View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Simorgh Research Repository

● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ هجدهم، شمارهٔ ۲، ص ۱۵۳-۱۴۴، ۱۳۹۰

مقالهٔ پژوهشی

اثر فلاونوئید نارینجنین بر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای جداشده از موش صحرایی دیابتی

فرامرز فلاحی[۱]، مهرداد روغنی[۲*]، کمیل نصری[۳]

خلاصه

مقدمه: با توجه به افزایش بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماری دیابت قندی و وجود شواهدی مبنی بر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضددیابتی نارینجنین، اثر مصرف خوراکی این ماده به مدت ۶ هفته بر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای جداشده در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: موش‌های صحرایی نر به پنج گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجنین، دیابتی، دیابتی تحت درمان با نارینجنین و تحت تیمار با گلیبن‌کلامید تقسیم شدند. برای دیابتی کردن موش‌ها از استرپتوزوتوسین به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد. نارینجنین نیز ۱ هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت ۶ هفته تجویز گردید. میزان گلوکز سرم قبل از تجویز نارینجنین و پس از آن در هفته ۶ اندازه‌گیری شد و در پایان کار، پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین به صورت تجمعی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجنین در هفته ۶ به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود ($P<0/01$). به‌علاوه، حداکثر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین در گروه دیابتی تحت درمان با نارینجنین به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($P<0/05$). هم‌چنین، این کاهش معنی‌دار در مورد پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در گروه دیابتی تحت درمان با نارینجنین نیز مشاهده شد ($P<0/05$). از طرف دیگر، کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین در گروه شاهد تحت تیمار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید ($P<0/05$).

نتیجه‌گیری: تجویز تحت مزمن نارینجنین به مدت ۶ هفته دارای اثر پایین‌آورنده قندخون بوده و موجب کاهش پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: نارینجنین، دیابت قندی، آئورت، قابلیت انقباض

۱- استادیار، گروه داخلی و قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران ۲- استاد، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد
۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

* **نویسنده مسؤول، آدرس:** تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدا...زاده (دهکده)، دانشکده پزشکی شاهد، گروه فیزیولوژی ● **آدرس پست الکترونیک:** mehjour@yahoo.com

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۲۲ **دریافت مقاله اصلاح شده:** ۱۳۸۹/۴/۱۳ **پذیرش مقاله:** ۱۳۸۹/۵/۶

مقدمه

دیابت قندی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای بیماری‌های قلبی - عروقی محسوب می‌شود که شیوع آن در جامعه انسانی رو به افزایش است (۱). بر اساس مطالعات آینده‌نگر در ایران نیز شیوع بیماری صرف‌نظر از نوع آن در آینده در حدود ۷/۷٪ خواهد بود و پیش‌بینی می‌شود بر اساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت، در سال ۲۰۲۵ میلادی حدود ۵/۲ میلیون نفر در ایران دارای دیابت آشکار و مستعد ابتلا به آن باشند (۲). در بیماری دیابت قندی عوامل مختلف شامل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به‌علت افزایش سطح گلوکز خون و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی- عروقی می‌گردند (۱،۳). با توجه به این که امکان تغییر برخی عوامل خطر شامل جنسیت، سن، و سابقه فامیلی عملاً وجود ندارد لذا تغییر دادن سایر عوامل خطر از طریق مصرف غذاهای کم‌چرب، کم‌کالری، و گیاهان دارویی از اهمیت بالینی زیادی برخوردار است (۴،۵).

