A-PDF Creator DEMO: Purchase from www.A-PDF.com to remove the watermark

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیستم– شماره ۱۰۱
آبان ۱۳۹۱

ارزیابی تجویز آپیجنین بر برخی از فاکتورهای مرتبط با استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش سفید بزرگ دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین

نویسندگان: دکتر رضا افشار*[1]، دکتر مهرداد روغنی[2]، فاطمه پوراسد مهربانی[3]

۱- دانشیار ـ گروه داخلی و نفرولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲- استاد ـ گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.
۳- دانش‌آموخته دانشکده پزشکی ـ دانشگاه شاهد، تهران، ایران
* نویسنده مسئول: R2afshar@yahoo.com

دریافت: ۹۱/۶/۱۸
آخرین اصلاح‌ها: ۹۱/۹/۱۸
پذیرش: ۹۱/۹/۱۹

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت قندی موجب افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت سیستم مقابله‌کننده با عوامل اکسیدانت در بدن می‌شود. با توجه به نقشی که تشدید استرس اکسیداتیو در آسیب به بافت کلیوی و نفروپاتی در حالت دیابت دارد و با درنظرگرفتن اثر ضددیابتی و آنتی‌اکسیدانی آپیجنین، هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر تجویز مزمن این فلاونوئید بر سطح بافتی برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش سفید بزرگ دیابتی است.

مواد و روش‌ها: موش‌های سفید بزرگ نر به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با آپیجنین، دیابتی و گروه دیابتی تحت درمان با آپیجنین تقسیم‌شدند؛ آپیجنین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌مدت سه هفته و از یک هفته پس از القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین تجویزشد؛ در پایان کار، سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در بافت کلیه اندازه‌گیری‌شد.

نتایج: سطح مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات در بافت کلیوی موش‌های دیابتی افزایش معنادار (به‌ترتیب $p<0/01$ و $p<0/05$) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز کاهش معنی‌دار ($p<0/01$) را در مقایسه با گروه کنترل نشان‌دادند، ولی تیمار موش‌های دیابتی با آپیجنین، سبب کاهش معنی‌دار سطح مالون دی آلدئید، کاهش معنی‌دار نیتریت و افزایش مورد انتظار معنی‌دار در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در مقایسه با گروه دیابتی نشد.

نتیجه‌گیری: تجویز مزمن آپیجنین آثاری معنی‌دار بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو اندازه‌گیری‌شده در این پژوهش در بافت کلیوی موش‌های دیابتی نداشت و مشخص شد که آثار آنتی‌اکسیدان این ترکیب در حدی نیست که بتواند از بروز آسیب‌های کلیوی در مدل القا دیابت توسط استرپتوزوسین جلوگیری‌کند.

واژگان کلیدی: آپیجنین، دیابت قندی، استرس اکسیداتیو، کلیه

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

مقدمه

بیماری دیابت قندی، نوعی یک بیماری متابولیک با شیوع بالا در گروه بیماری‌های غدد درون‌ریز بدن محسوب می‌شود که از نظر میزان رخداد، روندی روبه‌رشد در جامعه انسانی نشان‌می‌دهد (۱)؛ این بیماری، گروهی از اختلال‌های متابولیک را دربرمی‌گیرد که وجه مشترک تمام آنها بالارفتن سطح قند خون است. دیابت قندی بر اثر تعامل میان عوامل ژنتیکی، فاکتورهای محیطی و شیوه زندگی رخ‌می‌دهد. در میان عوارض ناشی از دیابت، نفروپاتی، شایع‌ترین علت نارسایی کلیه در دراز مدت به‌حساب‌می‌آید (۲)، بسیاری از بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی بر اثر بیماری‌های قلبی و عروقی فوت‌می‌کنند (۳)؛ همچنین، در بیماران دیابتی، احتمال تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از فرم‌های فعال اکسیژن افزایش‌می‌یابد و این عامل، فاکتوری مهم در ایجاد عوارض ناشی از دیابت مانند نفروپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی و بیماری‌های قلبی و عروقی به‌شمارمی‌رود (٤)؛ در این خصوص، استرس اکسیداتیو با چند ساختار در ایجاد نفروپاتی دیابتی نقش‌دارد (۵).

