ارزیابی وضعیت هموسیستئین پلاسما در بیماری دیابت ملیتوس القاء شده با استرپتوزوتوسین در خرگوش

کاوه عظیم زاده[1*]، سیامک عصري رضائي[2]، شهاب الدین صافي[1]، ایرج سهرابي حقدوست[1]، مجید ابراهیمي حامد[3]

۱. گروه پاتولوژي، دانشکده علوم تخصّصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران
۲. گروه پاتولوژي، دانشکده دامپزشکي، دانشگاه اورمیه، اورمیه، ایران
۳. گروه علوم درمانگاهي، دانشکده دامپزشکي، دانشگاه آزاد اسلامي واحد اورمیه، اورمیه، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: kn_az@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۸۷/۹/۵، پذیرش نهایي: ۸۸/۷/۶)

چکیده
در این تحقیق مقادیر هموسیستئین پلاسما، به‌عنوان یک ریسك فاکتور مستقل در بیماري‌هاي قلبي-عروقي، در دیابت القائي ناشي از استرپتوزوتوسین در خرگوش سفید نیوزیلندي مورد سنجش و ارزیابي قرار گرفت. در این تحقیق ۱۲ سر خرگوش نر سفید نیوزیلندي انتخاب و به ۲ گروه مجزا (تیمار و شاهد) تقسیم گردید. پس از اطمینان از سالم بودن خرگوشها (طبیعي بودن مقادیر گلوکز، اوره و کره‌آتینین پلاسما)، به گروه تیمار استرپتوزوتوسین با دوز ٦٥ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم به‌صورت تك دوز و از طریق ورید مارژینال تزریق گردید و به گروه تیمار نیز سالین نرمال با دوز مشخص تزریق شد. در ادامه ٢٤، ٤٨ و٧٢ ساعت و سپس هر هفته یکبار تا ۱۲ هفته از ورید مارژینال خرگوشها خونگیري به‌عمل آمد و مقادیر هموسیستئین، انسولین و گلوکز پلاسما مورد سنجش و ارزیابي آماري قرار گرفت. نتایج حاکي از افزایش معني‌دار ($p<۰/۰۱$) هموسیستئین و گلوکز و کاهش معني‌دار ($p<۰/۰۱$) انسولین پلاسماي گروه تیمار در مقایسه با گروه شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه بود. در این مطالعه علی‌رغم کاهش انسولین پلاسما، افزایش هموسیستئین پلاسما به‌عنوان ریسك فاکتور مستقل در بیماري‌هاي قلبي-عروقي در خرگوش سفید نیوزیلندي مشاهده شد.
مجله دامپزشکي دانشگاه آزاد اسلامي واحد تبریز، ۱۳۸۸، دوره ۳، شماره ۲، ٤٥٠-٤٤٥.
کلمات کلیدی: دیابت ملیتوس، استرپتوزوتوسین، هموسیستئین، خرگوش

مقدمه
دیابت ملیتوس (نوع I و II) یکي از مهم‌ترین بیماري‌هاي متابولیکي است که نقش بسیار مهمي در بروز عوارض مختلف دارد (۱۵). یکي از مهم‌ترین عوارض ناشي از دیابت ملیتوس نوع I، بیماري‌هاي قلبي-عروقي بوده که عامل اصلي آن نیز آترواسکلروزیس مي‌باشد که با اختلال در کارکرد سلول‌هاي آندوتلیال عروق همراه است (١٤). چندین فاکتور در بروز آترواسکلروزیس ناشي از دیابت مؤثر است که یکي از اساسي‌ترین و مهم‌ترین آنها ترکیبي بنام هموسیستئین مي‌باشد. هموسیستئین براي اولین بار توسط Butz و Du Vigneaud در سال ۱۹۳۲ کشف شد. هموسیستئین هومولوگ اسید آمینه سیستئین بوده که اختلاف آن در زنجیره جانبي، وجود یك گروه $-CH_2-$ اضافي قبل از گروه تیول (-SH) مي‌باشد. این ترکیب ضمناً مي‌تواند از

اسید آمینه ضروري متیونین نیز مشتق شود (۱، ۲، ٤، ۱۱ و ۱٦).

