دانشور
پزشکی

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

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

1- دانشیار گروه داخلی و نفرولوژی- تهران، دانشگاه شاهد، بیمارستان شهید مصطفی خمینی
2- استاد فیزیولوژی - تهران، دانشگاه شاهد، مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی
3- دانش آموخته دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد
* نویسنده مسئول: دکتر مهراد روغنی mehjour@yahoo.com

وصول:
آخرین اصلاحات:
پذیرش:

چکیده

مقدمه و هدف: دیابت قندی موجب افزایش استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت سیستم مقابله کننده با عوامل اکسیدانت در بدن می شود. با توجه به نقشی که تشدید استرس اکسیداتیو در آسیب به بافت کلیوی و نفروپاتی در حالت دیابت دارد و با در نظر گرفتن اثر ضد دیابتی و آنتی اکسیدانی آپیجنین، هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر تجویز مزمن این فلاونوئید بر سطح بافتی برخی شاخص های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش سفید بزرگ دیابتی است.

مواد و روش‌ها: موش های سفید بزرگ نر به چهار گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با آپیجنین، دیابتی، و گروه دیابتی تحت درمان با آپیجنین تقسیم شدند. آپیجنین به میزان 10 میلی گرم بر کیلوگرم به مدت 3 هفته و از یک هفته پس از القا دیابت توسط استرپتوزوتوسین تجویز شد. در پایان کار، سطح بافتی مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در بافت کلیه اندازه گیری شد.

نتایج: سطح مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات در بافت کلیوی موش های دیابتی افزایش معنادار (به ترتیب $p<0/01$ و $p<0/05$) و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز کاهش معنی دار ($p<0/01$) را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند، ولی تیمار موش های دیابتی با آپیجنین سبب کاهش معنی دار سطح مالون دی آلدئید، کاهش معنی دار نیتریت و افزایش مورد انتظار معنی دار در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در مقایسه با گروه دیابتی نشد.

نتیجه‌گیری: تجویز مزمن آپیجنین سبب اثرات معنی داری بر شاخص های استرس اکسیداتیو اندازه گیری شده در این پژوهش در بافت کلیوی موش های دیابتی نداشت و مشخص شد که اثرات آنتی اکسیدان این ترکیب در حدی نیست که بتواند از بروز آسیب های کلیوی در مدل القا دیابت توسط استرپتوزوسین جلوگیری کند.

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

مقدمه

بیماری دیابت قندی یک بیماری متابولیک با شیوع بالا در گروه بیماریهای غدد درون‌ریز بدن محسوب می گردد که از نظر میزان رخداد، یک روند رو به رشد در جامعه انسانی نشان می‌دهد (1). این بیماری گروهی از اختلالات متابولیک را در بر می‌گیرد که وجه مشترک تمام آنها بالا رفتن سطح قند خون می‌باشد. دیابت قندی در اثر تعامل بین عوامل ژنتیکی، فاکتورهای محیطی، و شیوه زندگی رخ می‌دهد. در بین عوارض ناشی از دیابت، نفروپاتی شایع‌ترین علت نارسایی کلیه در دراز مدت به حساب می‌آید (2)، بسیاری از بیماران مبتلا به نفروپاتی دیابتی در اثر بیماری‌های قلبی و عروقی فوت می کنند (3). همچنین، در بیماران دیابتی ، احتمال تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از فرم‌های فعال اکسیژن افزایش می یابد و این عامل، یک فاکتور مهم در ایجاد عوارض ناشی از دیابت مانند نفروپاتی، نوروپاتی، رتینوپاتی و بیماری‌های قلبی و عروقی به شمار می رود (4). در این رابطه، استرس اکسیداتیو با چند مکانیسم در ایجاد نفروپاتی دیابتی نقش دارد (5).