آپیجنین یک فلاوون و آگلیکون مشتق از گلیکوزیدها محسوب می‌شود که در بسیاری از میوه‌ها به مقدار کم تا متوسط یافت‌می‌شود. نتایج تحقیق‌های پیشین نشان‌می‌دهند که این ماده، دارای خاصیت حفاظت سلول‌های بتا پانکراس در برابر آثار سمی‌استرپتوزوتوسین و پایین‌آورنده قند خون است؛ همچنین، آثار حفاظتی آن در اندوتلیوم آئورت در برابر استرس اکسیداتیو و شل‌کنندگی عروقی آن پیش‌تر مورد تأیید قرارگرفته‌است (٦ تا ۱۳)؛ در این بررسی، اثر تجویز این فلاونوئید بر برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های سفید بزرگ دیابتی‌شده توسط استرپتوزوتوسین بررسی‌شد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از ۳۲ سر موش سفید بزرگ نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۲۰ تا ۳۱۰ گرم استفاده‌شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱ تا ۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های سه تا چهار تایی در هر قفس قرارداده‌شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) به‌مدت شش هفته دسترسی‌داشتند؛ درضمن، بررسی براساس پروتکل‌ها و دستورالعمل‌های توصیه‌شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و توصیه‌های اخلاقی مصوب دانشگاه شاهد (تهران، ایران) به‌انجام‌رسید؛ در این بررسی از آن دسته موش‌های سفید بزرگ نر استفاده‌شد که در شرایط طبیعی، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود؛ در این خصوص از شبکه رتروارباتال و لوله موئینه برای خونگیری استفاده‌شد. حجم خون اخذشده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی‌لیتر بود. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه کنترل، دیابتی، کنترل تحت تیمار با آپیجنین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با آپیجنین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم‌شدند. دوز آپیجنین براساس آزمایش‌های پیلوت و رفرانس‌های موجود انتخاب‌شد. آپیجنین یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین به‌مدت سه هفته (داخل صفاقی) تجویزشد. برای دیابتی‌کردن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ٦۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل‌شده در محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده‌شد؛ یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی‌بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکویاب، تهران) کنترل شد 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 درنظرگرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری می‌کند به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه‌یافتند؛ درضمن، کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌های دیابتی‌شده دیده‌شد. تعیین میزان وزن حیوانات، پیش از انجام کار و طی هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی به‌انجام‌رسید؛ همچنین، اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام‌شد.

سنجش مالون دی‌آلدئید (MDA)

پس از پایان کار، بافت کلیه جدا می‌شود و پس از شستشو با محلول سالین سرد و خشک‌کردن به‌سرعت توزین‌شده، سپس بافت به همراه بافر تریس به‌مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه (۱۰٪) شد و محلول هموژنیزه‌شده،

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

سانتریفوژشد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمام این مراحل در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام‌شد؛ سپس، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، بخش زیرین رسوب‌کرده دورریخته‌شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده‌شد. اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید MDA براساس روشی است که اساس آن، واکنش تیوباربیتوریک اسید TBA است که در دمای جوش انجام‌می‌گیرد (١٤). در این آزمایش، مالون دی آلدئید یا مواد شبه‌مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش‌داده، رنگ صورتی ایجادمی‌کند که ماکزیمم جذب نوری آن در طول موج ٥٣٢ نانومتر است؛ این واکنش در PH= 2- 3 و در دمای ٩٠ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ٨٠ دقیقه انجام‌شد. بعد از سردکردن نمونه، جذب نوری در طول موج 532 nm در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده‌شد؛ منحنی استاندارد نیز براساس رقت‌های تترااتوکسی پروپان تهیه‌شد.

سنجش میزان پروتئین

سنجش پروتئین به روش برادفورد انجام‌گرفت (١٥)؛ در این روش، ابتدا معرف مرتبط تهیه‌شد؛ برای تهیه این معرف، ٢٥ میلی‌گرم کوماسی بلو در ١٢/٥ میلی‌لیتر اتانول ٩٥ درصد حل‌شد؛ سپس ٢٥ میلی‌لیتر اسید فسفریک ٨٥ درصد اضافه شد؛ هنگامی‌که رنگ حل‌شد حجم آن به ١ لیتر رسانده‌شد و از کاغذ صافی عبور‌داده‌شد؛ برای تهیه محلول استاندارد نیز از آلبومین سرم گاوی استفاده‌شد؛ جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 595 nm خوانده‌شد.