جهت بررسي وضعیت هموسیستئین پلاسما میتوان از حیوانات آزمایشگاهي اعم از موش سوري، موش صحرایی و خرگوش سفید نیوزیلندي براي القاء دیابت استفاده نمود که در موش صحرایی بهطور وسیع انجام گرفته ولي در خرگوش مقاله منتشر شدهاي در رابطه با تغییرات هموسیستئین در دیابت نوع I (ناشي از داروي استرپتوزوتوسین) مشاهده نگردید بدین جهت تصمیم گرفته شد مطالعهاي در خرگوش سفید نیوزیلندي انجام گیرد.

فرضیه ارتباط هموسیستئین پلاسما با بیماريهاي قلبي-عروقي توسط McCully و همکارانش در سال ۱۹٦۹ مطرح گردید و در مطالعات بعدي اپیدمیولژیك نیز فرضیه ایشان توسط Nehler و همکارانش در سال ۱۹۹۷ به اثبات رسید، بهطوريکه هموسیستئین بهعنوان ریسك فاکتور مستقل در بروز بیماريهاي قلبي-عروقي و آترواسکلروزیس ناشي از دیابت مورد تأیید قرار گرفت (۱۰ و ۱۲).

براي القاء دیابت نوع I اکثراً از ترکیباتي که در گروه داروهاي شیمي درماني هستند، استفاده ميشود که شامل آلوکسان و استرپتوزوتوسین ميباشد (۱۳). استرپتوزوتوسین یا همان استرپتوزوسین (streptozocin) (STZ) (zonosar) با فرمول شیمیایی از مشتقات آنتيبیوتیکهای صناعی بوده و توسط قارچی بهنام *استرپتومایسس آکروموژنز* (*Streptomycetes achromogenes*) سنتز میشود (٦، ۷ و ۹). از این ترکیب جهت درمان کارسینوماي جزایر لانگرهانس و تومورهای کارسینوئید و لنفوماها استفاده میشود. این ترکیب، پودری است به رنگ زرد لیمویی که به صورت لیوفیلیزه و در ویالهای مختلف (۱۰۰۰ mg تا ٥ mg) وجود دارد (۷).

مواد و روشکار

در این تحقیق، تعداد ۱۲ سر خرگوش نر آزمایشگاهی (نژاد سفید نیوزیلندی) با وزن تقریبي ۱۳۲±۱/٤٥۲ کیلوگرم از دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه خریداری شدند. سپس خرگوشهای مورد نظر، بهصورت تصادفی به دو گروه ٦ تایی تیمار و شاهد تقسیم شدند و در مکانی مناسب و آرام و در درجه حرارت ۲۰-۲٤ درجه سانتیگراد و ۱۲ ساعت روشنایي و ۱۲ ساعت تاریکي با هدف عادت کردن خرگوشها به محیط بهمدت ۲ هفته نگهداری گردیدند. جهت تغذیه خرگوشهای مذکور، از جیره استاندارد (پلیت، گندم و ذرت) به میزان ۱٥۰-۱۲۰ گرم در روز بهازای هر خرگوش استفاده میگردید. در این تحقیق از داروی استرپتوزوتوسین جهت القای دیابت استفاده شد که بهصورت ویال قهوهای رنگ یک گرمی ساخت شرکت آمریکائي Aldrich Sigma بود. به گروه تیمار داروی استرپتوزوتوسین با دوز ٦٥ میلي-گرم بازاي هر کیلوگرم وزن بدن (۳ و ٦) بهصورت داخل وریدی و از طریق ورید مارژینال تزریق شد. البته قبل از هر گونه تزریق، از کلیه خرگوشها خونگیري بهعمل آمد و آزمایش CBC صورت گرفت و با مقایسه نتایج آزمایشگاهی با مقادیر نرمال از سلامتي خرگوشها اطمینان حاصل شد. پس از تزریق دارو توسط سرنگهای انسولینی به گروه تیمار، به گروه شاهد بر اساس وزن خرگوش حجم مشخصي سالین نرمالِ استریلِ قابل تزریق، با همان روش تزریق شد. سپس در فواصل زمانی ۲٤، ٤۸ و ۷۲ ساعت پس از تزریق و بعد، هر هفته یک بار تا ۱۲ هفته (۳ ماه) از ورید مارژینال خونگیری انجام شد و بلافاصله بعد از خونگیري، خون به