در طی سالیان اخیر توجه بسیاری از محققان به گیاهان دارویی و مواد مؤثره استخراج شده از آنها معطوف گردیده‌است. از جمله این مواد، پلی‌فنل‌ها هستند که در گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات، روغن زیتون، و برگ چای یافت می‌شوند. فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه از پلی‌فنل‌ها هستند و تاکنون بیشتر از ۲۰۰۰ نوع فلاونوئید خاص شناسایی شده‌است. فلاونوئیدها بر اساس ساختار مولکولی‌شان دستجات متنوعی از مواد از جمله فلاونوئید نارینجنین را در بر می‌گیرند (۶). مشخص شده‌است که مصرف غذاها یا ترکیباتی که غنی از پلی‌فنل‌ها هستند می‌تواند سطح سرمی آنتی‌اکسیدان‌ها را در خون افزایش دهد (۶). در همین راستا مصرف ترکیبات پلی‌فنلیک، اثرات مفید بارزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد. تحقیقات سال‌های اخیر، توجه خاصی به جنبه‌های بالقوه درمانی و پیشگیری کننده این ترکیبات در بیماری‌های مختلف از جمله انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی - عروقی، بیماری‌های التهابی و متابولیک شامل دیابت قندی و بیماری‌های تحلیل برنده عصبی داشته‌اند (۶). به‌علاوه، مطالعات اپیدمیولوژیک حاکی از آن است که تغییر عادات غذایی و مصرف آنتی‌اکسیدان‌های غذایی می‌تواند از شیوع بیماری‌های متابولیک کم کند (۷). یکی از فلاونوئیدهای مهم در گروه فلاوانون‌ها، نارینجنین می‌باشد که به‌علت دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن، ضدالتهابی، بهبوددهنده متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی بدن اثر مهمی بر سلامت انسان به‌جا می‌گذارد. این ماده به فراوانی در گریپ‌فروت، پرتقال و گوجه‌فرنگی یافت می‌شود (۸،۹). در یکی از بررسی‌ها در مورد نارینجنین نشان داده شده که تجویز نارینجنین از بروز دیس لیپیدمی، افزایش تولید آپو B و افزایش سطح انسولین در مدل تجربی مقاومت به انسولین جلوگیری می‌کند و در جهت افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در بافت کبد عمل می‌کند (۱۰). در مطالعه دیگری نشان داده شد که گنجاندن برخی فلاونوئیدها نظیر نارینجنین در لیپوپروتئین‌ها با دانسیته پایین موجب تعدیل اکسیداسیون LDL و کاهش گلیکولیزه شدن مواد هدف در محیط آزمایشگاه می‌گردد که این می‌تواند در درمان برخی عوارض بیماری‌های متابولیک نظیر دیابت قندی و هیپرلیپیدمی کاربرد داشته باشد (۱۱). هم‌چنین مشخص شده که نارینجنین در موش‌های طبیعی و موش‌های مبتلا به دیابت نوع II دارای اثرات ضددیابتی است (۱۲) و مصرف آب پرتقال سرشار از نارینجنین موجب کاهش تولید رادیکال‌های اکسیژن به نحو مؤثر می‌گردد که این در جهت کاهش آسیب بافتی عمل می‌کند (۱۳). در بررسی دیگری نیز نشان داده شده که عصاره برخی گیاهان سرشار از فلاونوئیدها نظیر نارینجنین می‌تواند دارای اثرات پایین‌آورندگی قندخون، گشادکنندگی عروقی و

محافظت‌کنندگی کبد باشد (۱۴). در یک مطالعه در حالت برون‌تن (*in vitro*) مشخص شده که اضافه نمودن نارینجنین در سلول‌های عضلانی صاف موجب بازشدن کانال‌های پتاسیمی فعال‌شده بر اثر کلسیم می‌شود. این بررسی بر روی بافت حلقه‌های آئورتی به انجام رسیده و مشخص شده که نارینجنین به فرم وابسته به غلظت و غیروابسته به اندوتلیوم موجب شل‌شدگی عضله صاف می‌گردد (۱۵). اثرات گشادکنندگی عروقی نارینجنین به صورت وابسته به غلظت در حلقه‌های آئورتی موش صحرایی توسط Orallo و همکاران (۲۰۰۵) در حالت برون‌تن نیز مجدداً مورد تأیید قرار گرفته‌است (۱۶). لذا با توجه به اثبات اثربخشی شل‌کنندگی نارینجنین در حالت برون‌تن بر پاسخ شل‌کنندگی بافت عضله صاف آئورت، هدف این بررسی، ارزیابی اثر تجویز تحت مزمن نارینجنین (در حالت درون‌تن) در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین به مدت ۶ هفته بر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای موش‌های صحرایی نر می‌باشد تا بدین‌وسیله اثرات این ماده ارزشمند بر عوارض عملکردی عروق در مبتلایان به دیابت در مراحل اولیه مشخص شود.