آپیجنین یک فلاوون و آگلیکون مشتق از گلیکوزیدها محسوب می‌شود که در بسیاری از میو ه‌ها به مقدار کم تا متوسط یافت می‌شود. نتایج تحقیقات قبلی نشان می دهد که این ماده دارای خاصیت حفاظت سلولهای بتا پانکراس در برابر اثرات سمی‌استرپتوزوتوسین و پائین آورنده قند خون می‌باشد. همچنین، اثرات حفاظتی آن در اندوتلیوم آئورت در برابر استرس اکسیداتیو و شل کنندگی عروقی آن قبلاً مورد تائید قرار گرفته است (6-13). در این بررسی اثر تجویز این فلاونوئید بر برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های سفید بزرگ دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی از 32 سر موش سفید بزرگ نر نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی 220-310 گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای 21-23 درجه سانتی گراد در گروه‌های 3 تا 4 تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) به مدت 6 هفته دسترسی داشتند. در ضمن، بررسی بر اساس پروتکلها و دستورالعملهای توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و توصیه‌های اخلاقی مصوب دانشگاه شاهد (تهران، ایران) به انجام رسید. در این بررسی از آن دسته موش‌های سفید بزرگ نر استفاده شد که در شرایط طبیعی، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از 200 میلی گرم بر دسی لیتر بود. در این خصوص از شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه برای خونگیری استفاده شد. حجم خون اخذ شده از هر حیوان نیز حدود 1 میلی لیتر بود. موشها به طور تصادفی به 4 گروه کنترل، دیابتی، کنترل تحت تیمار با آپیجنین (10 میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با آپیجنین (10 میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. دوز آپیجنین بر اساس آزمایشات پیلوت و رفرانس‌های موجود انتخاب شد. آپیجنین یک هفته پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت 3 هفته (داخل صفاقی) تجویز شد. برای دیابتی نمودن موشها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان 60 میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سالین فیزیولوژیک 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 و فقط حیوانات دیابتی با میزان قند ادرار بالاتر از 50 میلی گرم بر دسی‌لیتر که با میزان قند خون بالاتر از 250 میلی گرم بر دسی لیتر با در نظر گرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری می کند به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. ضمناً کاهش وزن در پایان کار در تمام موشهای دیابتی شده دیده شد. تعیین میزان وزن حیوانات قبل از انجام کار و در طی هفته‌های 2 و 4 پس از بررسی به

انجام رسید. همچنین، اندازه گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک 20، آمریکا) انجام شد.

سنجش مالون دی‌آلدئید (MDA)

پس از پایان کار، بافت کلیه جدا شده و پس از شستشو با محلول سالین سرد و خشک نمودن سریعاً توزین شده و سپس بافت به همراه بافر تریس به مدت 2 دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور 5000 دور در دقیقه هموژنیزه (10%) گردید و محلول هموژنیزه شده، سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تمام این مراحل در دمای 4 درجه سانتیگراد انجام شد. سپس، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، بخش زیرین رسوب کرده دور ریخته شد و از محلول شفاف رویی برای سنجش استفاده شد. اندازه گیری سطح مالون دی آلدئید MDA بر اساس روشی است که اساس آن واکنش تیوباربیتوریک اسید TBA است که در دمای جوش انجام می گیرد (14). در این آزمایش مالون دی آلدئید یا مواد شبه مالون دی آلدئید با تیوباربیتوریک اسید واکنش داده و رنگ صورتی ایجاد می‌کند که ماکزیمم جذب نوری آن در طول موج 532 نانومتر است. این واکنش در PH= 2-3 و در دمای 90 درجه سانتیگراد به مدت 80 دقیقه انجام شد. بعد از سرد کردن نمونه، جذب نوری در طول موج 532 nm در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. منحنی استاندارد نیز بر اساس رقت‌های تترااتوکسی پروپان تهیه شد.

سنجش میزان پروتئین

سنجش پروتئین به روش برادفورد انجام گرفت (15). در این روش ابتدا معرف مربوطه تهیه شد. برای تهیه این معرف، 25 میلی گرم کوماسی بلو در 12/5 میلی لیتر اتانول 95 درصد حل شد. سپس 25 میلی لیتر اسید فسفریک ٪85 اضافه شد. هنگامی که رنگ حل شد حجم آن به یک لیتر رسانده شد و از کاغذ صافی عبور داده شد. برای تهیه محلول استاندارد نیز از آلبومین سرم گاوی استفاده شد. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 595 nm خوانده شد.