لوله‌هاي حاوي EDTA منتقل و پلاسما توسط دستگاه سانتريفيوژ و با دور ۳۰۰۰ در مدت ۱۰ دقيقه جدا گرديد. هموسيستئين پلاسما توسط كيت انساني (Diazyme Laboratories USA,۱۲۸۸,Gregg Court Poway,CA,۹۲۰٦٤ ,www.diazyme.com) و با استفاده از دستگاهِ RA۱۰۰۰ به‌صورت اتوماتيك اندازه‌گيري گرديد. انسولين پلاسما به‌روش الكتروكِمی‌لومينسانس (ECL) توسط دستگاه Elecsys ۲۰۱۰، محصول كمپاني Roche (محصول مشترک آلمان و ژاپن) و كيتِ انساني ساخت همان شركت، اندازه‌گيری شد. گلوكز نيز توسط دستگاه اتوآنالايزر ساخت شركت Hitachi با استفاده از كيت Elitech فرانسه اندازه‌گيري شد. وزن تقريبيِ نهايي خرگوش‌هاي گروه شاهد در پايان دوره ۱۲ هفته ۹٤±۱/۷۲۹ كيلوگرم و وزن تقريبيِ نهايي گروه تيمار ٥٦±۱/۹۲٥ كيلوگرم شد. در اين تحقيق داده‌ها با استفاده از نرم افزار spss ويرايش ۱٥ تحت ويندوز مورد تجزيه و تحليل قرار گرفتند. آماره‌هاي مربوط به داده‌ها شامل ميانگين و انحراف معيار بودند. عمليات مقايسه ميانگين هر يک از پارامترها در گروه‌هاي بيمار و سالم توسط آزمون *t*-Test مستقل در سطح خطاي α=۰/۰۱ انجام گرفت. برای ارزيابی وجود همبستگی بين متغيرها انسولين و هموسيستئين از آزمون آماری پيرسون استفاده شد.

نتايج

در اين تحقيق افزايش معني داري ($p<۰/۰۱$) در هموسيستئين و گلوكز و كاهش معنی‌دار ($p<۰/۰۱$) در انسولين در گروه تيمار در مقايسه با گروه شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه و ارتباط معنی‌دار منفي بين انسولين و هموسيستئين مشاهده گرديد (نمودار ۱).

نتايج حاصل از اندازه‌گيري هموسيستئين پلاسما در گروه‌هاي تيمار و شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه در جدول ۱ درج شده است. همان‌گونه كه قابل مشاهده است، مقادير هموسيستئين پلاسما در گروه شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه، بين ۸-٥ واحد در ليتر پلاسما در نوسان بوده در حالي‌كه در گروه تيمار به‌طور معني‌داري افزايش يافته است.

جدول ۱- مقادير هموسيستئين پلاسما در گروه‌هاي تيمار و شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه

هموسيستئين	ساعت۲٤	ساعت ٤۸	ساعت۷۲	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	هفته نهم	هفته دهم	هفته يازدهم	هفته دوازدهم
تيمار		۸/۰۸±۱/۳۳	۸/۱٥±۱/٤۸	۹/۸٦±۱/۲۱	۱۰/۸۱±۱/٤٤	۱۲/۲٦±۱/۳٥	۱۲/۰٥±۱/۱۹	۱۲/٥٥±۱/۹۲	۱۲/۳٦±۱/٥٦	۱٤/٥٦±۱/۸۳	۱۸/٤۸±۱/۳۳	۲۱/۱۸±۱/٥۹	۲٤/٦٥±۲/٤۷	۳۲/۳۰±۳/۰۸	۳۷/۳٥±۳/٤۹
شاهد		٦/۷٥±۲/۱٥	٦/۷۱±۱/۸۹	٦/٥٥±۱/۷۳	٦/٤٥±۱/٤۹	٦/۳۸± ۱/٥٥	٦/۱۸±۱/٤۱	٥/٦۸±۱/٥۸	٥/۸٥±۱/٤۹	٥/۹٦±۰/۸٤	٦/٦٦±۱	۷/۰٦±۰/۹۳	٦/٤٦±۰/٤٤	٥/۸٥±۰/۲۸	٦/٥۰±۰/۷۰
P<۰/۰۱		۰/۲۳۱	۰/۱۷۷	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

نتايج حاصل از اندازه‌گيري مقادير گلوكز پلاسما در گروه‌هاي تيمار و شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه در جدول ۲ درج شده است. همانگونه كه قابل مشاهده است، مقادير گلوكز در گروه شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه، بين ۷٤-٥۹ ميلي‌گرم در صد ميلي‌ليتر پلاسما در نوسان بوده در حالي‌كه در گروه تيمار به‌طور معني‌داري افزايش يافته است.

