

اثر یک ماه تیمار با سیستمین بر وضعیت قند و لیپید، همچنین گلیک و اکسید شدن LDL در رت مدل دیابتی - آتروسکلروزی

صفدر مهدوی فرد^۱، سیده زهرا بطحائی^{۱*}، منوچهر نخجوانی^۱، بتول اعتمادی کیا^۱

چکیده

مقدمه: دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیک و اختلالات عروقی آن عامل بیشترین میزان مرگ‌ومیر در افراد دیابتی است. افزایش قندخون، اختلالات لیپیدی و استرس اکسیداتیو زمینه ساز عوارض دیابت است. هدف از این مطالعه بررسی اثر اسید آمینه سیستمین بر وضعیت قندخون، پروفایل لیپیدی، شاخص آتروژنی، استرس اکسیداتیو، گلیک و اکسید شدن LDL در رت مدل دیابتی - آتروسکلروزی است.

روش‌ها: از رت دیابتی شده با استرپتوزوتوسین تحت رژیم غذایی آتروژنی به‌عنوان مدل دیابتی - آتروسکلروزی استفاده شد. گروه‌های تحت مطالعه عبارت بودند از: گروه‌های کنترل و دیابتی، و گروه‌های کنترل و دیابتی دریافت‌کننده سیستمین که به مدت یک ماه تحت تیمار با اسید آمینه سیستمین (۰/۰۵ درصد در آب خوری) قرار گرفتند. بعد از یک ماه قندخون ناشتا، پروفایل لیپیدی، LDL گلیک و اکسیده، محصولات پیشرفته اکسید شدن پروتئینی، گلی اوکسال، متیل‌گلی اوکسال و وزن رت‌ها اندازه‌گیری و بررسی شد.

یافته‌ها: رت‌های دیابتی - آتروسکلروزی نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی در میزان قندخون، تری‌گلسیرید، کلسترول، LDL، نسبت LDL/HDL به‌عنوان شاخص آتروژنی، LDL گلیک و اکسیده، گلی اوکسال و متیل‌گلی اوکسال، همچنین پروتئین اکسیده داشتند. پارامترهای ذکر شده در گروه دیابتی - آتروسکلروزی تحت تیمار با سیستمین نسبت به گروه بدون تیمار ($P < 0.001$) کاهش قابل توجهی نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری: سیستمین با توجه به بهبود وضعیت قند و لیپید، مهار روندهای گلیک و اکسید شدن LDL و کاهش استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی - آتروسکلروزی می‌تواند به‌عنوان یک دارو جهت پیشگیری از اختلالات دیابت پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: دیابت، آتروسکلروز، سیستمین، استرپتوزوتوسین، LDL گلیک، LDL اکسیده، استرس اکسیداتیو

۱- گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات بیماری‌های متابولیک و غدد درون‌ریز، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

* **نشانی:** تهران، جلال آل احمد، پل نصر گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پایه پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، صندوق پستی

۱۱۱-۱۴۱۱۵، تهران، ایران. پست الکترونیک: Bathai_z@modares.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۲۴

تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۰۳

مقدمه

دیابت ملیتوس با افزایش قندخون همراه با اختلالاتی در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین نمایان می‌شود. دیابت شایع‌ترین بیماری متابولیک است که در اثر اختلال در ترشح انسولین، عمل آن و یا هر دو ایجاد می‌شود [۱]. بیماری قلب و عروق مهم‌ترین عامل مرگ‌ومیر در بیماران دیابتی است. خطر ابتلا به بیماری‌های قلب و عروق در این افراد ۲ تا ۴ برابر افراد طبیعی است [۲]. وضعیت غیرطبیعی متابولیسم مانند افزایش قندخون، اختلالات لیپیدی و مقاومت به انسولین در دیابت منجر به مختل شدن عملکرد شریان‌ها و در نهایت منجر به آتروسکلروز می‌گردد [۳]. افزایش قندخون مانند پلی بین این بیماری و اختلالات آن است. در افراد دیابتی میزان گلیکیم و اکسید شدن LDL نسبت به افراد کنترل افزایش می‌یابد و این دو تغییر، ویژگی آتروژنی این لیپوپروتئین را می‌افزاید. تحقیقات قبلی نشان داده که LDL اکسیده مهم‌ترین نقش را در ایجاد آتروسکلروز دارد [۴]. شاخص اکسیدشدن این لیپوپروتئین، مقدار دی‌ان کونجوگه است [۵].

افزایش قندخون با تولید انبوه رادیکال‌های آزاد گونه اکسیژن^۱ (ROS) همراه می‌شود. افزایش تولید ROS همراه با اختلال در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت، نقش مهمی را در پیدایش اختلالات دیابت بازی می‌کند [۶]. گلوتاتیون (GSH) فراوان‌ترین تیول با وزن مولکولی کم است و در سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانت نقش دارد و کاهش آن به واسطه ایجاد استرس اکسیداتیو زمینه‌ساز بروز اختلالات دیابت است [۷]. موجودی اسید آمینه سیستمین مرحله محدود کننده اصلی در ساخت GSH در بدن است. در افراد دیابتی سطح GSH و Cys کاهش می‌یابد [۸].