سنجش میزان نیتریت

به دلیل اینکه سنجش مستقیم نیتریک اکساید در بافت‌های زنده مشکل است، میزان نیتریت و نیترات به عنوان شاخص نیتریک اکساید محسوب می‌شود (١٤). محلول کاری شامل سولفانیل آمید ١درصد، نفتیلن اتیلن دی آمید دی هیدروکلرید ٠/١ درصد و ارتوفسفریک اسید ٢/٥ درصد بود. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٥٤٠ نانومتر خوانده‌شد و برای منحنی استاندارد از رقت‌های مختلف نیتریت سدیم استفاده‌شد.

سنجش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

اساس این اندازه‌گیری بر مهار احیای نیتروبلوتترازولیوم توسط سیستم گزانتین–گزانتین اکسیداز به‌عنوان تولیدکننده سوپراکسید است (١٤)؛ در این آزمایش از محلول کاری شامل گزانتین، گزانتین اکسیداز در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلوتترازولیوم استفاده‌شد؛ جذب نوری هر نمونه به‌مدت ٥ دقیقه هر ٣٠ ثانیه یکبار خوانده‌شد. برای به‌دست‌آوردن درصد مهار انجام‌شده توسط آنزیم SOD، داده‌های به‌دست‌آمده از فرمول مرتبط، براساس دستورالعمل کیت استفاده‌شد. با انطباق درصد مهار روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم به‌دست‌آمد و فعالیت آن برحسب واحد بین‌الملل در میلی‌گرم پروتئین گزارش‌شد.

آنالیز آماری

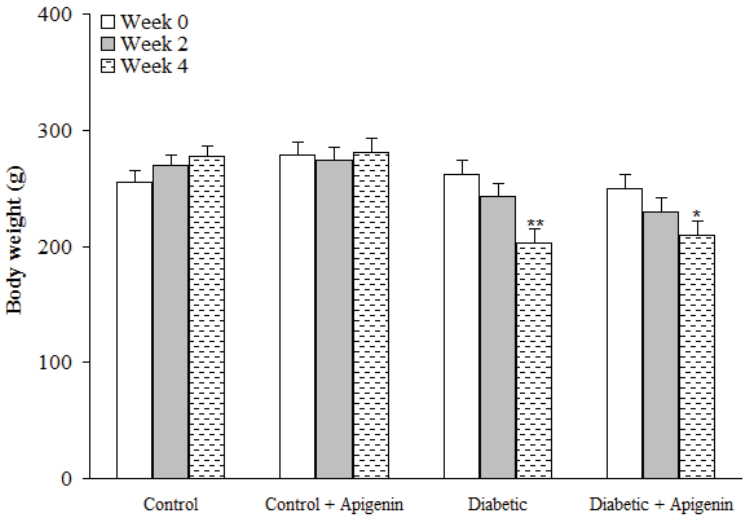
از نظر آماری، تمامی نتایج، به‌صورت میانگین ± انحراف معیار بیان‌شدند. پس از مشخص‌کردن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر مؤلفه در هریک از گروه‌ها پیش و بعد از بررسی از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هریک از پریودهای زمانی از آزمون آنووا یک‌طرفه و پست تست توکی استفاده‌شد؛ به‌علاوه سطح معنی‌دار، $p<0.05$ برای تمامی آنالیزها درنظرگرفته‌شد.

نتایج

وزن حیوانات در هفته پیش از بررسی و هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در تمام گروه‌ها اندازه‌گیری‌شد؛ نتایج به‌دست‌آمده نشان‌داد که میزان وزن در هفته پیش از بررسی، تفاوتی معنی‌دار میان گروه‌ها نشان‌نمی‌دهد، درحالی‌که طی هفته‌های دوم و چهارم، تفاوت معنی‌دار میان گروه‌ها مشاهده‌شد؛ در این خصوص، در هفته چهارم، گروه دیابتی، کاهشی بارز و معنی‌دار (p<٠/٠١) را در حد متوسط در مقایسه با هفته پیشین کار نشان‌داد؛ همچنین، هرچند در هفته دوم نیز این کاهش وجودداشت تفاوت موجود به سطح معنی‌دار نرسید؛ همچنین، تفاوت موجود میان دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با آپیجنین نیز در هفته‌های دوم و چهارم در حد معنی‌دار نبود؛ ازسوی‌دیگر، تیمار گروه کنترل با آپیجنین در همین هفته‌ها تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه کنترل تیمارنشده ایجادنکرد؛ هرچند، میزان وزن در حد مختصر از گروه کنترل کمتر بود؛ البته در گروه دیابتی در هفته چهارم، اندازه‌گیری وزن حاکی از کاهش معنی‌دار به میزان متوسط (p<٠/٠١) نسبت‌به