سنجش میزان نیتریت

به علت اینکه سنجش مستقیم نیتریک اکساید در بافت‌های زنده مشکل است، میزان نیتریت و نیترات به عنوان شاخص نیتریک اکساید محسوب می‌شود (14). محلول کاری شامل سولفانیل آمید 1درصد، نفتیلن اتیلن دی آمید دی هیدروکلرید 0/1 ٪ و ارتوفسفریک اسید 2/5٪ بود. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج 540 نانو متر خوانده شد و برای منحنی استاندارد از رقت‌های مختلف نیتریت سدیم استفاده گردید.

سنجش میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

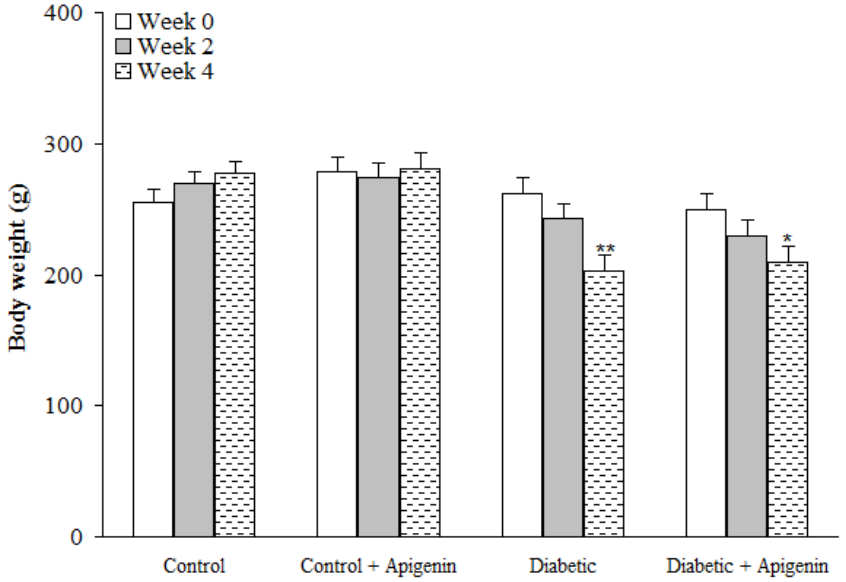
اساس این اندازه گیری بر مهار احیا نیتروبلوتترازولیوم توسط سیستم گزانتین–گزانتین اکسیداز به عنوان تولید کننده سوپراکسید می‌باشد (14). در این آزمایش از محلول کاری شامل گزانتین،گزانتین اکسیداز در بافر پتاسیم فسفات و نیتروبلوتترازولیوم استفاده شد. جذب نوری هر نمونه به مدت 5 دقیقه هر 30 ثانیه یکبار خوانده شد. برای بدست آوردن درصد مهار انجام شده توسط آنزیم SOD، داده‌های بدست آمده از فرمول مربوطه بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد. با انطباق درصد مهار بر روی منحنی استاندارد، فعالیت آنزیم بدست آمد و فعالیت آن بر حسب واحد بین الملل در میلی گرم پروتئین گزارش شد.

آنالیز آماری

از نظر آماری، تمامی نتایج بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید. پس از مشخص نمودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون آنووا با اندازه گیری مکرر و برای مقایسه گروهها با هم در هر یک از پریودهای زمانی از آزمون آنووا یکطرفه و پست تست توکی استفاده گردید. بعلاوه سطح معنی‌دار، $p<0.05$ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد.