یکی از علت‌های اصلی عوارض دیابت، واکنش غیرآنزیمی گلوکز با پروتئین‌ها یا روندگلیکیم شدن است. در این روند، میزان ترکیبات دی‌کربونیل مانند گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال افزایش یافته و منجر به استرس کربونیل می‌گردد. این دو ترکیب از محصولات میانی روند گلیکیم هستند و چندین برابر گلوکز قدرت گلیکیم کردن پروتئین‌ها را داشته و در ایجاد اختلالات دیابت نقش مهمی دارند

¹ Reactive Oxygen Species (ROS)

[۹]. این ترکیبات همچنین از طریق تولید محصولات نهایی گلیکیم پیشرفته (AGEs)، افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در گیرنده‌های فاکتور رشد مشتق از پلاکت در ایجاد پدیده آتروسکلروز نقش مهمی ایفا می‌کنند [۱۰]. ترکیبات دی‌کربونیل به‌ویژه متیل‌گلی‌اوکسال، منجر به گلیکیم شدن LDL شده و از این طریق قابلیت اکسید شونده آن را می‌افزایند. ویژگی پیش‌آتروژنی LDL اکسیده با گلیکیم شدن آن افزایش می‌یابد [۱۱]. مطالعات بسیاری جهت بررسی و شناخت مواد شیمیایی مختلف جهت مهار روند گلیکیم شدن در جریان است و در بین مواد پیشنهاد شده، بعضی از آن‌ها به‌علت سمی بودن، مناسب نیستند. بنابراین استفاده از مواد طبیعی که با سلامت سازگارند و عوارض کمتری دارند ارجح است [۱۲،۱۳].

با توجه به اهمیت استفاده از مواد طبیعی و سازگار با سلامت [۱۲،۱۳]، قبلاً در آزمایشگاه ما اثرات مفید اسیدآمینه‌های لیزین [۱۴] و گلیسین [۱۵] در رت دیابتی مطالعه شده است. با توجه به ویژگی سیستمین در به دام اندازی ترکیبات دی‌کربونیل که مواد گلیکیم کننده قوی و مهم‌ترین پیش‌سازهای AGEs هستند و همچنین با توجه به نقش این اسیدآمینه در کاهش استرس اکسیداتیو [۸]، این ماده نیز برای تیمار دیابت مورد توجه قرار گرفت. از طرفی، سیستمین به‌عنوان ماده پیش‌ساز گلوتاتیون (GSH) که یک آنتی‌اکسیدان قوی است، اهمیت زیادی دارد. لازم به ذکر است که میزان این اسیدآمینه که در مرحله محدود کننده ساخت گلوتاتیون نقش دارد، در دیابت کاهش می‌یابد. بنابراین، هدف از این مطالعه بررسی اثر بهبودی بخش سیستمین در دیابت توأم با آتروسکلروز، از طریق بررسی وضعیت قند خون، پروفایل لیپیدی، گلی‌اوکسال، متیل‌گلی‌اوکسال، گلیکیم و اکسیده LDL در مدل رت دیابتی-آتروسکلروزی است.

روش‌ها

طراحی مطالعه

موش‌های صحرایی نر (۸ هفته) از نژاد ویستار آلبینو با وزن ۱۸۰-۱۹۵ گرم از انستیتو پاستور ایران، کرج، خریداری شد. موش‌ها تحت شرایط دمایی کنترل شده،

اتوآنالیزور اسپکترا-۲ سنجش شد. میزان LDL به وسیله معادله فریدوال [۱۴] و شاخص آتروژنی از طریق تقسیم میزان LDL بر HDL محاسبه شد [۱۸].

سنجش گلی اوکسال و متیل گلی اوکسال

این ترکیب‌ها با روش HPLC فاز معکوس و قرائت جذب در طول موج ۳۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۹]. فاز متحرک، بافر فسفات + استونیتریل + بوتانول (با نسبت ۸:۳۲:۶۰) و روش ایزوگرادیانت بود. جهت سنجش از دستگاه HPLC شرکت KNAUER (آلمان) استفاده گردید.

سنجش LDL- گلیک

میزان LDL گلیک به وسیله آزمون تیوباریتوریک اسید تعیین گردید [۲۰]. ابتدا LDL به وسیله هپارین سولفات از سرم جدا و به آن اسید اگزالیک افزوده شد (۱:۲) و در دمای ۸۵ سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از سرد شدن، تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد به نمونه‌ها افزوده و سانتریفوژ شد. مایع رویی جدا و به آن تیوباریتوریک اسید افزوده و تشکیل ماده ۵- هیدوکسی متیل فورفورال با قرائت جذب نمونه‌ها در ۴۳۰ نانومتر بررسی شد. جهت محاسبه غلظت LDL- گلیک در نمونه‌ها از منحنی استاندارد ۵- هیدوکسی متیل فورفورال استفاده گردید.