روش بررسی

در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۳۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۴- ۲۲ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند و آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند. در ضمن، این بررسی بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و راهکارهای عملی موجود در داخل کشور به انجام رسید.

در این بررسی از موش‌های صحرایی استفاده شد که در شرایط طبیعی، بدون حالت ناشتا، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود. خون‌گیری از طریق شبکه رتروارویتال و لوله موئینه تحت بی‌هوشی ملایم با اتر انجام شد. حجم خون اخذ شده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی‌لیتر بود. موش‌ها به‌طور تصادفی (الگوی تصادفی ساده) به ۵ گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجنین (سیگما، آمریکا)، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گلیبن‌کلامید (سیگما، آمریکا) به‌عنوان شاهد مثبت و تحت تیمار با نارینجنین تقسیم شدند. با انجام بررسی آماری (آنووا یک‌طرفه)، در صورت تأییدشدن عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها از نظر وزن، کار ادامه می‌یافت و در غیر این صورت گروه‌بندی مجدداً انجام می‌شد. برای دیابتی نمودن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (فارماشیا-آپجون، آمریکا) به‌صورت تک‌دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سرم فیزیولوژی سرد استفاده شد (۱۷). داروی نارینجنین نیز ۱ هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت ۶ هفته تجویز شد (۱۲). داروی گلیبن‌کلامید نیز به میزان ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در روز تجویز شد (۱۸). یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکویاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. البته در روزهای بعد علایم بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز، و کاهش وزن نیز در برخی موش‌ها دیده شد. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست‌شیمی، تهران) قبل از تجویز نارینجنین و در هفته ۶ با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام شد.

اندازه‌گیری پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای (۱۹)

در پایان کار، موش‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش شده و با بازکردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای جداشده و در داخل محلول کربس (که به‌طور مداوم به‌داخل آن گاز کربوژن دمیده می‌شد) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به قرار زیر بود (بر حسب میلی‌مولار):

NaCl: ۱۱۸/۵; KCl: ۴/۷۴; $CaCl_2$: ۵/۲; $MgSO_4$: ۱/۱۸; $NaHCO_3$: ۲۴/۹; KH_2PO_4: ۱/۱۸; Glucose: ۱۰

در داخل محلول کربس سرد (به منظور کاهش دادن متابولیسم بافت و کاهش مرگ‌ومیر سلولی)، آئورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ میلی‌متر تقسیم می‌گردید. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت 10^{-6} مولار فنیل‌افرین، استیل‌کولین با غلظت 10^{-5} مولار به حمام بافت اضافه می‌شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیشتر از ۳۰٪ در حلقه‌های آئورت به‌عنوان ملاک سالم بودن اندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخگویی حلقه‌های آئورتی، آنها به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به‌موازات هم قرار می‌گرفتند، از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 (نارکو بیوسیستم، آمریکا) متصل می‌شدند. در این بررسی کشش استراحتی اعمال شده به حلقه های آئورتی ۱/۵ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده می‌شد تا وضعیت ثابت پیداکند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض می‌شد. پس از حصول حالت تعادل، سلامت بافت در ابتدا با استفاده از غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) جهت سلامت و تمامیت بافت بررسی شده و بافت‌های با پاسخ انقباضی ضعیف (کمتر از ۰/۲ گرم) در غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرور پتاسیم در ادامه بررسی نشدند. سپس، حلقه‌ها در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده فنیل‌افرین (10^{-9} تا 10^{-5} مولار) قرار می‌گرفتند. برای ثبت و تحلیل داده‌ها از نرم‌افزار فیزیوگراف نسخه ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده گردید. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به‌صورت گرم به ازای واحد سطح بافت بیان شد.