نتایج

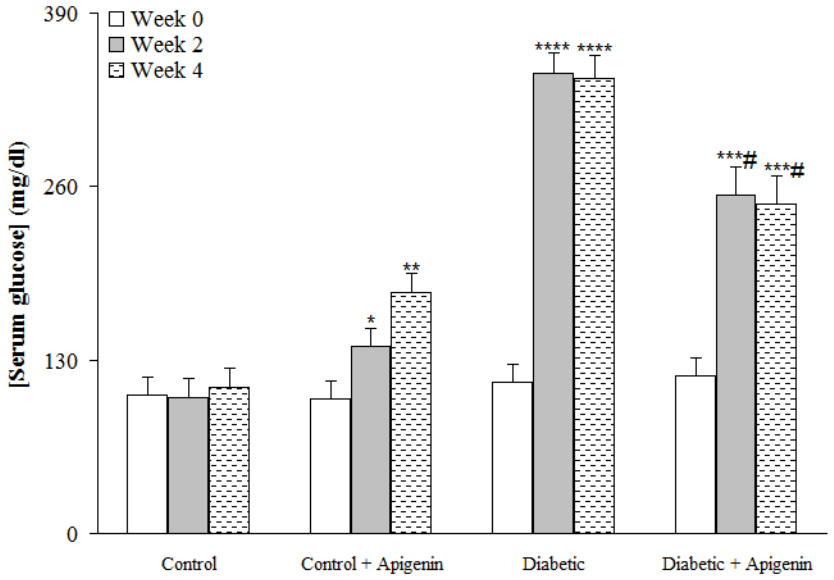
وزن حیوانات در هفته قبل بررسی و هفته‌های دوم و چهارم پس از بررسی در تمام گروهها اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که میزان وزن در هفته قبل بررسی تفاوت معنی دار بین گروهها نشان نمی‌دهد، در حالیکه در طی هفته‌های دوم و چهارم تفاوت معنی دار بین گروه‌ها مشاهده گردید. در این خصوص، در هفته چهارم، گروه دیابتی یک کاهش بارز و معنی دار ($p<0/01$) در حد متوسط در مقایسه با هفته قبل کار نشان داد. همچنین، هر چند در هفته دوم نیز این کاهش وجود داشت ولی تفاوت موجود به سطح معنی دار نرسید. همچنین، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با آپیجنین نیز در هفته‌های دوم و چهارم در حد معنی دار نبود. از سوی دیگر، تیمار گروه کنترل با آپیجنین در همین هفته‌ها تغییر معنی دار درمقایسه با گروه کنترل تیمار نشده ایجاد ننمود هر چند میزان وزن در حد مختصر از گروه کنترل کمتر بود؛ البته در گروه دیابتی در هفته چهارم اندازه گیری وزن حاکی از کاهش معنی دار به میزان متوسط ($p<0/01$) نسبت به اندازه گیری اولیه بود و در گروه دیابتی تیمار شده نیز این کاهش وزن به طور معنی دار و به میزان کم ($p<0/05$) نسبت به وضعیت پایه مشاهده شد (نمودار 1).



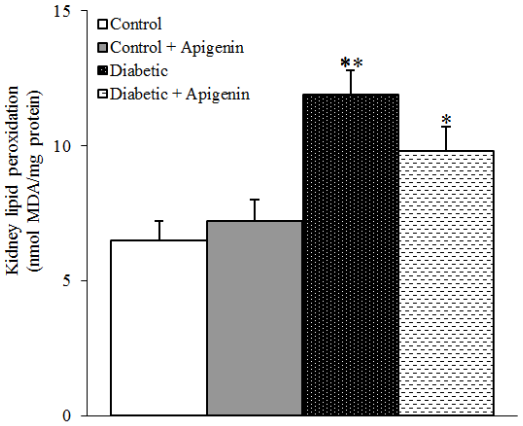
نمودار 1- تغییرات وزن در هفته‌های مختلف در موشهای سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمار شده با آپیجنین * $p<0/05$، ** $p<0/01$ (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)

با اندازه گیری میزان گلوکز سرم در هفته‌های قبل بررسی و دوم و چهارم پس از بررسی در تمام گروهها مشخص شد که در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی دار بین گروهها یافت نمی‌شود. بعلاوه، در گروه کنترل تیمار شده با آپیجنین افزایش معنی دار میزان گلوکز در هفته‌های دوم و چهارم ($p<0/05$ و $p<0/01$) دیده شد و در گروه دیابتیک نیز افزایش معنی دار به میزان بیشتر ($p<0/0005$) در هفته‌های دوم و چهارم مشاهده شد. همچنین در گروه دیابتیک تحت