سنجش دی‌ان‌کونجوگه به‌عنوان شاخص LDL اکسیده

غلظت دی‌ان‌کونجوگه از طریق خواندن جذب نمونه‌ها در ۲۳۴ نانومتر تعیین شد [۵]. جهت سنجش دی‌ان‌کونجوگه یا شاخص اکسید شدن LDL، ابتدا به وسیله کلروفورم و متانول (۹:۱) لیپیدهای LDL استخراج شد. سپس با عبور گاز نیتروژن، کلروفورم و متانول تبخیر شد و ذرات باقی‌مانده در یک میلی لیتر سیکلوهگزان حل شد. جذب نمونه‌ها در مقابل سیکلوهگزان به‌عنوان شاهد، در ۲۳۴ نانومتر خوانده شد و با استفاده از جذب مولی دی‌ان‌کونجوگه ($2/95 \times 10^4 M^{-1}$) غلظت آن به صورت میکرومول بر لیتر بیان شد.

چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا در خانه حیوانات دانشگاه تربیت مدرس نگهداری شدند. بعد از دو هفته سازگاری با شرایط، در نیمی از رت‌های با تزریق استرپتوزوتوسین به میزان ۴۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، دیابت القا شد و به مابقی فقط سرم فیزیولوژی تزریق گردید. سه روز بعد از تزریق، قندخون در رت‌ها اندازه‌گیری شد و مواردی که قند بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر داشتند، به‌عنوان مدل دیابتی پذیرفته شد (تمامی رت‌های تحت تزریق، همین حالت را داشتند). موش‌ها به‌طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی به ترتیب ذیل تقسیم شدند. گروه کنترل و دیابتی و گروه کنترل و دیابتی دریافت کننده سیستمین به ترتیب (کنترل + سیستمین) و (دیابتی + سیستمین). پروتکل تجربی توسط کمیته اخلاقی حیوانی مطابق با دستورالعمل برای مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی آماده شده توسط دانشگاه تربیت مدرس تصویب و اجرا شد. وزن تمامی رت‌ها به صورت هفتگی و تا پایان مطالعه اندازه‌گیری شد.

رت‌های کنترل (گروه‌های ۱ و ۲) تا پایان مطالعه با غذای استاندارد تغذیه شدند، ولی دو گروه دیابتی به‌منظور ایجاد آتروسکلروز، از غذای آتروژن طبق مدل وسترن [۱۶] حاوی یک درصد کلسترول و نیم درصد اسید کولیک استفاده کردند. براساس مطالعه قبلی [۱۷]، و تجارب به دست آمده از تحقیقات قبلی در آزمایشگاه ما، گروه‌های تحت تیمار، به مدت یک ماه، سیستمین به‌میزان ۰/۰۵ درصد در آب خوراکی دریافت کردند.

جمع‌آوری نمونه خون

رت‌ها بعد از ۱۶ ساعت ناشنایی، به وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلوزین (۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. نمونه خون وریدی از گوشه چشم جمع‌آوری و سرم آن‌ها جدا و تا زمان سنجش‌ها در فریزر ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

سنجش قند و پروفایل لیپیدی

قندخون ناشتا، تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL به روش آنزیمی با کیت‌های شرکت پارس آزمون به وسیله

واریانس چندگانه یا چند متغیری (MANOVA) که یک روش یک طرفه درون گروهی برای مقایسه چند پارامتر یا چند متغیر در نرم افزار SPSS 16 است و آزمون Tukey استفاده گردید. $P < 0/05$ برای تمام سنجش‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج قندخون ناشتا، LDL- گلیکیم، گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال در سرم همه گروه‌ها در جدول ۱ ارائه شده است. سطح این متغیرها در گروه‌های دیابتی بالاتر از گروه‌های کنترل بود و در گروه دیابتی تحت تیمار با سیستمین نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار، میزان این متغیرها پائین‌تر بود ($P < 0/001$).

سنجش محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده (AOPP)

سنجش محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده یا AOPP براساس روش اسپکتوفتومتری در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام شد [۲۱]. چکیده روش، به ۲۰۰ میکرولیتر سرم رقیق شده به‌وسیله بافر فسفات- سالین به نسبت ۱ به ۵، کلرامین T (۰-۱۰۰ میکرومول بر لیتر به‌عنوان استاندارد) و بافر فسفات سالین (به‌عنوان شاهد) ۱۰ میکرولیتر یدوریتاسیم ۱۱۶۰ میلی‌مول بر لیتر و ۲۰ میکرولیتر اسید استیک خالص افزوده شد. جذب نمونه و استانداردها در برابر شاهد خوانده و براساس منحنی استاندارد غلظت AOPP در نمونه تعیین گردید.