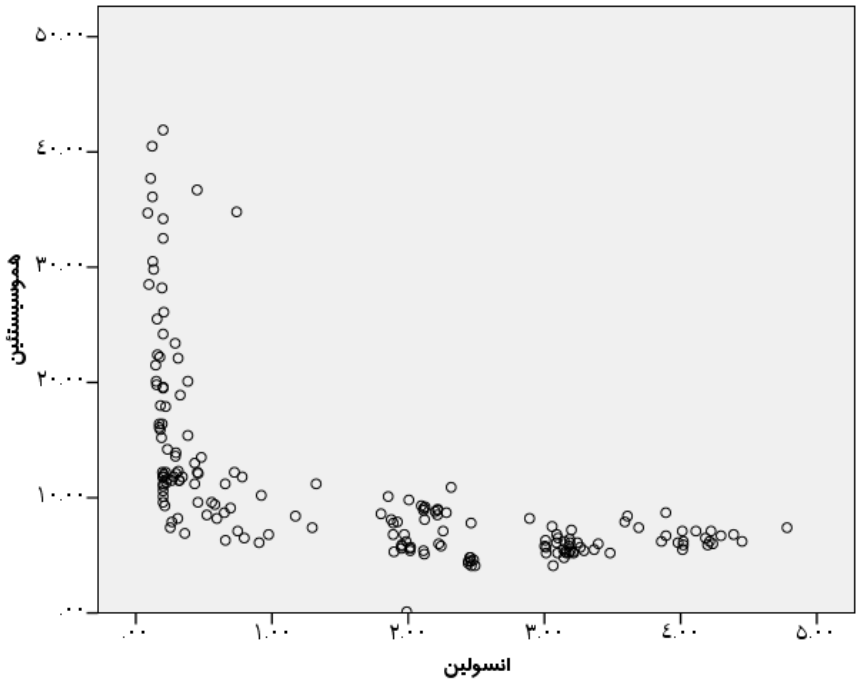
جدول ۲- مقادیر گلوکز پلاسما در گروه‌های تیمار و شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه

گلوکز	ساعت۲٤	ساعت٤٨	ساعت۷۲	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	هفته نهم	هفته دهم	هفته یازدهم	هفته دوازدهم
تیمار	۱۲۰/٦٦±۲٦/۸٤	۱۳۲±۲۱/۱٦	۱۳۷/۸۳±۱۹/۳۷	۱٤٦/٦۳±۲۰/٤۷	۱٥٥/۳۳±۲۱/۲۱	۱٦۱/۱٦±۱۹/٤٤	۱٦٥/۳۳±۱۹/۸۱	۱٦۰/٦٦±۲۲/۰٤	۱٦۰/۸۳±۱۷/۹۷	۱٦۲/۲٦±۱٦۲/٦٦	۱٦۲/۳۳±۱۳/۲۷	۱٦۷/۸۳±۱۲/۱۷	۱٦۲/۳۳±۱۳/۱۸	۱٦٤±۱۳/۱٦	۱۷۲/٦٦±۱۲/۸۷
شاهد	٦٦/۳۳±٦/۸٦	٦٥/۸۳±٥/۱۱	٦٦/٦٦±٥/۲٤	٦٦/۱٦±٥/۳٤	۷۰/٦٦±۹/۷۷	۷۳/٥۰±۱۱/٥۱	۷۱/٦٦±۱۰/۱۳	۷۲±۱۲/۰۹	٦٦/۱٦±٤/۰۷	٦٦/٥۰±٤/۷٦	٦۹/٦٦±۱۱/۷٤	٦۸/۸۳±۱۳/۳۱	٦٥/٥۰±٦/۸۳	٦۰/۳۳±۱۰/۷٤	٥۹/۳۳±۱۱/٥۳
P<۰/۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقادیر انسولین پلاسما در گروه‌های تیمار و شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه در جدول ۳ درج شده است. همانگونه که قابل مشاهده است، مقادیر انسولین پلاسما در گروه شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه، بین ٤-۲ میکرو واحد در میلی‌لیتر پلاسما در نوسان بوده در حالی‌که در گروه تیمار به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است.

