اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی آپوپتوتیکی رسوراترول درگلبول‌های قرمز خون و بیضه موش‌های صحرایی دیابتی

یوسف دوستار[1*]

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۸/۱

چکیده

استرس اکسیداتیو به‌شدت با ایجاد دیابت و عوارض ناشی از آن در ارتباط می‌باشد. در بررسی حاضر، تاثیر رسوراترول بر وضعیت آنتی‌اکسیدان‌ها در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین مورد مطالعه قرار گرفته است. تعداد ۴۸ رت نر دو ماهه از نژاد ویستار و با وزن تقریباً مساوی بصورت تصادفی انتخاب و در چهار گروه ۱۲ تایی گروه کنترل سالم، گروه کنترل دیابتی،گروه دیابتی دریافت کننده رسوراترول ۵ (میلی‌گرم/ کیلوگرم)، گروه دریافت کننده مطلق رسوراترول قرار گرفتند. موش‌های مورد آزمایش بمدت ۴ ماه در گروه‌های مربوطه تیمار گردیدند و در پایان، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و فعالت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) گلبول‌های قرمز خون آن‌ها مورد سنجش و مقایسه گروه‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام گردید. سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.جهت تشخیص آپوپتوزیس از روش رنگ آمیزی تانل استفاده گردید که در این روش سلول‌های تانل مثبت به رنگ قهوه‌ای قابل رویت بودند.موش‌های دیابتی افزایش معنی‌داری را در میزان مالون‌دی‌آلدئید و کاهش معنی‌داری را در میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز گلبول‌های قرمز خون نشان دادند ($p<۰/۰۰۱$). تجویز رسوراترول به موش‌های دیابتی منجر به کاهش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید و افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز گلبول‌های قرمز خون آن‌ها گردید ($p<۰/۰۰۱$).سلول‌های آپوتوتیک در بافت بیضه گروه دیابتی دریافت کننده رسوراترول در مقایسه با گروه دیابتی کاهش یافته بود. نتایج حاصل از این مطالعه، وقوع استرس اکسیداتیو را در دیابت مورد تائید قرار داده و اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی آپوتوتیک رسوراترول را تایید مینماید.

واژگان کلیدی: آنتی‌اکسیدان، رسوراترول، دیابت، موش‌صحرایی، آپوپتوزیس، بیضه

مقدمه

در مطالعات اخیر مشخص شده است رسوراترول (resveratrol)یا 3,4,5 -trihydroxy-trans-stibene که یک ترکیب طبیعی موجود در سبزیجات رنگی و میوه جات خصوصاً انگور است می‌تواند اثرات بیماری پارکینسون، سکته مغزی و بیماری آلزایمر را در کسانیکه رژیم غذایی سالمی دارند یا کسانیکه به طور منظم مکمل‌های رسوراترول را دریافت می‌کنند، کاهش دهد. ولی اخیراً با آزمایشاتی که بر روی موشها انجام

۱- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی،عضو انجمن علمی واحد تبریز، تبریز ، ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: vetdoustar@yahoo.com

شده دریافته اند که رسوراترول می تواند اثرات مت آمفتامین یا همان شیشه را بلوکه کند. رسوراترول با تنظیم نورونهای دوپامین از تخریب سلولی جلوگیری کرده و همچنین توانایی مت آمفتامین را در افزایش سطح دوپامین در مغز کاهش داده و از فعالیت بیش از حد یا به اصطلاح هایپر اکتیویتی (hyperactivity) معتادان به شیشه جلوگیری می کند . رسوراترول یک آنتی اکسیدان قوی است و علاوه بر مورد فوق ، فواید و خواص بسیار زیادی دارد که بطور اجمالی می توان به موارد زیر اشاره کرد . روند پیری را کند می کند و طول عمر انسان را افزایش می دهد . سطح انسولین را برای سلامتی نرمال کنترل می کند و موجب طول عمر سلول ها می شود . فشار خون را کنترل می کند و آنرا در حد نرمال نگه می دارد . (از افزایش فشار خون جلوگیری و خاصیت کشسانی (الاستیسیته) محفظه قلب را در حد مطلوب نگه می دارد . کیفیت گردش خون را ارتقاء بخشیده و از افزایش چربی خون جلوگیری می کند - . آهنگ متابولیسم بدن را بهبود بخشیده و با این عمل ، به کنترل وزن ایده ال شما کمک می رساند از گسترش فعالیت سلول های غیر عادی جلوگیری می کند (از رشد سرطان جلوگیری می کند (به سیستم دفاعی طبیعی بدن یاری می رساند . و در آخر همانطور که اشاره شد ، رسوراترول از تخریب سلول های دوپامین مغز جلوگیری نموده و ضمن جلوگیری از بروز و پیشرفت بیماری های آلزایمر و پارکینسون ، قدرت حافظه و تمرکز را ارتقاء می بخشد آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که با حضورشان در غذا یا بدن حتی در مقادیر بسیار کم، بدن را در برابر انواع مختلفی از آسیب‌های اکسیداتیو که ممکن است در اثر گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد گردد، محافظت می‌کنند (۱۹،۲۰،۲۱). مطالعات نشان می‌دهد که رسوراترول دارای پتانسیل بسیار بالایی در از بین بردن رادیکال‌های آزاد و مهار استرس اکسیداتیو بوده و در موارد آسیب سلولی حاصله از بیماری دیابت، نقش مهاری آن در برابر استرس اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۲،۳).