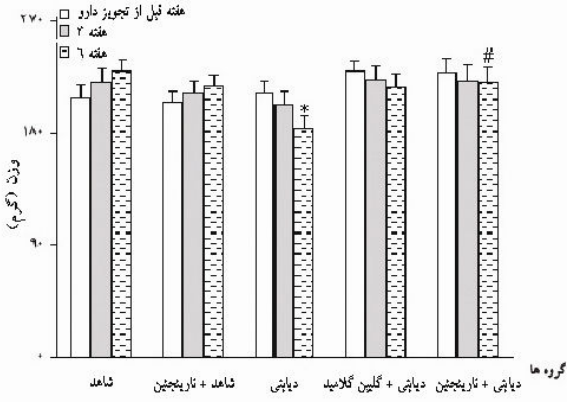
تحلیل آماری

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف‌معیار بیان گردید. پس از تأیید پارامتریک بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر (در مورد وزن حیوان) و t تست زوجی (در مورد میزان گلوکز سرم) و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی یا غلظت‌ها از آزمون آنووا یک‌طرفه و پست تست توکی استفاده گردید. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از برنامه آماری Sigma Stat نسخه ۳/۵ انجام شد و سطح معنی‌داری $P<0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

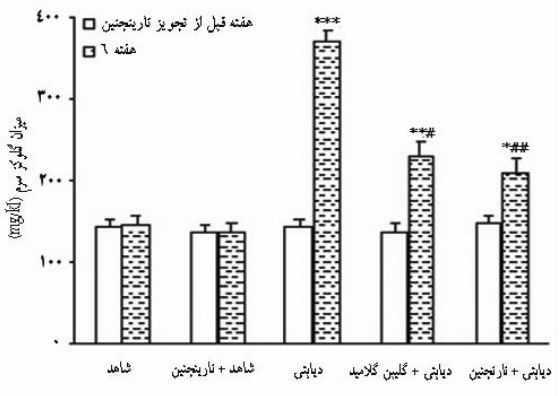
وزن حیوانات

هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در هفته قبل از تجویز نارینجنین مشاهده نگردید. در گروه دیابتی در هفته ششم یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی ($P<0/05$) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه در هفته ششم در حد معنی دار بود ($P<0/05$) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجنین در مقایسه با گروه دیابتی کاهش کمتری نشان داد. به‌علاوه، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت درمان با گلیبن‌کلامید نیز مشابه گروه دیابتی تیمار شده با نارینجنین از گروه دیابتی کمتر بود. از سوی دیگر، تیمار گروه شاهد با نارینجنین تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد از نظر وزن ایجاد ننمود و این گروه مشابه گروه شاهد یک افزایش وزن در حد منطقی و قابل انتظار را نشان داد (نمودار ۱).



نمودار ۱. *اثر تجویز دراز مدت نارینجنین به مدت ٦ هفته بر میزان وزن در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی*

* P<۰/۰۵ در مقابسه با هفته قبل از تجویز دارو و # P<۰/۰۵ گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجنین در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته (تعداد نمونه در هر گروه = ۸)



نمودار ۲. *اثر تجویز دراز مدت نارینجنین به مدت ٦ هفته بر میزان گلوکز سرم در موش‌های صحرایی شاهد و دیابتی*

*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱، ***P<۰/۰۰۰۱ در مقایسه با هفته قبل از بررسی، #P<۰/۰۱ و ## P<۰/۰۰۵ گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجنین در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته (تعداد نمونه در هر گروه = ۸)