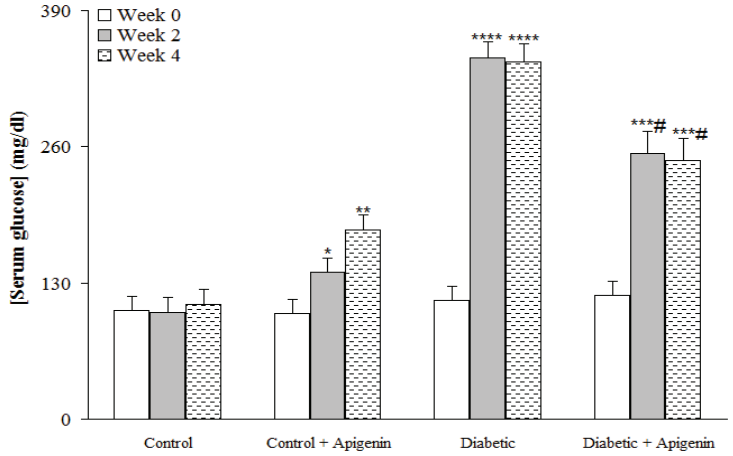
Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

اندازه‌گیری اولیه بود و در گروه دیابتی تیمارشده نیز این کاهش وزن به‌طور معنی‌دار و به میزان کم (p<۰/۰۵) نسبت‌به وضعیت پایه مشاهده‌شد (نمودار ۱).



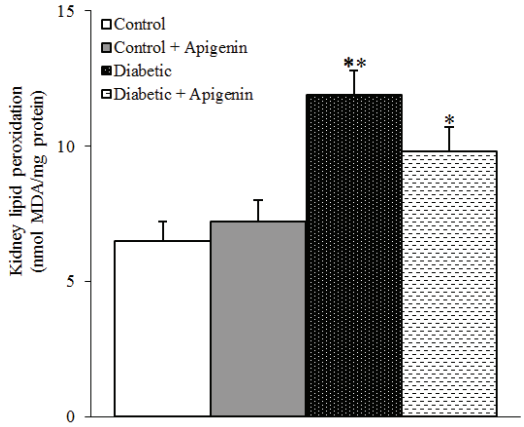
نمودار ۱. تغییرهای وزن در هفته‌های مختلف در موش‌های سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمارشده با آپیجنین * p<۰/۰۵، p<۰/۰۱، (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)

با اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم در هفته‌های پیش از بررسی و دوم و چهارم پس از بررسی در تمام گروه‌ها مشخص شد که در هفته پیش از بررسی، تفاوت معنی-دار، میان گروه‌ها یافت‌نمی‌شود؛ به‌علاوه، در گروه کنترل تیمارشده با آپیجنین افزایش معنی‌دار میزان گلوکز در هفته‌های دوم و چهارم (p<۰/۰۵ و p<۰/۰۱) دیده‌شد و در گروه دیابتیک نیز افزایش معنی‌دار به میزان بیشتر (p<۰/۰۰۰۵) در هفته‌های دوم و چهارم مشاهده‌شد؛ همچنین در گروه دیابتیک تحت تیمار با آپیجنین نیز افزایش معنی‌دار (p<۰/۰۰۵)د در هفته‌های دوم و چهارم ثبت‌شد؛ ازطرفی، تیمار با آپیجنین، سبب کاهش معنی‌دار گلوکز پلاسما در هفته‌های دوم و چهارم (p<۰/۰۱) در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده شد (نمودار۲).



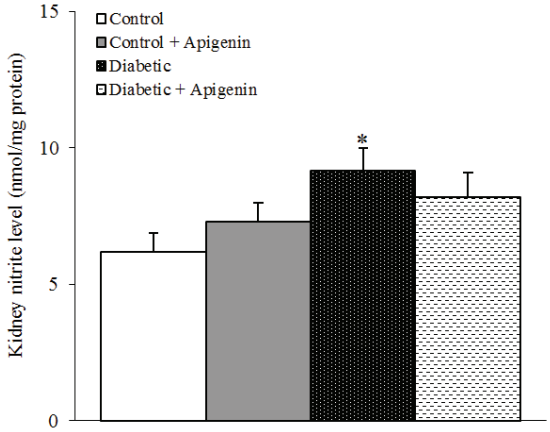
نمودار ۲. تغییرهای گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موش‌های سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمارشده با آپیجنین
* p<۰/۰۵، ** p<۰/۰۱، *** p<۰/۰۰۵ ، **** p<۰/۰۰۰۵ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، # p<۰/۰۱ (در مقایسه با گروه دیابتی تیمارنشده در همان هفته)