جدول ۳- مقادیر انسولین پلاسما در گروههای تیمار و شاهد در طول ۱۲ هفته از مطالعه

انسولین	ساعت۲٤	ساعت ٤٨	ساعت۷۲	هفته اول	هفته دوم	هفته سوم	هفته چهارم	هفته پنجم	هفته ششم	هفته هفتم	هفته هشتم	هفته نهم	هفته دهم	هفته یازدهم	هفته دوازدهم
تیمار	۱/۲۹±۰/۹۲	۱/۱۲±۰/۷٦	۰/۸۷±۰/٥٦	۰/٦۹±۰/۳۸	۰/٥۰±۰/۲۷	۰/۲۸±۰/۱۲	۰/۲٦±۰/۱۱	۰/۲٥±۰/۱۲	۰/۲٤±۰/۱۱	۰/۲۲±۰/۱۰	۰/۲۳±۰/۱۰	۰/۱۹±۰/۰۸	۰/۱٥±۰/۰۳	۰/۱۱±۰/۰۱	۰/۲٦±۰/۲٦
شاهد	۲/۲٦±۰/٥٦	۲/۰۳±۰/۸۳	۲/٥۳±۰/۷۱	۲/٥۳±۰/٦۸	۲/۰۳±۰/۹۳	۲/٤۸±۰/٥۳	۲/٤۹±۰/٥۳	۲/٥٤±۰/٤٥	۲/۷۲±۰/٦۰	۳/۱۰±۰/۱٤	۳/۰۸±۰/۱٤	۳/۷۲±۰/٥۲	۳/۹۰±۰/٤۱	٤/۰۲±۰/٤۰	۳/۹٥±۰/٥۸
P<۰/۰۱	۰/۰٥۹	۰/۰۷٦	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۰/۰۰۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰۰۰/۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰



نمودار۱- همبستگي انسولين و هموسيستئين، كه نشان دهندة ارتباط معني‌دار منفي مي‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