اهداف درمانی در دیابت به‌طور عمده شامل کاهش مقاومت به انسولین و تحریک ترشح انسولین ازطریق اصلاح تغذیه، ورزش و درمان دارویی می‌باشد.استرس اکسیداتیو که عبارت از عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد، به شدت با دیابت و عوارض آن در ارتباط است، به‌طوری‌که نشان داده شده است که طی هر دو نوع دیابت ۱و۲ و حتی در غیاب عوارض دیابتی، استرس اکسیداتیو در خون افزایش یافته و درمان با آنتی‌اکسیدان‌هایی نظیر ویتامینE و ملاتونین منجر به کاهش عوارض دیابت گردیده است (٦). دیابت می‌تواند باعث صدمه بافتی از طریق تشکیل گروه‌های بازی بین گروه‌های کربونیل قند و گروه‌های آمینی پروتئین‌ها گردد. در دیابتی‌های وابسته به انسولین، هیپرگلیسمی مزمن باعث صدمه به سلول‌ها با افزایش تولید پراکسید هیدروژن و کتوآلدئیدها از طریق اکسیداسیون خودبه‌خودی گلوکز می‌شود. این ترکیبات همراه با گسترش عوارض دیابت به‌علت تولید و تجمع فراورده‌های نهائی حاصله از واکنش گلیکوزیلاسیون پیشرفته AGEs (Advanced Glycation End-product) می‌باشد. رادیکال‌های آزاد به‌طور کنترل نشده‌ای در بیماران دیابتی بوسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیر آنزیماتیک پروتئین‌ها و بدنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکوله ایجاد می‌گردد. افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد و کاهش همزمان مکانیسم‌های دفاعی در برابر آن می‌تواند منجر به صدمه بافتها و آنزیم‌ها شده، پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش و مقاومت به انسولین را توسعه دهد .. با توجه به مجموعه فوق‌الذکر، استفاده از عوامل آنتی‌اکسیدان نقش به‌سزایی در کاهش عواقب ناشی از بیماری دیابت خواهد داشت و در این بین استفاده از ترکیبات با منشا گیاهی که معمولاً با عوارض جانبی کمتری همراه است، اهمیت خاص خود را دارد. به‌نظر می‌رسد که رسوراترول به

علت داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی در درمان بیماری دیابت حائز اهمیت باشد، چراکه نقش آن در کاهش قند خون و همچنین کاهش استرس اکسیداتیو حاصل از روند التهاب، به اثبات رسیده است (۵،۲۰). رسوراترول به عنوان یک ماده آنتی اکسیدانی قوی می‌تواند در کاهش واکنش‌های استرس اکسیداتیو حاصله از روند بیماری دیابت موثر باشد، لذا این تحقیق با هدف مطالعه اثر تجویز رسوراترول بر استرس اکسیداتیو بافت بیضه در رتهای دیابتی انجام گردید.

مواد و روش‌کار

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی بوده و در سال ۱۳۹۲ در مرکز تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام پذیرفت. در این مطالعه موارد اخلاقی مورد تائید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز قرار گرفت.موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (Wistar)، با محدوده وزنی ۲۰±۲۰۰ گرم و سن تقریبی ۸ هفته از محل پرورش و نگه‌داری حیوانات آزمایشگاهی انستیتو پاستور ایران خریداری و در محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگه‌داری گردیدند. شرایط تغذیه و نگه‌داری برای همه گروه‌ها یکسان و به‌صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲ ± ۲۱ درجه سانتی‌گراد در قفس‌های مخصوص و در بستری از پوشال، در نظر گرفته شد. آب و غذا به‌طور آزاد در دسترس قرار گرفت. پس از یک هفته عادت به وضعیت جدید، مطالعه روی موش‌ها انجام گردید. جهت ایجاد دیابت از تزریق داخل صفاتی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به‌میزان ۵۰ میل‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به همراه حامل سالین نرمال و به‌صورت تک دز استفاده شد. با این روش ۴۸ ساعت بعد از تزریق، دیابت در موش‌ها ایجاد گردید که جهت تایید آن، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست در دم حیوانات، یک قطره خون روی نوار گلوکومتر منتقل و نتیجه توسط دستگاه گلوکومتر (Boehringer Mannheim Indianapolis, IN) قرائت و قندخون بالای ۳۰۰ mg/dl ، بعنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد (۲۷).تعداد ۴۸ رت نر دو ماهه از نژاد ویستار و با وزن تقریباً مساوی بصورت تصادفی انتخاب و در چهار گروه ۱۲ تایی به شرح ذیل تقسیم گردیدند:

گروه ۱- گروه کنترل سالم.

گروه ۲- گروه کنترل دیابتی که بمدت ۴ ماه دیابتی باقی ماندند؛

گروه ۳- گروه تیمار؛ که یک هفته پس از القای دیابت، بمدت ۴ ماه و به میزان 5mg/kg، resveratrol دریافت نمودند.