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018



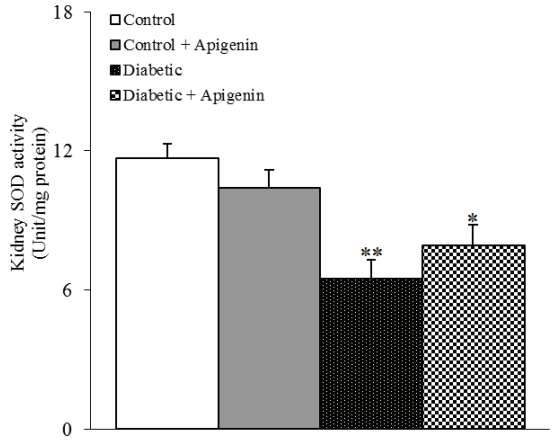
نمودار ۳ . میزان مالون دی آلدئید بافت کلیه در موش‌های سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمارشده با آپیجنین

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



نمودار ٤. میزان نیتریت بافت کلیه در موش‌های سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمارشده با آپیجنین

*p<۰/۰۵ (در مقایسه با گروه کنترل)



نمودار ۵. میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در بافت کلیه در موش‌های سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمار-شده با آپیجنین

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

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

نمودار ۳، نتایج مربوط به اندازه‌گیری سطح مالون-دی‌آلدئید به‌عنوان یک شاخص استرس اکسیداتیو را در هموژنه بافت کلیه حیوانات تحت بررسی نشان‌می‌دهد. تجویز آپیجنین در حیوانات گروه کنترل، تغییری معنادار و قابل‌ملاحظه را در سطح مالون‌دی‌آلدئید ایجادنکرد و نوعی افزایش معنی‌دار سطح مالون‌دی‌آلدئید به میزان ۸۳ درصد در گروه دیابتی، نسبت‌به گروه کنترل (p<0.01) و افزایشی معنادار به میزان ۵۰/۸ درصد در گروه دیابتی تیمار شده با آپیجنین (P<0.05) در مقایسه با گروه کنترل وجودداشت؛ به‌علاوه، سطح مالون‌دی‌آلدئید هموژنه کلیه گروه دیابتی تحت تیمار با آپیجنین نیز تفاوتی معنادار نسبت‌به گروه دیابتی تیمارنشده نشان‌نداد هرچند تفاوت موجود، حاکی از کاهش ۱۷/٦ درصدی میزان مالون‌دی-آلدئید در گروه دیابتی تحت تیمار در مقایسه با گروه دیابتی بود.

نمودار٤ نتایج مربوط به اندازه‌گیری نیتریت را در هموژنه بافت کلیه حیوانات گروه‌های مختلف نشان‌می-دهد، همان‌طورکه مشاهده‌می‌شود سطح نیتریت در گروه کنترل تیمارشده با آپیجنین در پایان چهار هفته به‌صورت غیرمعنی‌دار و به میزان ۱۷/۷ درصد بیشتر از گروه کنترل تیمارنشده بود؛ به‌علاوه، افزایشی معنادار در سطح نیتریت در گروه دیابتی تیمارنشده به میزان ٤٨/٤ درصد نسبت‌به گروه کنترل مشاهده‌شد (P<0.05)؛ همچنین در گروه دیابتی تیمارشده با آپیجنین سطح نیتریت به‌صورت غیرمعنی‌دار به میزان ۱۰/۸ درصد نسبت‌به گروه دیابتی تیمارنشده کمتر بود.

نمودار شماره ۵، نتایج مربوط به اندازه‌گیری سطح فعالیت سوپراکسیددیسموتاز به‌عنوان یک آنزیم حفاظتی در هموژنه بافت کلیه حیوانات گروه‌های مختلف را نشان‌می‌دهد؛ همان‌طورکه مشاهده‌می‌شود، سطح آنزیم به‌طور غیرمعنادار و به میزان ۱۱/۱ درصد در گروه کنترل تیمارشده با آپیجنین کمتر از گروه کنترل تیمارنشده بود؛ فعالیت این آنزیم در گروه دیابتی تیمارنشده، کاهش بارز و معنی‌دار را به میزان ٤٤/٤ درصد نسبت‌به گروه کنترل نشان‌داد (P<0.01) که این کاهش در گروه دیابتی تیمارشده با آپیجنین کمتر و در حد ۳۲/۵ درصد در مقایسه با گروه کنترل بود (P<0.05)؛ همچنین تفاوت سطح آنزیم در دو گروه دیابتی تیمارشده و دیابتی تیمارنشده غیرمعنادار بوده هرچند فعالیت آنزیم در گروه دیابتی تیمارشده به میزان ۲۱/۵ درصد بیشتر بود.