میزان گلوکز سرم

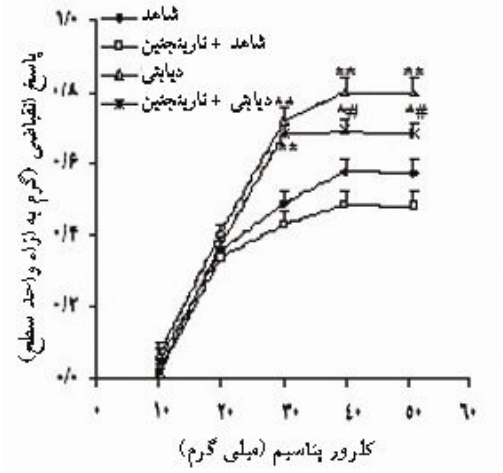
از نظر میزان گلوکز سرم در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها وجود نداشت و در گروه دیابتی در هفته‌های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم به‌صورت معنی‌داری (P<۰/۰۰۰۱) بیشتر از هفته پیش از بررسی بود. هم‌چنین در هفته‌های ۳ و ۶ سطح سرمی گلوکز هر چند در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه در حد معنی‌دار (P<۰/۰۱) بیشتر از هفته پیش از بررسی بود ولی سطح گلوکز در این گروه در همین هفته‌ها در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌دار کمتر بود (به‌ترتیب P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۵). در ضمن، هرچند میزان افزایش گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت درمان با نارینجنین در مقایسه با گروه دیابتی تحت درمان با گلیبن‌کلامید بیشتر بود ولی تفاوت موجود بین این گروه‌ها در همین هفته‌ها معنی‌دار نبود. به‌علاوه، گروه شاهد تحت تیمار با نارینجنین نیز کاهش محسوس و معنی‌دار گلوکز سرم را در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۲).

پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم

نمودار ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارای اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش یابنده کلرورپتاسیم در گروه‌های شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجنین، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با نارینجنین نشان می‌دهد. در این رابطه، پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در مورد این گروه‌ها از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است. به این صورت که دیابت درازمدت موجب افزایش پاسخگویی حلقه‌های آئورتی به کلرور پتاسیم از غلظت ۳۰ میلی‌مولار به بالا به‌طور معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد گردید (P<۰/۰۱). هم‌چنین درمان موش‌های دیابتی با نارینجنین موجب کاهش معنی‌دار این پاسخ انقباضی نسبت به گروه دیابتی درمان نشده از غلظت ۴۰ میلی‌مولار به بالا گردید (P<۰/۰۵). در ضمن، درمان موش‌های گروه شاهد با نارینجنین موجب کاهش محسوس و معنی‌دار این پاسخ انقباضی در مقایسه با گروه شاهد نگردید.

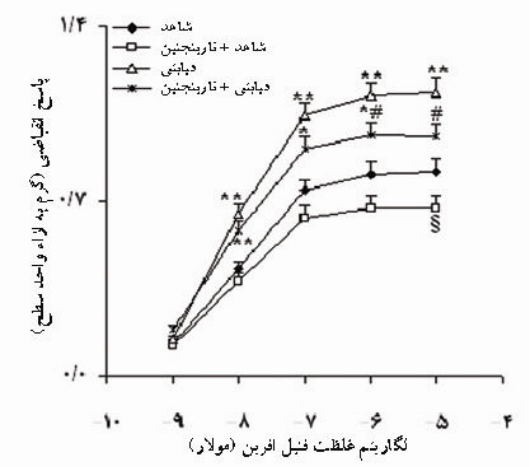
پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین

نمودار ۴، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارای اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش یابنده فنیل‌افرین در گروه‌های شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجنین، دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با نارینجنین نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین در مورد این گروه‌ها از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده‌است و دیابت موجب افزایش معنی‌دار پاسخگویی حلقه های آئورتی به فنیل‌افرین از غلظت 10^{-8} مولار به بالا گردیده است ($P<0/01$). هم‌چنین درمان موش های دیابتی با نارینجنین موجب کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی در مقایسه با گروه دیابتی از غلظت 10^{-6} مولار به بالا گردید ($P<0/05$). هم‌چنین، درمان موش‌های گروه شاهد با نارینجنین موجب کاهش معنی‌دار حداکثر پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین در مقایسه با گروه شاهد در غلظت 10^{-5} مولار گردید.