تحلیل آماری

تمامی نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار (mean \pm SD) ارائه شد. برای تحلیل داده‌ها از "آزمون تحلیل

جدول ۱- اثر سیستمین بر سطح قندخون ناشتا، LDL گلیکیم، گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال در گروه‌های کنترل و دیابتی

گروه	آتروسکلروزی		
	قند ناشتا	LDL گلیکیم	گلی‌اوکسال
	میلی‌گرم بر لیتر	میکرومول بر لیتر	متیل‌گلی‌اوکسال
کنترل	۸۵/۵ \pm ۵/۹ [#]	۴۳/۲ \pm ۱/۸ [#]	۱۳/۸ \pm ۰/۵ [#]
کنترل + سیستمین	۷۷/۲ \pm ۳/۴ ^{**#}	۳۵/۸ \pm ۱/۴ [#]	۱۲/۴ \pm ۰/۴ [#]
دیابتی	۲۳۸/۲ \pm ۶/۷ ^{**}	۱۰۳/۲ \pm ۴/۲ ^{**}	۵۰/۵ \pm ۲/۱ ^{**}
دیابتی + سیستمین	۱۶۵/۸ \pm ۳/۵ ^{**#}	۶۹/۹ \pm ۳/۷ ^{**#}	۲۴/۳ \pm ۱ ^{**#}

^{**} نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها ($P < 0/001$)

[#] نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها ($P < 0/001$)

روش آماری MANOVA و تست Tukey (تعداد در هر گروه، ۱۰ سر موش)

معنی‌داری وجود داشت ($P < 0.05$). در اثر مصرف غذای آتروژن، سطح پروفایل لیپیدی و شاخص آتروژنی در گروه‌های دیابتی - آتروسکلروزی از گروه‌های کنترل بالاتر بود. سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و شاخص آتروژنی در رت‌های دیابتی تحت تیمار با سیستمین نسبت به بدون تیمار اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P < 0/001$).

در جدول ۲، تغییرات پروفایل لیپیدی و شاخص آتروژنی (LDL/HDL) در گروه‌های کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیستمین نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار نمایان است. میزان این متغیرها در گروه‌های دیابتی بالاتر از گروه‌های کنترل بود. بین گروه کنترل تحت تیمار نسبت به گروه کنترل بدون تیمار تنها از نظر میزان کلسترول تفاوت

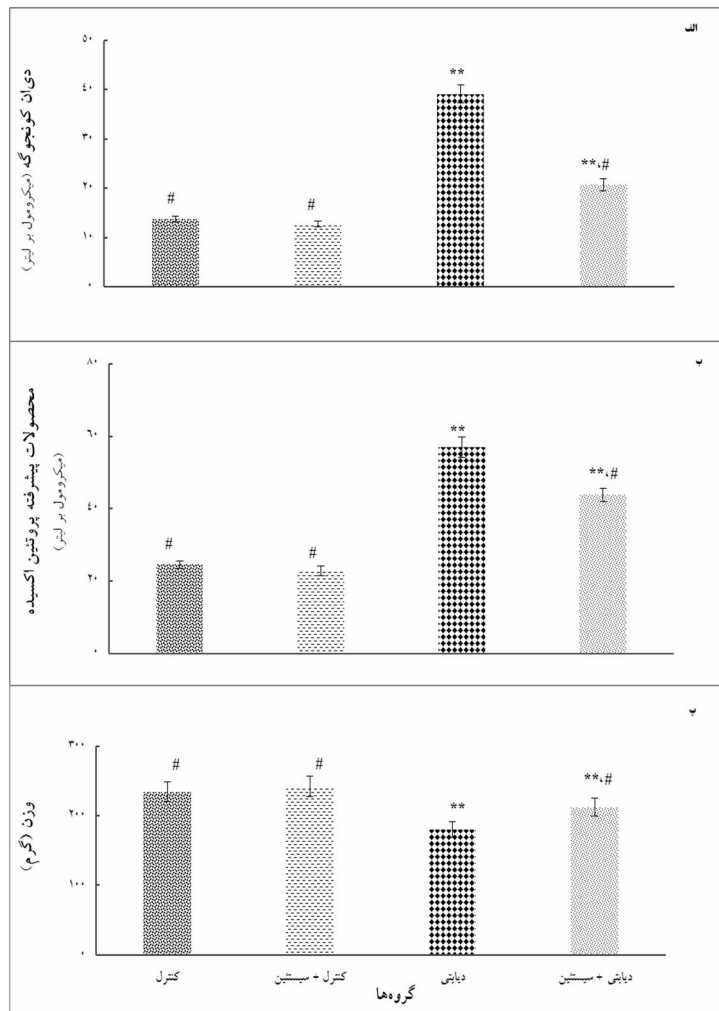
جدول ۲- مقایسه سطح پروفایل لیپیدی (تری گلیسری، کلسترول، HDL و LDL) و شاخص آتروژنی (LDL/HDL) در تمام گروه‌های کنترل و دیابتی - آتروسکلروزی بعد از یک ماه دریافت سیستین.