بحث

نتایج این بررسی نشان‌داد که موش‌های دیابتی یک افزایش معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید (p<۰/۰۱) و نیتریت و نیترات (p<۰/۰۵) و کاهش معنی-دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (p<۰/۰۱) نسبت‌به گروه کنترل نشان‌می‌دهند و درمان موش‌های دیابتی با آپیجنین سطح مالون دی آلدئید را به‌طور معنی-دار کاهش‌نداد؛ از نظر نیتریت نیز آپیجنین موفق به کاهش معنی‌دار آن در موش‌های دیابتی نشد؛ ازطرف-دیگر، تیمار موش‌های دیابتی با آپیجنین نیز موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در مقایسه با گروه دیابتی نشد. از نظر وزن نیز، این فلاونوئید قادر به جلوگیری از کاهش معنی‌دار وزن در موش‌های دیابتی نشد هرچند که تجویز آن، قادر به کاهش معنی‌دار قند خون شد.

نتایج مطالعات پیشین نشان‌می‌دهد که به‌طورکلی در حالت دیابت قندی شامل نوع ۱ و ۲، استرس اکسیداتیو به دلیل تشدید ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و به-صورت افزایش سطح بافتی و سرمی‌مالون دی آلدئید افزایش‌می‌یابد و سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانتی از-جمله آنزیم سوپر اکسید دیس موتاز کاهش فعالیت نشان‌می‌دهند که این تغییرها مسئول بخشی از آسیب‌های بافتی در حالت دیابت هستد (۲) که این تاحدودی در بررسی حاضر نیز به‌دست‌آمد؛ در این خصوص مشخص شده‌است که القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت توسط ترکیب‌های طبیعی، اقدامی مهم برای حفاظت سلول‌ها در مقابل انواع مختلف ترکیب‌های سمی درونی و بیرونی ازقبیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن محسوب می‌شود (٤) و دیابت القاشده با استرپتوزوتوسین با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت اندوژن می‌تواند موجب تشدید آسیب بافتی شود (٤). کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در موش‌های دیابتی در این بررسی مشاهده‌شد که ممکن است به دلیل افزایش پراکسیداسیون لیپید و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد که این با نتایج بررسی‌های پیشین مطابقت‌دارد (١٦)؛ در این خصوص، به‌دنبال بروز دیابت

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

با گذشت زمان، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو افزایش‌می‌یابد که این خود را با بالارفتن سطح برخی نشانگرها نشان‌می‌دهد که از بهترین آنها، مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات قابل‌اشاره‌اند (۱۷).

با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو به دلیل تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن است و این مواد به‌دنبال کامل‌کردن مدار الکترونی خود هستند، مواد تشکیل‌دهنده سلول ازجمله ساختارهای پروتئینی و لیپیدی آسیب‌می‌بینند که این با تغییرهای سطح آنزیم‌های بافتی، نظیر کاهش سوپراکسید دیس موتاز خود را نشان‌می‌دهد (۱۸)؛ در این بررسی، تجویز فلاونوئید آپیجنین، موجب کاهش معنی‌دار سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت کلیه نشد. هرچند آثار سودمند این فلاونوئید به‌صورت آثار کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو به دلیل دارابودن خاصیت آنتی‌اکسیدانتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نشان‌داده‌شده، تجویز آن در این بررسی، موفق به کاهش معنی‌دار شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی نشد که یک دلیل آن، شاید تفاوت در میزان دوز و برنامه زمانی تجویز و نوع دیابت می‌تواندباشد که در یک مطالعه به‌عنوان نمونه دیابت توسط آلوکسان ایجادشده‌بود (۸).