Jacob و همکاران در سال ۱۹۹۸ با مطالعه‌ای که بر روی موش‌های مبتلا به دیابت نوع I ناشی از استرپتوزوتوسین داشتند به این نتیجه رسیدند که غلظت هموسیستئین پلاسما در موش‌های دیابتیک ارتباط مستقیم با غلظت انسولین پلاسما دارد به‌طوري‌که که در موش‌های مبتلا به دیابت نوع I که انسولین تزریق نشده بود مقدار هموسیستئین ۴۰ درصد کمتر از گروه شاهد بود و در گروهی که به آنها انسولین تزریق شد، افزایش غلظت هموسیستئین پلاسما را داشتند. Jacob علت کاهش هموسیستئین را (متعاقب کاهش انسولین) نقش مهم انسولین در متابولیسم هموسیستئین بیان کرد (۸). در این مطالعه با وجود کاهش معني‌دار انسولین در طول ۳ ماه از مطالعه، افزایش معني‌دار هموسیستئین پلاسما مشاهده گردید. بر اساس تحقیقاتی که Pavia در سال ۲۰۰۰ در دیابت نوع I انجام داد مشخص شد که با وجود کاهش انسولین و افزایش غلظت گلوکز، هیچ گونه تغییر معنی‌داری در غلظت هموسیستئین پلاسما در گروه دیابتی و مقادیر مرجع وجود ندارد (۱٤). در بررسي‌هاي انجام شده توسط Robillon در سال ۱۹۹٤ و Cotellessa در سال ۲۰۰۱، کاهش معنی‌دار مقادیر هموسیستئین پلاسما در مبتلایان به دیابت نوع I گزارش شد. Robillon علت کاهش هموسیستئین پلاسما را تأثیر مستقیم انسولین در چرخه متیونین در نظر گرفت به این معنی‌که انسولین می‌تواند باعث تغییر فعالیت مسیر ترانس-سولفوراسیون و دی متیلاسیون در چرخه متیونین شود. با کاهش انسولین پلاسما در دیابت نوع I، مسیر ترانس‌سولفوراسیون فعال شده و هموسیستئین به ترکیبات واسط غیر هموسیستئینی تبدیل گشته و بدین ترتیب از مقدار هموسیستئین خون کاسته می‌شود (۵ و ۱۵) که با نتایج حاصل از این تحقیق همخواني ندارد. با توجه به مطالب فوق، نتایج ضد و نقیضي در ارتباط با مقادیر هموسیستئین در دیابت نوع I در موش صحرایی استنباط می‌شود. این در حالي است که در رابطه با تغییرات هموسیستئین در خرگوش‌هاي دیابتی تجربی نوع I، تحقیقي صورت نگرفته و یا مقاله‌اي منتشر نشده است ولي آنچه که مسلم است، بر اساس نتایج به‌دست آمده در این تحقیق و مقایسه آن با نتایج به-دست آمده در موش‌هاي صحرایی دیابتي لازم به ذکر است که برخلاف موش صحرایی که متعاقب دیابت القائي نوع I (توسط استرپتوزوتوسین)، کاهش و یا عدم تغییرِ غلظتِ هموسیستئین وجود دارد، در این مطالعه، با وجود کاهش انسولین، افزایش معني‌دار هموسیستئین (به‌عنوانِ ریسك فاکتور مستقل در بیماري‌هاي قلبي-عروقي) مشاهده گردید. در رابطه با تغییرات گلوکز لازم به‌ذکر است که مقادیر گلوکز در گروه آزمایش از روز دوم سیر صعودي داشته و این افزایش تدریجي تا آخر ۱۲ هفته ادامه یافته است ولي در مطالعه Mir و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روي دیابت ملیتوس نوع I در خرگوش، ۱) پس از افزایش در روز دوم، از آن روز به بعد تا پایان روز ۱۵ با سیر کاهشي گلوکز در گروه آزمایش مواجه هستیم که این وضعیت با مطالعه حاضر همخواني ندارد (۲) افزایش گلوکز در روز دوم در مطالعه Mir و همکاران تقریباً ۲ برابر بیشتر از مقدار گلوکز در همان روز در مطالعه حاضر است که این حالت احتمالاً ناشي از تنوع در حساسیت به داروي استرپتوزوتوسین بر اساس گونه، سویه، وزن حیوان، شرایط تغذیه‌اي، شرایط محیطي و جنس می‌باشد. تغییرات انسولین از روز دوم تا پایان هفته ۱۱ با سیر

کاهشی مواجه بوده ولی در پایان هفته ۱۲ با افزایش مواجه شده است که علت این امر احتمالاً ناشی از تجدید سلول‌های بتا باشد. در رابطه با تغییرات وزن لازم به ذکر است که در مطالعه حاضر به طور میانگین با افزایش وزن خرگوش‌های گروه آزمایش در طول دوره مطالعه مواجه شدیم که این وضعیت با مطالعه Mir و همکاران همخوانی ندارد (۳).

فهرست منابع

۱. ملک نیا، ن. و شهبازی، پ. (۱۳۷۵): بیوشیمی عمومی، چاپ دوازدهم، انتشارات دانشگاه تهران، صفحه: ۱۷۱.

۲. محمد نژاد، ا. و پاسالار، پ. (۱۳۸٦): بیوشیمی مصور هارپر، (ترجمه)، تألیف: موری، آر. ویرایش بیست و هفتم، تهران، انتشارات اندیشه رفیع، صفحه: ۲۵٦.

۳. Abdul Baqui, R.C. and Bhagat, M.M. (۲۰۰۸): Biochemical and Histomorphological Study of Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus in Rabbits. Pakistan Journal of Nutrition, ۷: ۳۵۹-۳٦٤.

٤. Bolander, C. (۲۰۰۳): Homocysteine Review. Journal of European Pharmacology, pp:۱-٤.

٥. Cotellessa, M., Minniti, M.S., Cerone, R., Prigione, F., Calevo, M.S. and Lorini, R. (۲۰۰۱): Low total plasma homocysteine concentration in patients with type ۱ diabetes mellitus. Journal of Diabetes Care, ۹:٤٥۹.

٦. Ganda, O.P., Rossi, A.A. and Like, A.A. (۱۹۷٦): Studies of streptozotocin diabetes. Journal of diabetes, ۲٥:٥۹٥-٦۰۳.

۷. Haskell, C.M. (۲۰۰۱): Cancer Treatment. ۷th ed., Saunders, London, pp: ۹۹-۱۹۸.

۸. Jacobs, R.L., House, J.D., Brosnan, M.E. and Brosnan, J.T. (۱۹۹۸): Effects of streptozotocin-induced diabetes and insulin treatment on homocysteine metabolism in the rat diabetes. Journal of Diabetes, ٤۷: ۱۹٦۷-۱۹۷۰.

