود؛ به‌علاوه در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین سطح مالون دی آلدئید در هفته چهارم به‌طور معنادار و در حد 27.8٪ کمتر از گروه دیابتی تیمارنشده بود (نمودار ٦ و جدول ۱) (P<0.05).



نمودار۵. میزان مالون دی آلدئید بافت کبد در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با هسپرتین
***p<۰/۰۱ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، §p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده در همان هفته)**



نمودار ۶. میزان مالون دی آلدئید بافت قلب در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمارشده با هسپرتین
***p<۰/۰۱ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، § p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده در همان هفته)**

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. فعالیت آنزیم‌های آلانین و آسپارتات آمینوترانسفراز در سرم و میزان مالون دی آلدئید دو بافت قلب و کبد در گروه‌های مختلف در پایان کار

	فعالیت آلانین آمینوترانسفراز (IU/l)	فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز (IU/l)	میزان مالون دی آلدئید در بافت قلب (میکرومول/گرم)	میزان مالون دی آلدئید در بافت کبد (میکرومول/گرم)
کنترل	٦٩/٤ ± ٤/٢	٥٧/٤ ± ٤/١	٥/٢ ± ٠/٤	٨/١ ± ٠/٥
کنترل + هسپرتین	٦٤/٣ ± ٤/٧	٥٣ ± ٤/٩	٤/٧ ± ٠/٥	٦/٧ ± ٠/٧
دیابتی	٨٩/٩ ± ٥/٦**	٧٤/٣ ± ٤/١*	٨/٦ ± ٠/٧**	١٢/٧ ± ١/٢**
دیابتی + هسپرتین	٧١/٢ ± ٥/٢§	٦٧/٢ ± ٣/٣	٦/٢ ± ٠/٦§	٩/١ ± ٠/٩§

*p<۰/۰۵، **p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه کنترل)، § p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه دیابتی)

بحث

نتایج این بررسی نشان‌داد که تجویز ساب کرونیک فلاونوئید هسپرتین به میزان ده میلی‌گرم بر کیلوگرم به مدت چهار هفته در موش‌های دیابتی، از کاهش وزن حیوانات به‌طور غیر معنی‌دار جلوگیری‌کرده، کاهش معنی‌دار میزان گلوکز سرم را موجب شد؛ سطح فعالیت آلانین آمینوترانسفراز سرم را به‌طور معنی‌دار و سطح فعالیت آسپارتات آمینوترانسفراز سرم را به‌طور بی‌معنی در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش‌های دیابتی تیمارنشده کاهش‌داد و کاهش معنی‌دار میزان مالون دی آلدئید در دو بافت کبد و قلب موش‌های دیابتی‌شده را سبب گردید.

کاهش کمتر وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با هسپرتین را در این بررسی می‌توان به آثار هیپوگلیسمیک و ضد دیابتی آن نسبت‌داد؛ در همین ارتباط، مطالعه آکی یاما و همکاران (۲۰۰۹) روی اثر هیپوگلیسمیک مشتقات هسپرتین نشان‌می‌دهد که این فلاونوئید در جهت کاهش دادن مقاومت بافتی به انسولین عمل‌کرده، نیازمندی بافت به هورمون انسولین را از طریق تشدید فعالیت ترانسپورترهای گلوکز در دو بافت عضلانی و چربی کاهش‌می‌دهد (۱۷). به‌علاوه، مشتقات هسپرتین از طریق تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی مسئول متابولیسم کربوهیدرات‌ها از جمله کاهش فعالیت آنزیم فسفریلاز کبدی و افزایش فعالیت گلوکوکیناز و گلیکوژن سنتاز در جهت کاهش قند خون و برگشت وزن به حد طبیعی عمل‌می‌کنند (۱۷)؛ البته، با توجه به اینکه در بررسی حاضر، مدل دیابت قندی با استفاده از داروی سیتوتوکسیک استرپتوزوتوسین ایجاد گردید که تیپ ۱ بیماری با عوارض بیوشیمیائی جدی‌تر را سبب‌شد و سطح انسولین در آن به‌علت فقدان سلول‌های مترشحه انسولین به پایین‌ترین حد می‌رسد (۱)، لذا آثار سودمند هسپرتین بر سطح گلوکز خون را می‌توان به آثار خارج پانکراسی آن از جمله تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی در مسیرهای متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها و بهبود مصرف این مواد در دو بافت چربی و عضلانی نسبت‌داد که این امر، تا حدودی با مطالعه آکی یاما و همکاران مطابقت دارد (۱۷).