به‌علاوه، تجویز فلاونوئید آپیجنین به موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین در این تحقیق، دارای اثر کاهنده قند خون بود که نتایجی به‌طور تقریبی، مشابه نیز پیش‌تر در این خصوص گزارش‌شده‌است؛ در این زمینه، نتایج مطالعات گذشته نشان‌داده‌اند که چنین فلاونوئیدهایی قادر به افزایش حساسیت بافتی به هورمون انسولین در موش‌های سفید بزرگ هستند و موجب بهبود عملکرد در تست تحمل داخل وریدی گلوکز می‌شوند که در اینجا تشدید مسیرهای سیگنالینگ پست رسپتوری انسولین در بافت عضلانی نقشی مهم ایفامی‌کند؛ حتی توسط برخی محققان ادعاشده‌است که آپیجنین در موش‌های دیابتی‌شده می‌تواند برداشت گلوکز توسط دو بافت عضلانی و کبدی را در موش سفید بزرگ دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین را افزایش‌دهد که این می‌تواند به‌طور مؤثر در جهت کاهش قند خون عمل‌کند (۱۹)؛ به‌علاوه مشخص شده که فلاونوئیدها نظیر آپیجنین در بافت کبد به‌طور مستقیم، موجب بهبود متابولیسم گلیکوژن در موش‌های سفید بزرگ دیابتی می‌شوند و جذب سلولی گوکز را توسط بافت چربی تحریک‌می‌کنند (۲۰)؛ همچنین، درخصوص اثر هیپوگلیسمیک آپیجنین نیز مشخص شده‌است که این فلاونوئید قادر به تحریک برداشت گلوکز در نواحی بافتی در موش‌های دیابتی‌شده است و البته می‌تواند ترشح انسولین را پس از درمان خوراکی در موش‌های هیپرگلیسمیک تحریک کند؛ به‌علاوه احتمال‌داده‌شده که بخشی از آثار سودمند آپیجنین بر قند خون به دلیل اثرهای شبه‌انسولینی آن در دو بافت کبد و چربی باشد (۲۱) که این ساختارها به‌احتمال، تاحدودی در تحقیق حاضر رخ‌داده‌است؛ البته لازم به اشاره است که این فلاونوئید در دوزها و برنامه زمانی تجویزشده، اثری هیپوگلیسمیک در حد کم در موش‌های دیابتی‌شده اعمال‌کرده و شاید به همین دلیل، این فلاونوئید قادر به جلوگیری از کاهش وزن در موش‌های دیابتی‌شده با استرپتوزوتوسین در حد معنی‌دار نشده‌است. برخلاف اثر آنتی‌هیپرگلیسمیک اعمال‌شده از طرف آپیجنین در موش‌های دیابتی، تجویز این فلاونوئید به موش‌های کنترل برخلاف انتظار، موجب افزایش قند خون و اعمال اثری هیپرگلیسمیک در حد متوسط شد. در توجیه این اثر مشخص شده که برخی فلاونوئیدها نظیر آپیجنین در حالت نرمال ممکن است موجب افزایش مقاومت بافتی به انسولین و حتی کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتا شوند (۲۲) که این به‌احتمال در بررسی حاضر رخ‌داده‌است هرچند خود به مطالعات بیشتر نیازدارد.

از محدودیت‌های بررسی حاضر نیز می‌توان به نبود ارزیابی بافت‌شناسی کلیه موش‌های دیابتی به‌دنبال تجویز آپیجنین و بررسی شاخص‌های ادراری مرتبط با عملکرد کلیه اشاره‌کرد که انجام این موارد در مطالعات بعدی توصیه‌می‌شود.

به‌طور خلاصه می‌توان‌نتیجه‌گیری‌کرد که تجویز تحت حاد آپیجنین هرچند دارای اثر پایین‌آورندگی قند خون است، اثر مطلوب و معنی‌دار بر برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های سفید بزرگ دیابتی ندارد و به‌احتمال در جلوگیری از بروز آسیب کلیوی در دیابت نمی‌تواند مؤثر باشد.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 14:22 IRST on Thursday February 22nd 2018

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر، حاصل پایان‌نامه دانشجویی مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۹۰ است و با حمایت مالی این دانشگاه به‌انجام‌رسیده‌است که بدین‌وسیله قدردانی‌می‌کنیم؛ درضمن، نویسندگان مقاله، مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم *فریبا انصاری*، کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایش‌ها اعلام‌می‌کنند.

منابع

1. Leahy JL. Insulin therapy in type 2 diabetes mellitus. Endocrinol Metab Clin North Am. 2012; 41: 119-44.

2. Lehman R, Gerber PA. End-stage nephropathy in type 1-diabetes mellitus - kidney transplantation alone or combined with islet or pancreas transplantation?. Ther Umsch. 2011;68:699-706.