گروه	تری گلیسرید	کلسترول	HDL	LDL	شاخص آتروژنی
میلی گرم بر دسی لیتر					
کنترل	۷۲/۸ ± ۲/۸ [#]	۸۰/۶ ± ۲/۶ [#]	۵۰/۱ ± ۲/۶ [#]	۱۵/۹ ± ۰/۵ [#]	۰/۳ ± ۰/۰۱ [#]
کنترل + سیستین	۷۳/۵ ± ۳/۶ [#]	۶۸/۵ ± ۴/۲ ^{**#}	۴۱/۲ ± ۱/۹ [#]	۱۲/۳ ± ۰/۵ [#]	۰/۲۹ ± ۰/۰۱ [#]
دیابتی	۱۷۶/۵ ± ۴/۶ ^{**}	۱۸۸/۵ ± ۵/۴ ^{**}	۳۱/۳ ± ۱/۱ ^{**}	۱۲۱/۹ ± ۵/۲ ^{**}	۴ ± ۰/۱۵ ^{**}
دیابتی + سیستین	۱۲۱/۷ ± ۳/۸ ^{**#}	۱۵۵/۱ ± ۶/۱ ^{**#}	۳۴/۹ ± ۱/۶ ^{**#}	۹۵/۸ ± ۴/۳ ^{**#}	۲/۷ ± ۰/۱ ^{**#}

* P < ۰/۰۵ و ** P < ۰/۰۰۱ نمایانگر تفاوت معنی دار بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها

P < ۰/۰۰۱: نمایانگر تفاوت معنی دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها

روش آماری MANOVA و تست Tukey (تعداد در هر گروه، ۱۰ سر موش)



شکل ۱- مقایسه میزان دی‌ان کولسترول، محصولات پیشرفته پروتئین اکسید شده و وزن در بین رت‌های کنترل و دیابتی تحت تیمار سیستین با دوز ۰/۰۵ درصد در آب خوراکی به مدت یک ماه

** نمایانگر تفاوت معنی دار بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها (P < ۰/۰۰۱)؛ # نمایانگر تفاوت معنی دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها (P < ۰/۰۰۱)

روش آماری MANOVA و تست Tukey (تعداد در هر گروه، ۱۰ سر موش) الف) دی‌ان کولسترول به عنوان شاخص LDL-اکسید شده

ب) محصولات پیشرفته پروتئین اکسید شده یا AOPP به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو (پ) میانگین و انحراف استاندارد وزن رت‌ها در هر گروه

مطالعه محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده (AOPP) به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرائی دیابتی - آتروسکلروزی نسبت به گروه بدون تیمار کاهش یافت (شکل ۱- ب). اثر کاهنده این اسید آمینه بر میزان مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در رت ZDF گزارش شده است [۲۴]. کاهش قند در رت‌های دیابتی توسط اسید آمینه‌های لیزین [۱۴] و گلیسین [۱۵] قبلاً توسط گروه تحقیقاتی ما گزارش شده است. براساس نتایج مطالعه حاضر، سیستمین در دوز کمتری نسبت به اسید آمینه‌های ذکر شده، دارای قابلیت بهتری در بهبود وضعیت قندخون بود، که این از مزیت‌های استفاده از این اسید آمینه است.

تیمار با سیستمین وضعیت پروفایل لیپیدی در رت دیابتی - آتروسکلروزی را نیز بهبود بخشید. سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و شاخص آتروژنی (نسبت LDL به HDL) در موش‌های صحرائی تحت تیمار به‌طور معنی‌داری کمتر از رت‌های دیابتی - آتروسکلروزی بدون تیمار بود (جدول ۲). براساس جستجوهای ما در مقالات و وبگاه‌ها، اثرات مفید این اسید آمینه بر پروفایل لیپیدی تاکنون در هیچ مقاله‌ای ذکر نشده و برای اولین بار این اثر سیستمین گزارش می‌شود. در حالی که اثر کاهنده کلسترول و بهبود پروفایل لیپیدی به‌وسیله لیزین در رت دیابتی قبلاً توسط آزمایشگاه ما گزارش شده است [۱۴].