گروه ۴- گروه کنترل که فقط دریافت کنندهresveratrol می‌باشد. که بمدت ۴ ماه و به میزان 5mg/kg، resveratrol دریافت می‌کنند.

موش‌های مورد آزمایش بمدت ۴ ماه در گروه‌های مربوطه تیمار گردیدند و در پایان، میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) و فعالت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX) و کاتالاز (CAT) گلبول‌های قرمز خون آن‌ها مورد سنجش و مقایسه گروه‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و آزمون تعقیبی توکی انجام گردید. سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. در پایان دوره آزمایش موش‌ها با تزریق داخل صفاقی پنتوباربیتال سدیم (۶/۵ میلی‌گرم به ازای هر ۱۰۰گرم وزن بدن) بیهوش گردیدند و نمونه خون از سینوس پشت کره چشم (Retro-orbital plexus) اخذ گردید. گلبول‌های قرمز جدا و سه با در ۱۰ حجم از نرمال سالین ۰/۹ درصد شستشو داده شدند (۴،۱۳). اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددسموتاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز در گلبول‌های قرمز توسط کیت‌های تهیه شده از شرکت راندکس (Randox) انجام و نتایج به‌صورت واحد در

گرم هموگلوبین بیان گردید. اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز طبق متد Abei و براساس میزان تجزیه پراکسید-هیدروژن در طول موج ٢٤٠nm و در دمای ٢٠ درجه سانتی‌گراد انجام گردید. فعالیت این آنزیم نیز به صورت واحد درگرم هموگلوبین بیان گردید (١،٧).میزان مالون‌دی‌آلدئید (malondialdehyde) موجود در گلبول‌های قرمز خون، به‌عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون چربی، در قالب TBARS (thiobarbituric acid reacting substances) و با استفاده از روش Esterbauer و Cheesman مورد سنجش قرار گرفت. به‌طور خلاصه، مخلوط واکنشگری متشکل از ٠/٢ میلی‌لیتر لوریل سولفات سدیم (sodium lauryl sulphate) ٨/١ درصد، ١/٥ میلی‌لیتر محلول اسید استیک ٢٠ درصد با pH=٣/٥ و ١/٥ میلی‌لیتر از محلول آبی ٠/٨ درصد تیوباربیتوریک اسید در ٠/٢ میلی‌لیتر PMS ١٠ درصد (w/v)، ایجاد گردید. حجم مخلوط به‌دست آمده، توسط آب مقطر به ٤ میلی‌لیتر افزایش یافت، سپس به مدت ٦٠ دقیقه در دمای ٩٥ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. پس از خنک شدن در آب جاری، ١ میلی‌لیتر آب مقطر و ٥ میلی‌لیتراز مخلوط n–بوتانول (n-butanol) و پیریدین (pyridine) (١٥:١، v/v) به آن افزوده سپس سانتریفیوژ گردید. لایه ارگانیک (organic layer) آن برداشته شد و شدت جذب (absorbance) در ٥٣٢ nm اندازه‌گیری گردید. میزان TBARS با استفاده از ضریب ١٠٥× ١/٥٦ اندازه‌گیری و به‌صورت نانومول TBARS در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید. پروتئین بافتی با استفاده از روش بیوره (Biuret's method) اندازه‌گیری و مقدار TBARS به‌صورت نانومول در میلی‌گرم پروتئین بیان گردید (١٧،١٨).نمونه بافتی بیضه هر گروه پس از عملیات کالبد گشائی خارج ودر مسیر تهیه مقاطع میکروسکوپی قرار گرفته و سپس برای رنگ آمیزی تانل به روش زیر عمل گردید.

تکنیک تشخیصی آپوپتوز بر اساس دستورالعمل کیت تانل (Insitu cell death detection kit, POD، کمپانی Roche، ساخت کشور آلمان) انجام پذیرفت. به‌طور خلاصه، برش‌ها پارافین‌زدایی و آبگیری شده سپس در آب مقطر شستشو داده شدند. بافت‌ها به‌مدت ١٥ دقیقه و در دمای اتاق با ٢٠ گرم/میلی‌لیتر پروتئین‌کیناز K (Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) مجاور گردیدند. فعالیت پراکسیداز آندوژن نیز با انکوباسیون آن در ٣ میلی‌لیتر/لیتر هیدروژن پروکسید/متانول، به‌مدت ٣٠ دقیقه و در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد بلوکه گردید. برش‌ها با دُاکسی نوکلئوتیدیل ترانسفراز انتهایی به مدت ٦٠ دقیقه در دمای ٣٧ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند سپس (triphosphate Deoxyuridine)کونژوگه شده با دی‌اکسیژنین، به انتهاهای 3-OH مولکول DNA فراگمانته افزوده شد. از آنتی‌بادی آنتی–دی‌اکسیژنین پراکسیداز برای تشخیص نوکلئوتیدهای نشاندار استفاده شد. برش‌ها توسط DAB (Diaminobenzidine) رنگ‌آمیزی شده و برای رنگ‌آمیزی زمینه نیز از هماتوکسیلین استفاده شد(٢٣).سلول‌های آپوپتوتیک در این روش به علت کونژکاسیون با DAB (Diaminobenzidine)به رنگ قهوه‌ای در رنگ‌آمیزی زمینه هماتوکسیلین مشخص می‌گردند.

نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف استاندارد (Mean±SEM.) ارائه گردید. تفاوت بین گروه‌های مختلف با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way analysis of variance) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برآورد گردید. مقدار p<٠/٠٥ به‌عنوان حداقل سطح معنی‌دار بودن تفاوت میانگین‌ها مورد استفاده قرار گرفت.

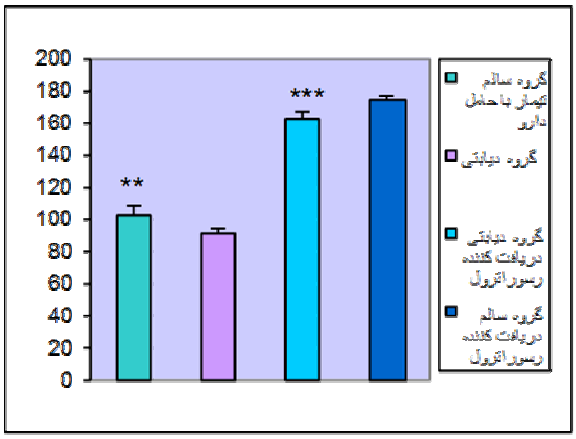
نتایج

میزان آنزیم‌های SOD =IU/gr٢٢٢٣ و IU/gr169=GPx گلبول‌های قرمز در موش‌های دیابتی دریافت‌کننده رسوراترول با گروه موش‌های دیابتی و

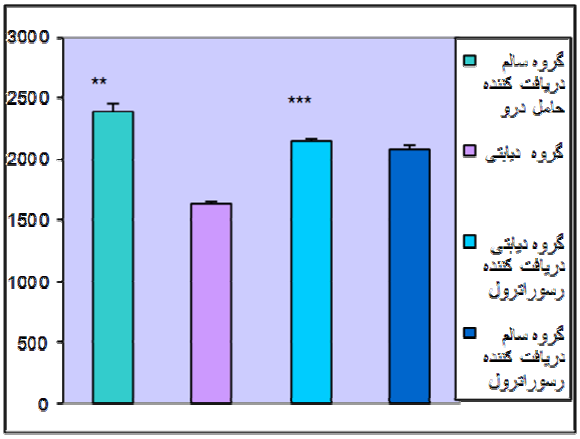
گروه موش‌های سالم دریافت کننده حامل دارو اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۰۱)، ولی اختلاف میزان این آنزیم‌ها بین موش‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده رسوراترول معنی‌دار نبود (نمودارهای ۱ و ۲).

میزان آنزیم کاتالاز گلبول‌های قرمز در گروه موش‌های دیابتی دریافت‌کننده رسوراترول با گروه موش‌های دیابتی اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۰۱)، ولی اختلاف میزان این آنزیم بین گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده رسوراترول معنی دار نبود (نمودار ۳).

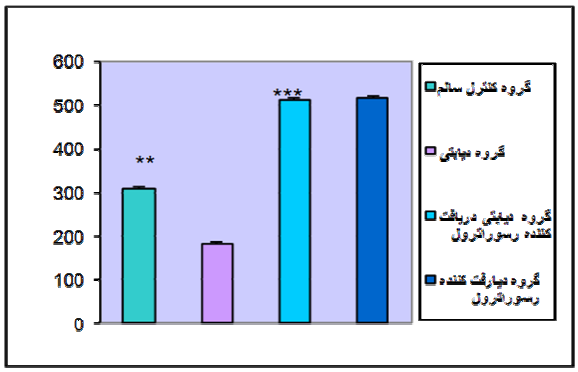
اختلاف میزان MDA بین گروه‌های دیابتی، دیابتی دریافت کننده رسوراترول و سالم دریافت کننده حامل دارو معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱)، لکن اختلاف بین گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده رسوراترول از این لحاظ معنی‌دار نبود (نمودار ٤).



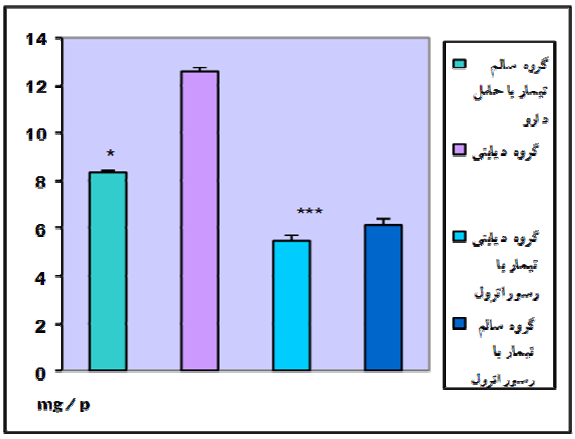
نمودار۱- مقایسه میزان آنزیم سوپر اکسید دسموتاز(SOD) گلبول‌های قرمز خون در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب گرم در هموگلوبین. هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین± انحراف استاندارد می‌باشد. (* * *: p<۰/۰۰۱ و : p>۰/۰۵)**