3. Carpenter CH, Gringgs R, Loscalzo J.Cecil Essential of internal medicine, 6th edition, Saunders Company, 2004.

4. Nair M. Diabetes mellitus. Part 1: physiology and complications. Br J Nurs. 2007; 16: 184-8.

5. International Diabetes Federation, International Society of Nephrology. Diabetes and Kidney disease: Time to Act. Brussels: International Diabetes Federation; 2003: 15-45.

6. Yamagata K, Miyashita A, Matsufuji H, Chino M. Dietary flavonoid apigenin inhibits high glucose and tumor necrosis factor alpha-induced adhesion molecule expression in human endothelial cells. J Nutr Biochem. 2010; 21:116-24.

7. Cazarolli LH, Folador P, Moresco HH, Brighente IM, Pizzolatti MG, Silva FR. Mechanism of action of the stimulatory effect of apigenin-6-C- (2''-O-alpha-l-rhamnopyranosyl)-beta-L-fucopyranoside on 14C-glucose uptake. Chem Biol Interact. 2009; 179 (2-3):407-12.

8. Panda S, Kar A. Apigenin(4',5,7-trihydroxyflavone) regulates hyperglycaemia, thyroid dysfunction and lipid peroxidation in alloxan-induced diabetic mice. J Pharm Pharmacol. 2007; 59 (11):1543-8.

9. Sui H, Yu Q, Zhi Y, Geng G, Liu H, Xu H. Effects of apigenin on the expression of anglotensin-converting enzyme 2 in kidney in spontaneously hypertensive rats. Wei Sheng Yan Jiu. 2010; 39 (6):693-6.

10. Singh JP, Selvendiran K, Banu SM, Padmavathi R, Sakthisekaran D. Protective role of Apigenin on the status of lipid peroxidation and antioxidant defense against hepatocarcinogenesis in Wistar albino rats. Phytomedicine. 2004; 11: 309-14.

11. Jin BH, Qian LB, Chen S, Li J, Wang HP, Bruce IC, Lin J, Xia Q. Apigenin protects endothelium-dependent relaxation of rat aorta against oxidative stress. Eur J Pharmacol. 2009; 616: 200-5.

12. Ma X, Li YF, Gao Q, Ye ZG, Lu XJ, Wang HP, Jiang HD, Bruce IC, Xia Q. Inhibition of superoxide anion-mediated impairment of endothelium by treatment with luteolin and apigenin in rat mesenteric artery. Life Sci. 2008 Jul 18;83: 110-7.

13. Kim TJ, Zhang YH, Kim Y, Lee CK, Lee MK, Hong JT, Yun YP. Effects of apigenin on the serum- and platelet derived growth factor-BB-induced proliferation of rat aortic vascular smooth muscle cells. Planta Med. 2002; 68:605-9.

14. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Chronic epigallocatechin-3-gallate ameliorates learning and memory deficits in diabetic rats via modulation of nitric oxide and oxidative stress. Behav Brain Res. 2011; 224: 305-10.

15. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976; 72: 248-54.

16. Naudi A, Jove M, Ayala V, Cassanye A, Serrano J, Gonzalo H, Boada J, Prat J, Portero-Otin M, Pamplona R. Cellular dysfunction in diabetes as maladaptive response to mitochondrial oxidative stress. Exp Diabetes Res. 2012; 2012: 696215.

17. Victor VM, Rocha M, Herance R, Hernandez-Mijares A. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in type 2 diabetes. Curr Pharm Des. 2011;17: 3947-58.

18. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. Clin Chem Lab Med. 2011; 49: 1773-82.

19. Cazarolli LH, Folador P, Moresco HH, Brighente IM, Pizzolatti MG, Silva FR.Mechanism of action of the stimulatory effect of apigenin-6-C-(2''-O-alpha-l-rhamnopyranosyl)-beta-L-fucopyranoside on 14C-glucose uptake.Chem Biol Interact. 2009; 179: 407-12.

20. Cazarolli LH, Folador P, Moresco HH, Brighente IM, Pizzolatti MG, Silva FR. stimulatory effect of apigenin-6-C-beta-L-fucopyranoside on insulin secretion and glycogen synthesis.Eur J Med Chem. 2009; 44: 4668-73

21. Cazarolli LH, Kappel VD, Pereira DF, Moresco HH, Brighente IM, Pizzolatti MG, Silva FR.Anti-hyperglycemic action of apigenin-6-C-β-fucopyranoside from Averrhoa carambola. Fitoterapia. 2012; 83: 1176-83.

22. Song Y, Manson JE, Buring JE, Sesso HD, Liu S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. Am Coll Nutr. 2005; 24: 376-84.