در این مطالعه، سیستمین بر روند گلیک و اکسید شدن LDL اثر مہاری نشان داد (جدول یک و شکل ۱- الف). اثر مہاری بر اکسید شدن LDL در شرایط آزمایشگاهی توسط اسید آمینه‌های سیستمین و هیستیدین قبلاً گزارش شده است [۲۷]. روند گلیک شدن LDL با اکسید شدن آن همراه است. مہار فرآیند گلیک شدن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها، تایید کننده این مطلب است. سیستمین احتمالاً با داشتن قابلیت آنتی‌اکسیداتی و کاهش میزان ترکیبات دی‌کربونیل مانند گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال (جدول یک) از طریق به دام اندازی این ترکیبات و حمایت از سیستم گلی‌اوکسیلاز (که باید بررسی شود)، بر گلیک و اکسید شدن این لیپوپروتئین اثر مہاری دارد. نقش اساسی گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال در بروز اختلالات دیابت، ثابت شده است.

مقایسه میزان شاخص LDL اکسیده، محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده (AOPP) و وزن در گروه‌های کنترل و دیابتی در اثر تیمار با سیستمین در شکل یک ارائه شده است. سطح شاخص‌های اکسیده در گروه‌های دیابتی بالاتر از گروه‌های کنترل ولی وزن آنها کمتر بود. گروه دیابتی تحت تیمار سیستمین کاهش و افزایش معنی‌داری به‌ترتیب از نظر شاخص‌های اکسیده و وزن نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار نشان داد ($P < 0.001$).

بحث و نتیجه‌گیری

در این مطالعه اثر مفید سیستمین بر وضعیت قندخون، پروفایل لیپیدی، ترکیبات دی‌کربونیل، LDL گلیک و اکسیده، محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده و وزن در مدل رت دیابتی - آتروسکلروزی نشان داده شد.

در تحقیق حاضر، با توجه به حل شونده‌گی این اسید آمینه در آب (۵۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) [۲۲] و از آنجایی که تجویز از طریق گاواژ استرس‌زا است [۲۳]، مشابه سایر مطالعات انجام شده در آزمایشگاه ما (۱۴، ۱۵) در زمینه تجویز اسیدهای آمینه به رت دیابتی، تجویز سیستمین نیز از طریق آب خوراکی صورت گرفت.

در این مطالعه تجویز سیستمین به موش‌های دیابتی باعث کاهش معنی‌دار قندخون شد (جدول ۱). اثر کاهندگی قندخون در رت‌های دیابتی توسط اسید آمینه سیستمین، در مدل رت دیابتی چاق Zucker (ZDF) نیز گزارش شده است [۲۴]. این اسید آمینه، به‌واسطه دارا بودن گروه تیول، در محیط کشت مانند انسولین بر ورود گلوکز به سلول‌های چربی نقش تحریکی نشان داده است [۲۵]. همچنین گزارش شده که سیستمین از طریق افزایش میزان ناقلین گلوکز نوع ۳ و ۴ (GLUT 3, 4)^۲ منجر به تقویت ورود گلوکز به سلول‌های عضلانی موش و نوروبلاستومای انسانی در محیط کشت، گردیده است [۲۶]. نتیجه مطالعه حاضر نیز سازگار با نتایج قبلی و موید آنهاست.

مطالعات قبلی نشان داده که افزایش استرس اکسیداتیو منجر به کاهش حساسیت انسولین می‌گردد [۲۴]. در این

² Glucose Transporter (GLUT)

آنتی‌اکسیدانی، به دام انداختن ترکیبات دی‌کربونیل [۲۸] و به‌عنوان پیش‌ساز گلوکاتایون [۸]، به‌عنوان یک جزء ضروری از سامانه آنزیمی گلی‌اوکسیلاز که خشتی‌کننده ترکیبات دی‌کربونیل به‌ویژه متیل‌گلی‌اوکسال است، این نوید را می‌دهد که در آینده نزدیک به‌عنوان یک داروی کنترل‌کننده جهت پیشگیری از عوارض دیابت استفاده گردد.

محدودیت‌های این مطالعه، مدت کوتاه آن و عدم بررسی اثر سیستمین بر سطح انسولین، ترکیبات نهایی پیشرفته گلیک و فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز است. این تحقیق جهت بررسی پارامترهای ذکر شده و بررسی سایر اثرات سیستمین ادامه دارد. همچنین برای شناسایی بهتر سازوکار اثر سیستمین در مهار گلیک شدن پروتئین‌ها، مطالعات در شرایط برون‌تنی (*in test tube or in vitro*) ضروری به‌نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

براساس نتایج به‌دست آمده از این تحقیق، سیستمین پس از یک ماه، موجب بهبود وضعیت قند و لیپید، مهار روندهای گلیک و اکسید شدن LDL و کاهش استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی - آتروسکلروزی شد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس جهت همکاری در اجرای این تحقیق سپاس‌گذاریم.
تامین منبع مالی: دانشگاه تربیت مدرس