نمودار۲- مقایسه میزان آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز (GPx) گلبول‌های قرمز خون در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب گرم در هموگلوبین. هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین± انحراف استاندارد می‌باشد. (* * *:p<۰/۰۰۱ و : p>۰/۰۵)**

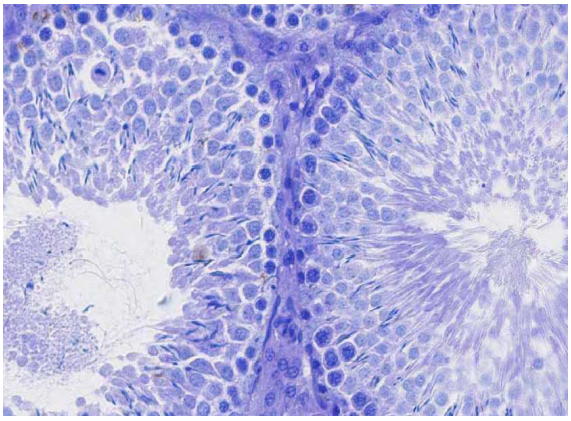


نمودار۳- مقایسه میزان آنزیم کاتالاز (CAT) گلبول‌های قرمز خون در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب گرم در هموگلوبین. هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین± انحراف استاندارد می‌باشد. (*: p<۰/۰۰۱ و**: p>۰/۰۵)**

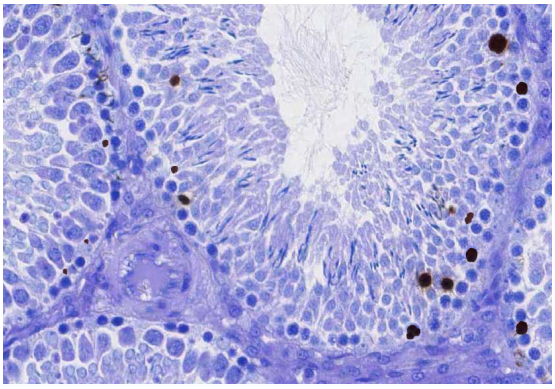


نمودار٤- مقایسه میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) گلبول‌های قرمز خون در گروه‌های مورد مطالعه بر حسب میلی گرم/ پروتئین. هر یک از ستون‌ها نمایانگر میانگین± انحراف استاندارد می‌باشد. (*: p<۰/۰۰۱ و**: p>۰/۰۵)**

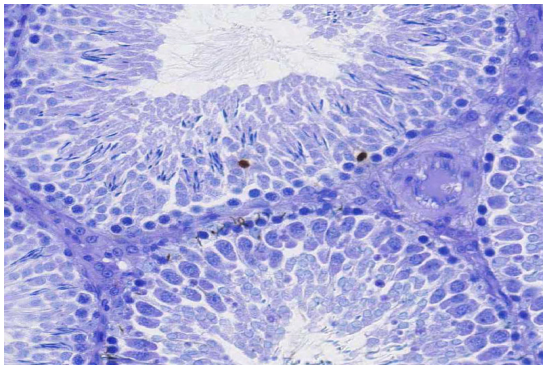
مطالعات آسیب شناسی گروهای آزمایش به روش تانل و کونزکه‌اسیون DAB در گروه دیابتی تعداد سلول‌های آپوپتوتیک در مقایسه با گروه کنترل سالم و گروه دیابتی دریافت کننده رسوراترول بیشتر بوده و با در نظر گرفتن مقایسه کیفی داده‌های بدست آمده، سلول‌های تانل مثبت در گروه رسوراترول بسیار اندک بوده و واکنش سلولی نسبت به کونژکه‌اسیون DAB در مقایسه با گروه دیابتی کمتر بود(شکل‌های ۱،۲،۳).



شکل۱- نمای ریزبینی از بافت بیضه موش صحرائی از گروه کنترل سالم با ساختار نرمال بافتی، رنگ آمیزی تانل و بزرگنمائی ×٤٠



شکل۲- نمای ریزبینی از بافت بیضه موش صحرائی از گروه دیابتی که در آن سلول‌های اسپرماتوسیت اولیه و ثانویه تانل مثبت(کونژکه شده با DAB) متعدد قابل رویت می‌باشد،رنگ آمیزی تانل و بزرگنمائی ×٤٠



شکل۳- نمای ریزبینی از بافت بیضه موش صحرائی از گروه دیابتی دریافت کننده رسوراترول که در آن تعداد معدودی سلول‌های تانل مثبت (کونژکه شده با DAB) قابل رویت می‌باشد، رنگ آمیزی تانل و بزرگنمائی ×٤٠