۹. Laviola, L., Belsanti, G., Davalli, A., Napoli, R., Perrini, S. and Weir, G.C., et al. (۲۰۰۱): Effects of streptozotocin diabetes and diabetes treatment by islets transplantation on *in- vivo* insulin signalling in rat heart. Journal of Diabetes, ٥۰: ۲۷۰۹-۲۷۲۰.

۱۰. Mc Cully, K.S. (۱۹٦۹): Vascular pathology of homocysteinemia: implication for the pathogenesis of arteriosclerosis. American Journal of Pathology, ٥٦: ۱۱۱-۲۸

۱۱. Miller, A.L., Gregory N.D. and Kelly, S. (۱۹۹۷): Homocysteine metabolism: Nutritional modulation and impact on health and disease. Alternative Medicine Review, ۲: ۲۳٤-۲٥٤.

۱۲. Nehler, M.R., Talor, L.M. and Porter, J.M. (۱۹۹۷): Homocysteine as a risk factor for atherosclerosis: a review. Journal of Cardiovascular Surgery, ٥: ٥٥۹-٥٦۷.

۱۳. Nukatsuka, M., Yoshimura, Y., Nishida, M. and Kawada, J. (۱۹۸۸): Enhancment by Streptozotocin of Anion superoxide radical generation by the xanthine oxidase system of pancreatic beta-cells. FEBS Lett., ۲۳۹: ۲۹٥-۲۹۸.

۱٤. Pavia, C., Ferrer, I., Valls, C., Artuch, R., Colome, C. and Vilaseca, M.A. (۲۰۰۰): Total homocysteine in patients with type ۱ Diabetes. Journal of Diabetes Care, ۲۳: ۸٤-۸۷.

۱٥. Robillon, J.F., Canivet, B. and Candito, M. (۱۹۹٤): Type ۱ diabetes mellitus and homocysteine. Diabetes Metabolism, ۲۰: ٤۹٤-٤۹٦.

۱٦. Wijekoon, E.P., Brosnan, M.E. and Brosnan, J.T. (۲۰۰۷): Homocysteine metabolism in diabetes. Journal of Metabolism, ۱۱۷٥-۱۱۷۹.

Vet. J. of Islamic Azad Uni. Tabriz Branch. ۳, ۲: ٤٤٥-٤٥٠, ۲۰۰۹

Evaluation of plasma homocysteine status in streptozotocin induced-diabetes mellitus in rabbit

Azimzadeh, K.[۱*], Asri rezae, S.[۲], Safi, SH.[۱], Sohrabi haghdoust, I.[۱], Ebrahimi hamed, M.[۳]

۱-Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran
۲-Department of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
۳- Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia Branch, Urmia, Iran
* ***Corresponding author's email****: kn_az@yahoo.com*
(Received: ۲۰۰۸/۱۱/۲۵**, Accepted:** ۲۰۰۹/۱۰/۲۸**)**

Abstract

In this research, plasma homocysteine levels as an independent risk factor of cardiovascular disease was evaluated in streptozotocin induced diabetic New Zealand white rabbits. Twelve male New Zealand white rabbits were selected and allocated into two separate groups of test and control. Following confirmation of the rabbit's health status (normal plasma glucose, urea and creatinine values), those in the test group received a single dose of streptozotocin at ٦٥ mg/kg through the marginal ear vein while the control group were given normal saline solution. Blood samples were collected from the marginal ear vein after ٢٤, ٤٨ and ٧٢ hours and then once every week for ١٢ weeks and plasma homocysteine, insulin and glucose levels were measured and statistically evaluated. The results indicated significant increase (p<۰,۰۱) of plasma homocysteine and glucose levels and significant decrease (p<۰,۰۱) of plasma insulin levels of the treatment group in comparison with the control group throughout the ١٢ week study period. In the present study, despite the decrease in plasma insulin level, increase of plasma homocysteine was observed as an independent risk factor of cardiovascular disease in New Zealand white rabbits.

Keywords: Diabetes mellitus, Streptozotocin, Homocysteine, Rabbit