همان‌طور که ذکر شد، تیمار موش‌های دیابتی با سیستمین اثر کاهندگی بر این ترکیبات نشان داد (جدول ۱). قابلیت به دام اندازی متیل‌گلی‌اوکسال به‌وسیله این اسیدآمین به سلول‌های کبدی جدا شده از رت، قبلاً گزارش شده است [۲۸]. ترکیبات دی‌کربونیل از طریق سیستم آنزیمی گلی‌اوکسیلاز وابسته به گلوکاتایون تجزیه می‌گردند [۲۵]. از طرفی، سیستمین پیش‌ساز گلوکاتایون نیز هست، و در دیابت میزان سیستمین و گلوکاتایون هر دو کاهش می‌یابد [۸]. بنابراین، تجویز سیستمین به بیماران دیابتی نه تنها جهت پیشگیری از استرس اکسیداتیو و ممانعت از تشکیل ترکیبات کربونیل ضروری به‌نظر می‌رسد، بلکه برای تامین ماده اولیه لازم برای ساخت گلوکاتایون نیز مورد نیاز است. براساس جستجوهای ما در مقالات و وبگاه‌ها، تاکنون در مورد اثر مهار سیستمین بر گلیک و اکسید شدن LDL در مدل دیابتی - آتروسکلروزی گزارشی ارائه نشده است.

این اسیدآمین داری اثر مفیدی بر جبران کاهش وزن رت‌های دیابتی بود. به‌طوری که وزن گروه دیابتی تحت تیمار بیشتر از گروه بدون تیمار بود (شکل ۱- پ). در مطالعه قبلی نقش سیستمین بر جبران کاهش وزن رت‌های ZDF بی اثر بیان شده بود [۲۴]. احتمالاً علت این اختلاف در نتایج، تفاوت در دوز سیستمین تجویز شده و نوع مدل دیابتی القاء شده در مطالعه حاضر با مطالعه قبلی است. با توجه به یافته‌ها، سیستمین از طریق اعمال اثرات مفید بر وضعیت قند و لیپید، همچنین به‌دلیل بروز ویژگی

ماخذ

1. Alberti K, Zimmet P. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO consultation. *Diabetic Medicine* 1998;15(7):539-53.
2. Dvornik D. Chronic Complications of Diabetes. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* 1978;13:159-66.
3. Beckman JA, Creager MA, Libby P. Diabetes and atherosclerosis. *JAMA: the journal of the American Medical Association* 2002;287(19):2570-81.
4. Bowie A, Owens D, Collins P, Johnson A, Tomkin GH. Glycosylated low density lipoprotein is more sensitive to oxidation: implications for the diabetic patient? *Atherosclerosis* 1993;102(1):63-7.
5. Ahotupa M, Vasankari TJ. Baseline diene conjugation in LDL lipids::: An indicator of circulating oxidized LDL. *Free Radical Biology and Medicine* 1999;27(11-12):1141-50.
6. Du Y, Miller CM, Kern T. Hyperglycemia increases mitochondrial superoxide in retina and retinal cells. *Free Radical Biology and Medicine* 2003;35(11):1491-9.
7. Wu G, Fang Y-Z, Yang S, Lupton JR, Turner ND. Glutathione metabolism and its