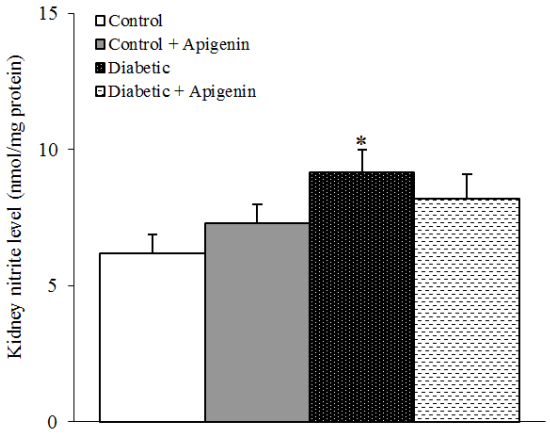
تیمار با آپیجنین نیز افزایش معنی دار (p<0/005)د در هفته‌های دوم و چهارم ثبت شد. از طرفی تیمار با آپیجنین سبب کاهش معنی دار گلوکز پلاسما در هفته‌های دوم و چهارم (p<0/01) در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده شد (نمودار2).



نمودار 2- تغییرات گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موشهای سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمار شده با آپیجنین

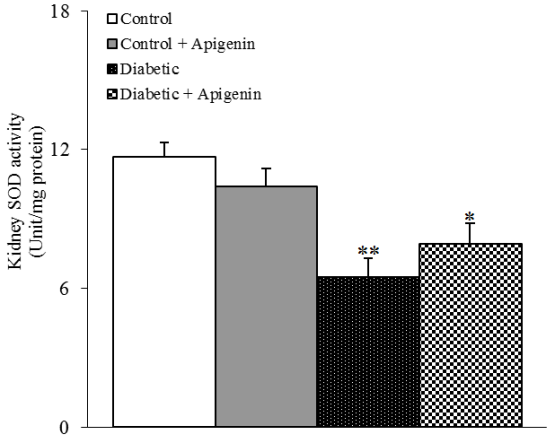


نمودار 3 میزان مالون دی آلدئید بافت کلیه در موشهای سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمار شده با آپیجنین
*p< 0/05، **p<0/01 (در مقایسه با گروه کنترل)



نمودار 4- میزان نیتریت بافت کلیه در موشهای سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمار شده با آپیجنین

***p<0/05 (در مقایسه با گروه کنترل)**



نمودار 5- میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در بافت کلیه در موشهای سفید بزرگ کنترل و دیابتی تیمار شده با آپیجنین

***p<0/05 ، **p<0/01 (در مقایسه با گروه کنترل)**

*** p<0/05، ** p<0/01، *** p<0/005 ، **** p<0/0005 (در مقایسه با سطح پایه در همان گروه)، # p<0/01 (در مقایسه با گروه دیابتی تیمار نشده در همان هفته)**

نمودار **3** نتایج مربوط به اندازه‌گیری سطح مالوندی-آلدئید به عنوان یک شاخص استرس اکسیداتیو را در هموژنه بافت کلیه حیوانات تحت بررسی نشان می‌دهد. تجویز آپیجنین در حیوانات گروه کنترل تغییر معنادار و قابل ملاحظه‌ای را در سطح مالوندی‌آلدئید ایجاد ننمود، و یک افزایش معنی دار سطح مالوندی‌آلدئید به میزان **83**٪ در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل (p<0.01)، و یک افزایش معنادار به میزان **50/8**٪ در گروه دیابتی تیمار شده با آپیجنین (P<0.05) در مقایسه با گروه کنترل وجود داشت. بعلاوه، سطح مالوندی‌آلدئید هموژنه کلیه گروه دیابتی تحت تیمار با آپیجنین نیز تفاوت معناداری نسبت به گروه دیابتی تیمار نشده نشان نداد هر چند تفاوت موجود حاکی از کاهش **17/6** درصدی میزان مالوندی‌آلدئید در گروه دیابتی تحت تیمار در مقایسه با گروه دیابتی بود.

نمودار**4** نتایج مربوط به اندازه‌گیری نیتریت را در هموژنه بافت کلیه حیوانات گروه‌های مختلف نشان می-دهد. همانطور که مشاهده می‌شود سطح نیتریت در

گروه کنترل تیمار شده با آپیجنین در پایان 4 هفته به صورت غیر معنی‌دار و به میزان 17/7٪ بیشتر از گروه کنترل تیمار نشده بود. بعلاوه، یک افزایش معنادار در سطح نیتریت در گروه دیابتی تیمار نشده به میزان 48/4٪ نسبت به گروه کنترل مشاهده شد (P<0.05). همچنین در گروه دیابتی تیمار شده با آپیجنین سطح نیتریت به صورت غیر معنی دار به میزان 10/8٪ نسبت به گروه دیابتی تیمار نشده کمتر بود.