نمودار ۳. *پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم به غلظت‌های افزایش یابنده (تجمعی) کلرورپتاسیم در گروه‌های مختلف*

*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شاهد ##P<۰/۰۱ گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجین در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته (تعداد نمونه در هر یک از گروه‌های شاهد=۶، و در هر یک از گروه‌های دیابتی=۷)



نمودار ٤. *پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم به غلظت‌های افزایش یابنده (تجمعی) فنیل‌افرین در گروه‌های مختلف*

*P<۰/۰۵، **P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه شاهد و #P<۰/۰۵ گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجنین در مقایسه با گروه دیابتی، §P<۰/۰۵ گروه شاهد تحت تیمار با نارینجنین در مقایسه با گروه شاهد تیمار نشده (تعداد نمونه در هر یک از گروه‌های شاهد=۶ و در هر یک از گروه‌های دیابتی=۷)

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز تحت مزمن نارینجنین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به مدت ۶ هفته در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌تواند از کاهش وزن این حیوانات جلوگیری کند، دارای اثر پایین آورندگی قندخون بارز و معنی‌دار بوده، و درمان موش‌های دیابتی با این ماده موجب کاهش معنی دار در حداکثر پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و فنیل افرین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده می‌گردد. به‌علاوه، حداکثر پاسخ انقباضی نسبت به فنیل‌افرین در گروه شاهد تحت درمان با نارینجنین در مقایسه با گروه شاهد کاهش نشان داد.

در افزایش پاسخ انقباضی عروق در حالت دیابت قندی عوامل گوناگون 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 دی‌آسیل‌گلیسرول و افزایش متعاقب کلسیم داخل سلولی به‌عنوان عامل محرک انقباض در عضله صاف عروقی و کاهش توانایی تولید فاکتورهای گشادکننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک‌اکسید می‌تواند مطرح باشد (۱۹،۲۰). هم‌چنین، ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتز سایر گشادکننده‌های عروقی نظیر پروستاسایکلین نیز کاهش می‌یابد. به‌علاوه، برخی از تحقیقات نشان داده که بالابودن قندخون و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن نیز می‌تواند دلیل بروز این عوارض باشد (۲۰). از طرف دیگر، برخی مطالعات نشان می‌دهند که در دیابت قندی اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد برخی عوارض عروقی دیابت دارد. به‌علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز افزایش می‌یابد (۲۰،۲۱). نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی دارای آندوتلیوم به فنیل‌افرین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که این با نتایج مطالعه Abebe و همکاران مطابقت دارد (۱۹).

در مورد اثرات سودمند نارینجنین گفته شده که نارینجنین در موش‌های سالم و موش‌های مبتلا به نوع ۲ دارای اثرات ضددیابتی است (۱۲). هر چند در تحقیق حاضر مدل تجربی نوع ۱ با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین به‌صورت تک دوز ایجاد شد و در این مدل بخش اعظم سلول‌های بتای پانکراس عملاً توانایی ترشحی خود از نظر انسولین را بعد از چند روز به‌دنبال تزریق دارو از دست می‌دهند ولی بر اساس شواهد موجود نارینجنین قادر به اعمال اثرات خارج پانکراسی در جهت کاهش قندخون می‌باشد (۱۲). در این رابطه مشخص شده که تجویز دراز مدت نارینجنین قادر به کاهش دادن مقاومت بافتی به انسولین بوده و نیازمندی بافت به هورمون انسولین را از طریق تشدید فعالیت ناقلین گلوکز در دو بافت عضلانی و چربی کاهش می‌دهد. به‌علاوه، نارینجنین 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 قندخون عمل می‌نماید (۱۴،۱۲). ضمناً، تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که نارینجنین به‌صورت تک‌دوز و یا چنددوز قادر به اعمال اثرات کاهنده قندخون می‌باشد که این اثر نارینجنین از طریق راه‌های خارج پانکراسی از جمله مهار جذب روده‌ای کربوهیدرات‌ها به انجام می‌رسد (۱۲). بخش دیگری از اثرات سودمند نارینجنین در تحقیق حاضر را می‌توان به اثرات کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو این ماده نسبت داد (۱۳). در این خصوص فلاونوئیدها نظیر نارینجنین می‌توانند موجب افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردند که این موجب کاهش تولید رادیکال‌های اکسیژن و در جهت کاهش آسیب بافتی عمل می‌کند (۱۳). با توجه به اینکه خود هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن نیز می‌تواند دلیل عوارض عملکردی عروق در حالت دیابت از جمله تشدید پاسخ انقباضی به عوامل غیراختصاصی نظیر کلرور پتاسیم و آگونیست‌های اختصاصی آلفا آدرنرژیک نظیر فنیل‌افرین باشد (۲۰)، نارینجنین در این تحقیق با کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در جهت کاهش این عوارض عمل نموده است. هر چند اثربخشی نارینجنین در بررسی حاضر در حالت اندوتلیوم سالم تأیید شده است ولی نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که بخشی از اثرات سودمند نارینجنین به‌صورت وابسته به اندوتلیوم و بخش دیگر به‌صورت غیروابسته به اندوتلیوم به انجام می‌رسد (۲۲). در این مورد Ajay و همکاران (۲۰۰۳)