- implications for health. *The Journal of Nutrition* 2004;134(3):489-92.
8. Griffith OW. Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis. *Free Radical Biology and Medicine* 1999;27(9):922-35.
 9. Turk Z. Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications. *Physiol Res* 2010;59(2):147-56.
 10. Cantero AV, Portero-Otín M, Ayala V, Auge N, Sanson M, Elbaz M, et al. Methylglyoxal induces advanced glycation end product (AGEs) formation and dysfunction of PDGF receptor-β: implications for diabetic atherosclerosis. *The FASEB Journal* 2007;21(12):3096-106.
 11. Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *Journal of Clinical Investigation* 1991;88(6):1785.
 12. Harding JJ, Ganea E. Protection against glycation and similar post-translational modifications of proteins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins & Proteomics* 2006;1764(9):1436-46.
 13. Gugliucci A, Menini T. The polyamines spermine and spermidine protect proteins from structural and functional damage by AGE precursors: a new role for old molecules?. *Life sciences* 2003;72(23):2603-16.
 14. Jafarnejad A, Bathaie S, Nakhjavani M, Hassan M, Banasadeh S. The improvement effect of L-Lys as a chemical chaperone on STZ-induced diabetic rats, protein structure and function. *Diabetes/metabolism research and reviews* 2008;24(1):64-73.
 15. Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, Ghahghaei A. Glycine therapy inhibits the progression of cataract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Molecular Vision* 2012;18:439-48.
 16. Sell D, Monnier V. Structure elucidation of a senescence cross-link from human extracellular matrix. Implication of pentoses in the aging process. *Journal of Biological Chemistry* 1989;264(36):21597-602.
 17. Sagara M, Satoh, Jo, Zhu, Xiao Ping, Takahashi, Kazuma, Fukuzawa, Masamitsu, Muto G, Muto Y, Toyota T. Inhibition with N-acetylcysteine of enhanced production of tumor necrosis factor in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinical immunology and immunopathology* 1994;71(3):333-7.
 18. Ghanem AA, Elewa A, Arafa LF. Pentosidine and N-carboxymethyl-lysine: biomarkers for type 2 diabetic retinopathy. *European journal of ophthalmology* 2011;21(1):48.
 19. Deng Y, Peter HY. Simultaneous determination of formaldehyde and methylglyoxal in urine: involvement of semicarbazide-sensitive amine oxidase-mediated deamination in diabetic complications. *Journal of chromatographic science* 1999;37(9):317-22.
 20. Cohen MP, Shea EA, Wu V-Y. Inhibiting LDL glycation ameliorates increased cholesteryl ester synthesis in macrophages and hypercholesterolemia and aortic lipid peroxidation in streptozotocin diabetic rats. *Metabolism: clinical and experimental* 2010;59(5):658.
 21. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Capeillere-Blandin C, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Zingraff J, et al. Advanced oxidation protein products as a novel marker of oxidative stress in uremia. *Kidney international* 1996;49(5):1304-13.
 22. Dawson RMC, et al. Data for Biochemical Research, 3rd ed., Oxford University Press (New York, NY) 1986:12-3.
 23. Brown AP, Dinger N, Levine BS. Stress produced by gavage administration in the rat. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 2000;39(1):17-21.
 24. Jain SK, Velusamy T, Croad JL, Rains JL, Bull R. L-Cysteine supplementation lowers blood glucose, glycated hemoglobin, CRP, MCP-1, and oxidative stress and inhibits NF-κB activation in the livers of Zucker diabetic rats. *Free Radical Biology and Medicine* 2009;46(12):1633-8.
 25. Lavis VR WR. Studies of the insulin-like actions of thiols upon isolated fat cells. *J Biol Chem.* 1970;245:23-31.
 26. Gazit V, Ben-Abraham R, Vofsi O, Katz Y. L-cysteine increases glucose uptake in mouse soleus muscle and SH-SY5Y cells. *Metabolic brain disease* 2003;18(3):221-31.
 27. Patterson RA, Lamb DJ, Leake DS. Mechanisms by which cysteine can inhibit or promote the oxidation of low density lipoprotein by copper. *Atherosclerosis* 2003;169(1):87-94.
 28. Mehta R, Wong L, O'Brien PJ. Cytoprotective mechanisms of carbonyl scavenging drugs in isolated rat hepatocytes. *Chemico-biological interactions* 2009;178(1):317-23.

EFFECT OF ONE MONTH CYSTEINE TREATMENT ON THE GLYCEMIC CONTROL, LIPID PROFILE, GLYCATED AND OXIDIZED LDL, IN THE RAT MODEL OF DIABETES – ATHEROSCLEROSIS

Safdar Mahdavi¹, Seyede Zahra Bathaie^{*1}, Manouchehr Nakhjavani², Batoul Etemadi Kia¹

1. Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran

2. Endocrine Division, Vali-asr Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ABSTRACT

Background: Diabetes is the most common metabolic diseases and its vascular complications are main cause of death in diabetic patients. Patients with hyperglycemia, dyslipidemia and oxidative stress are prone to diabetes complications. The goal of this study was investigation of the effect of cysteine (Cys) on hyperglycemia, lipid profile, atherogenic index, glyoxal, methylglyoxal, oxidative stress and, glycation and oxidation of LDL in the rat model of diabetes –atherosclerosis.

Methods: Diabetes was induced in the rats using Streptozotocin injection; then they put on the atherogenic diet. The groups under study were including of control and diabetic rats, and two other similar groups under Cys (0.05 % in drinking water) treatment. After one month, fasting blood sugar (FBS), lipid profile, atherogenic index (LDL/HDL), glycated and oxidized LDL, AGEs, glyoxal, methylglyoxal, Advanced oxidation protein products (AOPP) as an oxidative stress index and weight of rat was measured.

Results: Diabetic-atherosclerotic rat groups significantly showed higher level of FBS, triglyceride, cholesterol, LDL, atherogenic index, glycated and oxidized LDL, glyoxal, methylglyoxal and AOPP than control group. These parameters significantly ($P < 0.001$) reduced in diabetic group treated with Cys in comparison of untreated.

Conclusion: Cysteine with improving property on glycemic and lipemic conditions, inhibitory activity on glycation and oxidation of LDL and reduction of oxidative stress in diabetic-atherosclerotic rats could recommended as a drug for prevention of diabetes complications.

Keywords: Diabetes, Atherosclerosis, Cysteine, Sterptozotocin, Glycated LDL, Oxidative stress

* Jalal Ale Ahmad, Nasrbridge. Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, P.O. Box: 14115-111, Tehran, Iran. Email: Bathaie_Z@modares.ac.ir