نمودار شماره 5 نتایج مربوط به اندازه‌گیری سطح فعالیت سوپراکسیددیسموتاز به عنوان یک آنزیم حفاظتی در هموژنه بافت کلیه حیوانات گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود، سطح آنزیم به طور غیر معنادار و به میزان 11/1٪ در گروه کنترل تیمار شده با آپیجنین کمتر از گروه کنترل تیمار نشده بود. فعالیت این آنزیم در گروه دیابتی تیمار نشده یک کاهش بارز و معنی دار به میزان 44/4٪ نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<0.01) که این کاهش در گروه دیابتی تیمار شده با آپیجنین کمتر و در حد 32/5٪ در مقایسه با گروه کنترل بود (P<0.05). همچنین تفاوت سطح آنزیم در دو گروه دیابتی تیمار شده و دیابتی تیمار نشده غیر معنادار بوده هر چند فعالیت آنزیم در گروه دیابتی تیمار شده به میزان 21/5٪ بیشتر بود.

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که موشهای دیابتی یک افزایش معنادار در سطح بافتی مالون دی آلدئید (p<0/01) و نیتریت و نیترات (p<0/05) و کاهش معنی دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز (p<0/01) نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهند و درمان موش‌های دیابتی با آپیجنین سطح مالون دی آلدئید را بطور معنی دار کاهش نداد. از نظر نیتریت نیز آپیجنین موفق به کاهش معنی دار آن در موش‌های دیابتی نگردید. از طرف دیگر، تیمار موش‌های دیابتی با آپیجنین نیز موجب افزایش معنی دار فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در مقایسه با گروه دیابتی نگردید. از نظر وزن نیز این فلاونوئید قادر به جلوگیری از کاهش معنی دار وزن در موش‌های دیابتی نگردید هر چند که تجویز آن قادر به کاهش معنی دار قند خون گردید.

نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که بطور کلی در حالت دیابت قندی شامل نوع 1 و 2، استرس اکسیداتیو به علت تشدید ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن و به صورت افزایش سطح بافتی و سرمی‌مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد و سیستم‌های دفاعی آنتی اکسیدانتی از جمله آنزیم سوپر اکسید دیس موتاز کاهش فعالیت نشان می‌دهند که این تغییرات مسئول بخشی از آسیب‌های بافتی در حالت دیابت می‌باشند (2) که این تا حدودی در بررسی حاضر نیز بدست آمد. در این رابطه مشخص شده است که القاء آنزیم‌های آنتی اکسیدانت توسط ترکیبات طبیعی یک اقدام مهم برای حفاظت سلول‌ها در مقابل انواع مختلف ترکیبات سمی درونی و بیرونی از قبیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن محسوب می‌شود (4) و دیابت القاء شده با استرپتوزوتوسین با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت اندوژن می‌تواند موجب تشدید آسیب بافتی گردد (4). کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیس موتاز در موش‌های دیابتی در این بررسی مشاهده شد که ممکن است به علت افزایش پراکسیداسیون لیپید و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد که این با نتایج بررسی‌های قبلی مطابقت دارد (16). در این خصوص، بدنبال بروز دیابت با گذشت زمان میزان پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو افرایش می یابد که این خود را با بالا رفتن سطح برخی مارکرها نشان می دهد که از بهترین آنها، مالون دی آلدئید و نیتریت و نیترات می باشد (17).

با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو بعلت تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می باشد و این مواد بدنبال کامل نمودن مدار الکترونی خود می باشند، مواد تشکیل دهنده سلول از جمله ساختارهای پروتئینی و لیپیدی آسیب می‌بینند که این با تغییرات سطح آنزیم‌های بافتی نظیر کاهش سوپراکسید دیس موتاز خود را نشان

می دهد (18). در این بررسی، تجویز فلاونوئید آپیجنین موجب کاهش معنی دار سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو در بافت کلیه نگردید. هر چند اثرات سودمند این فلاونوئید به صورت اثرات کاهش دهندگی استرس اکسیداتیو بعلت دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانتی و تقویت کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نشان داده شده ولی تجویز آن در این بررسی موفق به کاهش معنی دار شاخص‌های استرس اکسیداتیو در موش‌های دیابتی نگردید که یک علت آن شاید تفاوت در میزان دوز و برنامه زمانی تجویز و نوع دیابت می تواند باشد که در یک مطالعه بعنوان مثال دیابت توسط آلوکسان ایجاد شده بود (8).