در بررسی خود اثربخشی فلاونوئیدهای مختلف از جمله نارینجنین و کوئرستین را در حالت برون‌تن بر روی عضله صاف عروقی آئورت سینه‌ای ایزوله موش صحرایی نرمال مورد بررسی قرار دادند. در بررسی مذکور، حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با کلرورپتاسیم یا فنیل‌افرین در معرض غلظت‌های افزایش یابنده از فلاونوئید نارینجنین (۰/۰۱ تا ۱۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند و یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت مشاهده شد. در این خصوص مشخص شد که پاسخ گشادکنندگی نارینجنین تا حدودی با وساطت دو سیستم نیتریک‌اکسید و پروستاگلاندین‌ها به انجام می‌رسد. هم‌چنین معلوم شد که بخشی از اثرات سودمند نارینجنین به‌طور مستقیم از راه اثر بر عضله صاف رگی به انجام می‌رسد که احتمالاً مهار کانال‌های کلسیم عضله صاف عروقی نقش مهمی در این رابطه می‌تواند داشته باشد (۲۲). در بررسی حاضر، بر خلاف مطالعه مذکور که به‌صورت کاملاً برون‌تن انجام شد، نارینجنین به‌صورت تحت مزمن به مدت ۶ هفته به موش‌ها تجویز شد و سپس پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای جدا شده به عوامل منقبض‌کننده کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین ثبت شد. احتمالاً مشابه بررسی Ajay و همکاران، در این بررسی نیز هر دو مسیر وابسته و غیروابسته به اندوتلیوم در اثرات سودمند عروقی نارینجنین می‌توانند نقش داشته باشند که این به مطالعات بیشتر نیاز دارد.

به‌طور خلاصه، تجویز تحت مزمن نارینجنین به مدت ۶ هفته دارای اثر پایین‌آورنده قندخون بوده و موجب کاهش پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین می‌گردد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل طرحنامه دانشجویی مصوب دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۷ می‌باشد. ضمناً نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات ابراز می‌دارند.

The Effect of Flavonoid Naringenin on Contractile Response of Thoracic Aorta Isolated from Diabetic Rats

Fallahi F. M.D.[1], Roghani M. Ph.D.[2*], Nasri K.[3]

1. Assistant Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Physiology, School of Medicine and Medicinal Plant Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
3. Student of Medicine, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

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

(Received: 11 Feb. 2010 Accepted: 28 July 2010)

Abstract

Background & Aims: Considering increasing incidence of cardiovascular disorders in diabetes mellitus and some evidence on antioxidant and antidiabetic potentials of naringenin, this study was conducted to evaluate the beneficial effects of 6-week administration of naringenin on contractile reactivity of isolated thoracic aorta in diabetic rats.

Methods: Male Wistar rats were divided into control, naringenin-treated control, diabetic and glibenclamide-treated, and naringenin-treated diabetic groups. For induction of diabetes, streptozotcin (STZ) was administered (60 mg/Kg). Naringenin (10 mg/kg) was administered i.p. one week after diabetes induction in every other day intervals for 6 weeks. Serum glucose level was measured before naringenin

administration and at 6th week. Finally, contractile reactivity of thoracic aortic rings to KCl and phenylephrine (PE) was cumulatively determined.