بحث

دیابت ملیتوس شایع‌ترین اختلال آندوکرینی است که منجر به اختلالات متابولیک دخیل در تنظیم و متابولیسم کربوهیدرات‌ها می‌گردد. این بیماری اختلالات زیادی شامل واسکولوپاتی، نوروپاتی، افتالموپاتی و نفروپاتی را ایجاد می کند (٤). استرس اکسیداتیو نقش مهمی در توسعه عوارض دیابتی دارد (۳۰). در بیماری دیابت، پراکسیداسیون لیپیدی می‌تواند بوسیله گلیکاسیون پروتئینی و اکسیداسیون خودبخودی گلوکز که خود می‌تواند به تشکیل رادیکال‌های آزاد منجر شود، القاء گردد (۲۸). رادیکال‌های آزاد اصلی که در این بیماری بوجود می‌آیند شامل یون‌های سوپراکساید (O^{-}_{2})، هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌باشند. رادیکال‌های آزاد فوق همگی توانایی صدمه به DNA، گلیکاسیون و واکنش‌های تعدیل پروتئینی و تعدیل اکسیداسیون لیپیدی در دیابتی‌ها را دارا می‌باشند. مکانیسم‌های دخیل در تولید رادیکال‌های آزاد و منابع استرس اکسیداتیو در پاتوژنز دیابت و عوارض ناشی از آن طی سال‌های اخیر بر اساس مدل‌های حیوانی و در بیماران به‌طور بالینی مورد مطالعه قرار گرفته است (۲۲).

در بیماران دیابتی دریافت اسیدهای چرب توسط سلول‌ها به سه برابر حالت طبیعی خود می‌رسد و آن در

حالی است که دریافت ملکول‌های گلوکز نیز دو برابر کمتر از حالت طبیعی است. افزایش دریافت اسیدهای چرب باعث گردش بیشتر اسیدهای چرب و تری‌گلیسیرید در خون گردیده و از این طریق میزان اکسیداسیون اسیدهای چرب و میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی یا مالون دی‌آلدئید (MDA) نیز افزایش می‌یابد. Irina و همکاران در سال ۲۰۰۹ و Atsushi و همکاران در سال ۲۰۰۷ به تاثیر رسوراترول در کاهش میزان MDA اشاره و بیان نمودند که مقادیر ۵۰ الی ۱۰۰ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن از رسوراترول خاصیت آنتی اکسیدانی داشته و در حفاظت سلولی و مهار مرگ آنها نیز نقش دارد (۲۴،۲۵)، در مطالعه حاضر نیز با تاثیر رسوراترول اختلاف میزان MDA بین گروه‌های دیابتی، دیابتی دریافت کننده رسوراترول و سالم دریافت کننده حامل دارو معنی‌دار بود (p<۰/۰۰۱)، لکن اختلاف بین گروه‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده رسوراترول از این لحاظ معنی‌دار نبود.

sharma و همکاران در سال ۲۰۱۰، Su و همکاران در سال۲۰۰۶، Yu و همکاران در سال ۱۹۹۴، palsamy و همکاران در سال ۲۰۰۵،palsamy همکاران در سال ۲۰۱۰ به تاثیر رسوراترول در افزایش دفاع آنتی اکسیدانی از طریق افزایش آنزیم‌های گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسیداز دسموتاز و کاتالاز اشاره نموده‌اند (۱۴،۱۵،۲۴،۲۵،۳۰). در مطالعه حاضر نیز در موش‌های دیابتی دریافت کننده رسوراترول نتایج معنی-دار مشابهی به‌دست آمده است ، بطوری میزان آنزیم-های SOD و GPx و کاتالاز گلبول‌های قرمز در موش‌های دیابتی دریافت‌کننده رسوراترول با گروه موش‌های دیابتی و گروه موش‌های سالم دریافت کننده حامل دارو اختلاف معنی‌دار داشت (p<۰/۰۰۱)، ولی اختلاف میزان این آنزیم‌ها بین موش‌های سالم دریافت کننده حامل دارو و سالم دریافت کننده رسوراترول معنی‌دار نبود.

به‌طور کلی افزایش میزان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در دیابت با افزایش حضور اسیدهای چرب در متابولیسم سلولی و مهار کونژوگاسیون اسیدهای چرب با کارنیتین گشته و بدین ترتیب با انتقال اسیدهای چرب به میتوکندری‌ها و اکسیداسیون آن‌ها، تولید رادیکال‌های آزاد افزایش می‌یابد که با آسیب سلول‌های عضلانی قلب همراه است، Shang و همکاران در سال ۲۰۰۸ به تاثیر رسوراترول درتغییرات کاتاراکت عدسی چشم اشاره نموده و نتایج آنها نشانگر تاثیر آنتی-اکسیدانی عصاره و کاهش آسیب سلول‌های اپی‌تلیالی عدسی چشم در محیط کشت سلولی بوده است (۲۶،۳۰). با افزایش متابولیسم اسیدهای چرب و تری‌گلیسیریدها در موش‌های دیابنی مجموعه عملکردهای دفاع آنتی اکسیدانی عوامل آنزیمی سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز کاهش یافته و با افزایش عوامل آزاد شده تحت اثر استرس‌های اکسیداتیو، آسیب سلولی در مرحله پیشرفته‌تری قرار می‌گیرد. بر اساس مطالعات Macarulla و همکاران در سال ۲۰۰۹ و Ricci و همکاران در سال ۲۰۰۹، از ۶۰۰۰ سال قبل، تاثیر رسوراترول حاصله ازانگور در بیماری‌های پوست، چشم، قلب، التهاب، ترمیم زخم و ... به اثبات رسیده است (۱۲،۱۷). مطالعات Szkudelski و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز نشان داده است که رسوراترول دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن را افزایش می‌دهد. ایشان به نقش سوپراکسید دسموتاز در دسموتاسیون اکسیژن رادیکال به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن اشاره و به تاثیر مفید رسوراترول در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن اشاره نموده‌اند (۲۷). Frojodo و همکاران در سال ۲۰۰۸ به نقش محافظتی رسوراترول اشاره نموده و دلیل آن را بیشتر به اثرات آنتی‌اکسیدانی ربط داده‌اند (۱۰). نتایج بررسی حاضر، با یافته‌های Baur و همکاران در سال ۲۰۰۶ وForgodo و همکاران در سال ۲۰۰۸ از لحاظ تاثیر رسوراترول ، در افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و میزان آنزیم‌های وابسته همخوانی