بعلاوه، تجویز فلاونوئید آپیجنین به موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین در این تحقیق دارای اثر کاهنده قند خون بود که نتایج تقریباً مشابهی نیز قبلاً در این رابطه گزارش شده است. در این رابطه، نتایج مطالعات قبلی نشان داده که چنین فلاونوئیدهائی قادر به افزایش حساسیت بافتی به هورمون انسولین در موش‌های سفید بزرگ می‌باشند و موجب بهبود عملکرد در تست تحمل داخل وریدی گلوکز می‌گردند که در اینجا تشدید مسیرهای سیگنالینگ پست رسپتوری انسولین در بافت عضلانی نقش مهمی‌ایفا می‌کند. حتی توسط برخی محققان ادعا شده است که آپیجنین در موش‌های دیابتی شده می‌تواند برداشت گلوکز توسط دو بافت عضلانی و کبدی را در موش سفید بزرگ دیابتی شده با استرپتوزوتوسین را افزایش دهد که این می‌تواند بطور موثر در جهت کاهش قند خون عمل نماید (19). بعلاوه مشخص شده که فلاونوئیدها نظیر آپیجنین در بافت کبد بطور مستقیم موجب بهبود متابولیسم گلیکوژن درموش‌های سفید بزرگ دیابتی می‌گردند و جذب سلولی گوکز را توسط بافت چربی تحریک می‌نمایند (20). همچنین، در خصوص اثر هیپوگلیسمیک آپیجنین نیز مشخص شده است که این فلاونوئید قادر به تحریک برداشت گلوکز در نواحی بافتی در موش‌های دیابتی شده می‌باشد و البته می‌تواند ترشح انسولین را پس از درمان خوراکی در موش‌های هیپرگلیسمیک تحریک نماید. بعلاوه احتمال داده شده که بخشی از اثرات سودمند آپیجنین بر قند خون بعلت اثرات شبه انسولینی آن در دو بافت کبد و چربی باشد (21) که این مکانیسم‌ها احتمالا تا حدودی در تحقیق حاضر رخ داده است. البته لازم به ذکر است که این فلاونوئید در دوزها و برنامه زمانی تجویز شده یک اثر هیپوگلیسمیک در حد کم در موش‌های دیابتی شده اعمال نموده و شاید به همین خاطر این فلاونوئید قادر به جلوگیری از کاهش وزن در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین در حد معنی دار نگردیده است. بر خلاف اثر آنتی هیپرگلیسمیک اعمال شده از طرف آپیجنین در موش‌های دیابتی، تجویز این فلاونوئید به موش‌های کنترل بر خلاف انتظار موجب افزایش قند خون و اعمال یک اثر هیپرگلیسمیک در حد متوسط گردید. 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 گردند (22) که این احتمالاً در بررسی حاضر رخ داده است هر چند خود به مطالعات بیشتر نیاز دارد.

از محدودیت‌های بررسی حاضر نیز می‌توان به نبود ارزیابی بافت شناسی کلیه موش‌های دیابتی بدنبال تجویز آپیجنین و بررسی شاخص‌های ادراری مرتبط با عملکرد کلیه اشاره کرد که انجام این موارد در مطالعات بعدی توصیه می‌گردد.

به طور خلاصه می‌توان نتیجه گیری نمود که تجویز تحت حاد آپیجنین هر چند دارای اثر پائین آورندگی قند خون می‌باشد ولی اثر مطلوب و معنی دار بر برخی شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت کلیه موش‌های سفید بزرگ دیابتی ندارد و احتمالاً در جلوگیری از بروز آسیب کلیوی در دیابت نمی‌تواند مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

پژوهش حاضر حاصل پایان نامه دانشجوئی مصوب معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال 1390 می باشد و با حمایت مالی این

دانشگاه به انجام رسیده است که بدینوسیله تشکر می گردد. 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.

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.