Results: Serum glucose level at week 6 showed a significant decrease in naringenin-treated diabetic group compared to diabetics (P<0.01). In addition, naringenin-treated diabetic group showed a significantly lower contraction to PE (P<0.05) as compared to diabetic group and such significant reduction was also observed for KCl (P<0.05). Meanwhile, there was also a significant difference between control and naringenin-treated control groups regarding their contractile reactivity to PE (P<0.05).

Conclusion: Subchronic administration of naringenin for 6 weeks could exert an anti-hyperglycemic effect and lowers contractile responsiveness of thoracic aorta rings to KCl and phenylephrine.

Keywords: Naringenin, Diabetes mellitus, Aorta, Contractility

Journal of Kerman University of Medical Sciences، 2011; 18(2): 144-153

References

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12(7): RA130-47.
2. Amini M, Parvaresh E. Prevalence of macro- and microvascular complications among patients with type 2 diabetes in Iran: a systematic review. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 83(1): 18-25.
3. 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.
4. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatement of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49(4): 635-9.
5. Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharm Assoc* 2002; 42(2): 217-26.
6. Buer CS, Imin N, Djordjevic MA. Flavonoids: new roles for old molecules. *J Integr Plant Biol* 2010; 52(1): 98-111.
7. Tang H, Dong X, Day RS, Hassan MM, and Li D. Antioxidant Genes, Diabetes and Dietary Antioxidants in Association with Risk of Pancreatic Cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31(4): 607-13.
8. Krogholm KS, Bredsdorff L, Knuthsen P, Haraldsdóttir J, Rasmussen SE. Relative bioavailability of the flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin given simultaneously through diet. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64(4): 432-5.
9. Jayaraman J, Veerappan M, Namasivayam N. Potential beneficial effect of naringenin on lipid peroxidation and antioxidant status in rats with ethanol-induced hepatotoxicity. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61(10): 1383-90.
10. Mulvihill EE, Allister EM, Sutherland BG, Telford DE, Sawyez CG, Edwards JY, et al. Naringenin prevents dyslipidemia, apoB overproduction and hyperinsulinemia in LDL-receptor null mice with diet-induced insulin resistance. *Diabetes* 2009; 58(10): 2198-210.
11. Wu CH, Lin JA, Hsieh WC, Yen GC. Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose *in vitro*. *J Agric Food Chem* 2009; 57(11): 5058-64.

12. Ortiz-Andrade RR, Sánchez-Salgado JC, Navarrete-Vázquez G, Webster SP, Binnie M, García-Jiménez S, et al. Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10(11): 1097-104.

13. Ghanim H, Mohanty P, Pathak R, Chaudhuri A, Sia CL, Dandona P. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response .*Diabetes Care* 2007; 30(6): 1406-11.

14. Sánchez-Salgado JC, Ortiz-Andrade RR, Aguirre-Crespo F, Vergara-Galicia J, León-Rivera I, Montes S, et al. Hypoglycemic, vasorelaxant and hepatoprotective effects of Cochlospermum vitifolium (Willd.) Sprengel: a potential agent for the treatment of metabolic syndrome. *J Ethnopharmacol* 2007; 109(3):400-5.

15. Saponara S, Testai L, Iozzi D, Martinotti E, Martelli A, Chericoni S, Sgaragli G, Fusi F, Calderone V. (-/+)- aringenin as large conductance Ca(2+)-activated K+ (BKCa) channel opener in vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2006; 149(8): 1013-21.

16. Orallo F, Camiña M, Alvarez E, Basaran H, Lugnier C. Implication of cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibition in the vasorelaxant activity of the citrus-fruits flavonoid (+/-)-naringenin. *Planta Med* 2005; 71(2): 99-107.

17. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci* 2003; 73(18): 2281-9.

18. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic *(Allium sativum L.)* in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13(9-10): 624–9.

19. Abebe W, Harris KH, MacLeod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to alpha1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J Cardiovas Pharmacol* 1990; 16(2): 239-48.

20. 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.

21. Yildirim O, Buyukbingol Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(1): 27-33.

22. Ajay M, Gilani AU, Mustafa MR. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sci* 2003; 74(5): 603-12.