از طرف دیگر، تشدید استرس اکسیداتیو، بروز عوارض بیماری‌های متابولیک نظیر دیابت قندی را موجب می‌گردد (۱۸)؛ در این رابطه، به‌دنبال بروز دیابت با گذشت زمان میزان پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو افزایش‌می‌یابد که این خود را با بالا رفتن

www.SID.ir

Archive of SID

سطح برخی مارکرها نشان می‌دهد که بهترین آنها، مالون دی آلدئید است (۱۹). با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو به‌علت تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن بوده، این مواد به‌دنبال کامل‌کردن مدار الکترونی خود هستند، مواد تشکیل‌دهنده سلول از جمله ساختارهای پروتئینی و لیپیدی آسیب‌دیده که این با افزایش آزادشدن یکسری آنزیم‌ها به‌داخل خون، خود را نشان‌می‌دهد که در این رابطه سطح دو آنزیم کبدی و کلیوی آسپارتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در داخل خون افزایش‌می‌یابد (۲۰)؛ همچنین، مطالعات مختلف نشان‌داده‌اند که افزایش قند خون در دیابت، یکی از علل اصلی افزایش استرس اکسیداتیو است (۲۱،۲۲). در بررسی حاضر نیز افزایش سطح این‌آنزیم‌ها در سرم موش‌های دیابتی و افزایش سطح بافتی مالون دی آلدئید مشاهده شد که این مورد با گزارش‌های قبلی همخوانی دارد (۲۲،۲۳).

در این بررسی، تجویز هسپرتین به مدت یک ماه، کاهش سطح استرس اکسیداتیو در دو بافت قلب و کبد و کاهش سطح سرمی دو آنزیم آسپارتات و آلانین آمینوترانسفراز را موجب‌گردید. بخشی از آثار سودمند هسپرتین در تحقیق حاضر را می‌توان به تأثیر کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو آن به‌علت داشتن خاصیت آنتی اکسیدانتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نسبت‌داد (۸)؛ در این خصوص، نشان‌داده‌شده که فلاونوئیدها نظیر هسپرتین می‌توانند افزایش فعالیت آنتی اکسیدانت‌ها در بدن و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانتی را سبب‌شوند (۸،۳) که بدین ترتیب می‌توانند کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را به‌دنبال داشته‌باشند (۳) و این خود می‌تواند کاهش سطح مالون دی آلدئید در دو بافت کبد و قلب و سطح سرمی آلانین آمینو ترانسفراز در بررسی حاضر را نیز تا حدی توجیه‌می‌کند؛ بخش دیگر اثر سودمند هسپرتین در بررسی حاضر را می‌توان به اثر هیپوگلیسمیک آن نسبت‌داد که این از طریق کاهش دادن سطح محصولات نهائی گلیکوزیلاسیون (AGE)، کاهش استرس اکسیداتیو و نشانه‌های آن از جمله مالون دی آلدئید در نواحی بافتی را موجب‌می‌گردد (۱۵).

به‌طور خلاصه، در این بررسی برای اولین بار نشان‌داده‌شد که تجویز فلاونوئید هسپرتین به مدت یک ماه در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی، اثر آنتی هیپرگلیسمیک داشته، کاهش سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز و کاهش سطح مالون دی آلدئید در دو بافت کبد و قلب را موجب‌می‌گردد که این امر در کاهش عوارض ناشی از بیماری دیابت می‌تواند سودمند باشد.

تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر حاصل طرح‌نامه دانشجویی مصوب دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۸ است. در ضمن نویسندگان مقاله، مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد و سرکار خانم مریم شرایلی کارشناس گروه پاتولوژی برای کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام‌می‌کنند.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes Mellitus: Complications and therapeutics. Med Sci Monit 2006: 12: RA130-47.
2. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatement of diabetes mellitus: An overview. Cell Mol Biol 2003: 49: 635-9.
3. Shapiro K, Gong WC. Natural Products Used For Diabetes. J Am Pharm Assoc 2002: 42: 217-226.
4. Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, Ghirlanda G.
5. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. Rev Diabet Stud. 2010 Spring;7(1):15-25 .
6. Descorbeth M, Anand-Srivastava MB. Role of oxidative stress in high-glucose- and diabetes-induced increased expression of Gq/11alpha proteins and associated signaling in vascular smooth muscle cells. Free Radic Biol Med. 2010, in press.
7. Chang YC, Chuang LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. Am J Transl Res. 2010 ;2: 316-31.
8. Pazdro R, Burgess JR. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications. Mech Ageing Dev. 2010; 131: 276-86.
9. Hirata A, Murakami Y, Shoji M, Kadoma Y, Fujisawa S. Kinetics of radical-scavenging activity of hesperetin and hesperidin and their inhibitory activity on COX-2 expression. Anticancer Res. 2005;25:3367-74.
10. Aranganathan S, Panneer Selvam J, Nalini N. Hesperetin exerts dose dependent chemopreventive effect against 1,2-dimethyl hydrazine induced rat colon carcinogenesis. Invest New Drugs. 2009; 27(3): 203-13.
11. Monforte MT, Trovato A, Kirjavainen S, Forestieri AM, Galati EM, LoCurto RB. Biological effects of hesperidin, a citrus flavonoid (note II): hypolipidemic activity on experimental hypercholesterolemia in rats. Farmaco. 1995;50:595-599.
12. Bok SH, Lee SH, Choi MS. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. J Nutr. 1999;129:1182-1185.
13. Borradaile NM, Carroll KK, Kurowska EM. Regulation of HepG2 cell apolipoprotein B metabolism by the citrus flavanones hesperetin and naringenin. Lipids. 1999;34:591-8.
14. Kuppusamy UR, Das NP. Antilipolytic action of hesperetin in rat adipocytes. Planta Med. 1993;59:508-12.
15. Cha JY, Cho YS, Kim I, Anno T, Rahman SM, Yanagita T. Effect of hesperetin, a citrus flavonoid, on the liver triacylglycerol content and phosphatidate phosphohydrolase activity in orotic acid-fed rats. Plant Foods Hum Nutr. 2001;56:349-58
16. Choi EJ, Ahn WS. Neuroprotective effects of chronic hesperetin administration in mice. Arch Pharm Res. 2008;31:1457-62.
17. Jin YR, Han XH, Zhang YH, Lee JJ, Lim Y, Chung JH, Yun YP. Antiplatelet activity of hesperetin, a bioflavonoid, is mainly mediated by inhibition of PLC-gamma2 phosphorylation and cyclooxygenase-1 activity. Atherosclerosis. 2007;194:144-52.
18. Akiyama S, Katsumata S, Suzuki K, Nakaya Y, Ishimi Y, Uehara M. Hypoglycemic and hypolipidemic effects of hesperidin and cyclodextrin-clathrated hesperetin in Goto-Kakizaki rats with type 2 diabetes. Biosci Biotechnol Biochem. 2009;73(12):2779-82.
19. Maiese K, Chong ZZ, Shang YC. Mechanistic insights into diabetes mellitus and oxidative stress. Curr Med Chem 2007;14(16): 1729-38.
20. Wei W, Liu Q, Tan Y, Liu L, Li X, Cai L. Oxidative stress, diabetes, and diabetic complications. Hemoglobin 2009; 33(5):370-7
21. Pérez-Matute P, Zulet MA, Martínez JA. Reactive species and diabetes: counteracting oxidative stress to improve health. Curr Opin Pharmacol 2009;9(6): 771-9.
22. Rahangdale S, Yeh SY, Malhotra A, Veves A. Therapeutic interventions and oxidative stress in diabetes. Front Biosci 2009;14: 192-209.
23. Reis JS, Veloso CA, Mattos RT, Purish S, Nogueira-Machado JA. Oxidative stress: a review on metabolic signaling in type 1 diabetes. Arq Bras Endocrinol Metabol 2008; 52(7): 1096-105
24. Lopes JP, Oliveira SM, Soares Fortunato J. Oxidative stress and its effects on insulin resistance and pancreatic beta-cells dysfunction: relationship with type 2 diabetes mellitus complications. Acta Med Port 2008; 21(3): 293-302.

www.SID.ir