دارد (٤،١٠). Robertson و همکاران در سال ٢٠٠٦ به نقش و اهمیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز در بیماری دیابت اشاره نموده‌اند، به‌طوری‌که نتایج مطالعات ایشان با اهمیت حضور آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در بیماری دیابت، با نتایج مطالعه حاضر همخوانی دارد (۷).

مطالعات انجام پذیرفته در سال‌های اخیر توسط Nyassa و همکاران در سال ۲۰۰۸ نیز همگی به توان رسوراترول بر افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی و مهار آسیب‌های حاصله از استرس‌های اکسیداتیو اشاره دارد. ایشان به حضور فلاوینوئیدها به عنوان یک فاکتور بسیار مهم در ترکیب عصاره اشاره دارند و احتمال می-دهند که ترکیبات پروآنتوسیانیدین موجود در رسوراترول از عوامل موثر در بروز خواص آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (۱۳).

مطالعات دیگری نیز در زمینه تاثیر رسوراترول بر میزان تولید فرآورده‌های نهائی حاصله از گلیکوزیلاسیون پیشرفته AGEs و کاهش معنی‌دار میزان mRNA وابسته به عوامل RAGE، NF-KAPPAB وTGF-β توسط Szkudelski و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام پذیرفته است (۲۷).

Gulshah و همکاران در سال ۲۰۱۳ به این نتیجه رسیدند که رسوراترول مرگ سلولی بافت بیضه را در مقابل استرس‌های مزمن محافظت می‌نماید(۱۱) و Esin Ylga و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان نمودند که رسوراترول بافت بیضه را در مقابل اثرات آسیب رسان دیابت بدنبال تزریق استرپتوزوتوسین و داروی متوترکسات محافظت نموده و تغییرات مرگ سلولی از نوع آپوپتوزیس را کاهش می‌دهد(۸،۹).Uquralp و همکاران در سال ۲۰۰۵ به نتیجه رسیدند که رسوراترول باعث کاهش مرگ آپوپتوتیک سلول‌های بافت بیضه بدنبال تورشن بافتی می‌گردد(۲۹)، نتایج مطالعه حاضر با نتایج سایر دانشمندان همخوانی داشته و به اثرات محافظتی رسوراترول در آسیب سلولی اشاره می‌کند.با توجه به نتایج مطالعات یادشده و نتایج بررسی حاضر به‌جرأت می‌توان به پتانسیل رسوراترول در کاهش آسیب سلولی ناشی از استرس‌های اکسیداتیو به عنوان یک عامل آنتی اکسیدان ادعا نمود. لکن، مطالعات تکمیلی و گسترده‌تری پیرامون شناخت دقیق مکان و مکانیسم یا مکانیسم‌های مولکولی و سلولی مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی رسوراترول در درمان یا کنترل دیابت و سایر بیماری‌ها با اتیولوژی افزایش استرس اکسیداتیو نیاز است، تا اطلاعات در زمینه اثرات بالقوه آن کامل‌تر گردد. نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان می‌دهد که رسوراترول به علت خاصیت افزایش‌دهندگی دفاع آنتی اکسیدانی می‌تواند در بیماری دیابت که سلول‌ها دچار استرس اکسیداتیو هستند، بسیار مفید واقع گردد.

تشکر و قدردانی

ضمن تشکر از حوزه معاونت محترم پژوهش و فناوری، این طرح پژوهشی با حمایت مالی انجمن علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز انجام پذیرفته است.

منابع

1- Aebi, H.,(1984): Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105,121-126.

2- Bagchi, D., Sen, C.K., Ray, S.D.,(2003): Molecular mechanisms of cardioprotection by a novel resvratrol. Mutat Res;524:87-97.

3- Bagchi, D., Ray, S.D., Bagchi, M., (2002): Mechanistic pathways of antioxidant cytoprotection by a novel IH636 resvratrol. Indian J Exp Biol;40(6):717-26.

4- Baur, J.A., Pearson, K.J., Price, N.L., (2006): Resveratrol improves health and survival of mice on high-calorie diet. Nature 444: 337–342.

5- Corder, R., Warburton, R.C., Khan, N.Q.,(2004): The resvratrol-induced pseudo laminar shear stress response: a new concept for the reversal of endothelial dysfunction. Clin Sci (Lond);107(5):513-7.

6- Del Rio, L.A., Sandalio, L.M., Palma, J.M.,(1992): Metabolism of oxygen radicals in peroxisomes and cellular implications. Free Rad Biol Med; 13:557-580.

7- Esterbauer, H., Cheesman, K.H.,(1990): Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal, Methods in Enzymology; 186: 407–421.

8- Esin, Y. , Sibel, T. , Ahmet, A. , Omer K. , Ersagun, K., Cemil, K.,(2013): Effects of Resveratrol on Testis Damage in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. Journal of Animal and Veterinary Advances, Vol: 12 , Issue: 6 , Page: 747-753

9- Esin, Y., Sibel, T., Alver, A., Türed, S. Cemil, K.,(2013): Effects of Resveratrol on Methotrexate-Induced Testicular Damage in Rats. The Scientific World Journal, Article ID 489659, 6 pages

10- Frojdo, S., Durand C., Pirola, L., (2008) Metabolic effects of resveratrol in mammals – a link between improved insulin action and aging. Curr. Aging Sci. 1: 145–151.

11- Gulsah, B., Isil, T., Didem K., Gulgun, O.,(2013): Protective Effects of Resveratrol against Chronic Immobilization Stress on Testis. Hindawi Publishing Corporation ISRN Urology Volume, Article ID 278720, 1-10 pages

12- Macarulla, M.T., Alberdi, G. Omez, S. G., (2009): Effects of different doses of resveratrol on body fat and serum parameters in rats fed a hypercaloric diet. J. Physiol. Biochem. 65:369–376.

13- Nyassa, N., Razavi, H., Beni, Hadjiakhoondi, A.,(2008): Free Radical Scavenging and Lipid Peroxidation Activity of the Shahani Black Grape. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11:657-61.

14- Palsamy, P., Subramanian, S.,(2008): Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocinnicotinamide induced experimental diabetic rats. Biomed. Pharmacother. 62: 598–605.

15- Palsamy, P., Subramanian, S.,(2010): Ameliorative potential of resveratrol on proinflammatory cytokines, hyperglycemia mediated oxidative stress, and pancreatic beta-cell dysfunction in streptozotocin – nicotinamide - induced diabetic rats. J. Cell. Physiol. 224: 423–432.

16- Rivera, L., Morón, R., Zarzuelo A., Galisteo M., (2009): Long-term resveratrol administration reduces metabolic disturbances and lowers blood pressure in obese Zucker rats. Biochem. Pharmacol. 77: 1053–1063.

17- Ricci, G., Catizone, A., Esposito, R., Pisanti, F.A., Vietri, M.T., Galdieri, M.(2009): Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. Andrologia. Dec;41(6):361-8.

18- Robertson, R.P.,(2006): Oxidative stress and impaired insulin secretion in type 2 diabetes. Curr. Opin. Pharmacol. 6: 615–620

19- Szkudelska, K., Szkudelski, T.,(2010): Resveratrol, obesity and diabetes. Eur. J. Pharmacol. 635: 1–8.

20- Sanches-Moreno, C., Larrauri, J.A., Saura-calixto, F.,(1999): Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, grape juices and related resveratrol constituents, 32:407-412.

21- Smoliga, J.M., Baur, J.A., Hausenblas, H.A.,(2011): Resveratrol and health--a comprehensive review of human clinical trials. Mol Nutr Food Res. 55(8):1129-41. Epub 2011 Jun 20. Review.

22- Samuelsson, G.,(1999): Drugs of natural origin, AText book of pharmacognosy 4th ed.Sweedish

pharmaceutical press, Stockholm;48-49.

23- Sato, M., Maulik, G., Ray, P.S., (1999): Cardioprotective effects of resvratrol against ischemic reperfusion injury. J Mol Cell Cardiol; 31(6):1289-97.

24- Sharma, S., Misra, C.S., Arumugam, S., (2010): Antidiabetic activity of resveratrol, a known SIRT1 activator in a genetic model for type-2 diabetes. Phytother. Res. In press..

25- Su, H.C., Hung, L.M. Cheng, J.K., (2006): Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. 290: 1339–1346.

26- Shang, J., Chen, L.L., Xiao, F.X., (2008): Resveratrol improves high-fat induced nonalcoholic fatty liver in rats. Zhonghua Gan. Zang Bing Za. Zhi. 16: 616–619.

27- Szkudelski, T., Szkudelska, K.,(2011): Anti-diabetic effects of resveratrol.Ann N Y Acad Sci. Jan;1215:34-9.

28- Thirunavukkarasu, M., Penumathsa, S.V., Koneru, S., (2007): Resveratrol alleviates cardiac dysfunction in streptozotocin-induced diabetes: role of nitric oxide, thioredoxin, and heme oxygenase. Free Radic. Biol. Med. 43: 720–729.

29- Uguralp,S. , Usta, U. , Mizrak, B., (2005): Resveratrol May Reduce Apoptosis of Rat Testicular Germ Cells After Experimental Testicular Torsion. Eur J Pediatr Surg; 15(5): 333-336s

30- Yu, B.P., Cellular(1994): Defenses against damage from reactive oxygen species. Physiol Rev; 74:139-162.