

اثر L - کارنیتین بر روی سطح نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین سرمی در موش‌های صحرایی نرمال و دیابتی شده با استرپتوزوسین

علی محمد شریفی^{۱*}، مریم قادرپناهی^۲، سید ضیاء الدین حسینی مظهری^۳

چکیده

مقدمه: مشکلات قلبی - عروقی و از جمله پرفشاری خون، از عوارض ناشی از ابتلا به دیابت طولانی مدت می‌باشند. مطالعات محدودی حاکی از اثرات مثبت L- کارنیتین بر پرفشاری خون موجود می‌باشد. در بررسی حاضر، اثرات احتمالی L- کارنیتین بر سطح نیتریک اکسید (NO) و فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) سرمی و فشار خون سیستولیک (SBP) در موش‌های صحرایی نرمال و دیابتی شده مورد مطالعه قرار گرفته است.

روش‌ها: در این مطالعه، تعداد ۴۰ راس موش صحرایی در چهار گروه کنترل درمان نشده (C)، کنترل درمان شده (CT)، دیابتی درمان نشده (D) و دیابتی درمان شده (DT) مورد بررسی قرار گرفتند. دیابتی شدن حیوانات با تزریق استرپتوزوسین صورت گرفت. دو گروه C و D آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند و گروه‌های CT و DT، دوز مشخصی از L- کارنیتین را در آب مصرفی بطور روزانه دریافت نمودند. پس از طی ۱۲ هفته میزان SBP، NO و فعالیت ACE سرمی ارزیابی گردید.

یافته‌ها: میزان فشار خون سیستولیک در گروه DT نسبت به گروه D کاهش معنی داری یافت. همچنین فعالیت ACE سرم در گروه DT در قیاس با گروه D کاهش معنی داری داشته و سطح NO سرم در دو گروه CT و DT به ترتیب نسبت به گروه‌های C و D افزایش معنی داری یافته است.

نتیجه‌گیری: بدین ترتیب چنین می‌توان نتیجه گرفت که L- کارنیتین ممکن است بتواند با افزایش سطح NO و کاهش فعالیت ACE سرمی موجب کاهش SBP در موش‌های صحرایی دیابتی گردد.

واژگان کلیدی: L - کارنیتین، دیابت، فشارخون، نیتریک اکسید، آنزیم مبدل آنژیوتانسین

۱- دپارتمان فارماکولوژی و مرکز تحقیقات سلولی مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران، مرکز تحقیقات غدد درون ریز و متابولیسم دانشگاه علوم

پزشکی تهران

۲- دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی ایران

۳- دانشکده علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی

* **نشانی:** تهران، اتوبان همت، جنب بیمارستان میلاد، دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، دپارتمان فارماکولوژی و مرکز

تحقیقات سلولی مولکولی، تلفن: ۰۹۱۲۱۴۸۴۶۴۹-۸۸۰۵۲۹۸۴؛ پست الکترونیک: sharifal@yahoo.com

مقدمه

دیابت ملیتوس یک بیماری تهدید کننده سلامت عمومی می باشد و شیوع آن در دهه های اخیر بطور چشمگیری افزایش یافته است [۱]. افزایش مبتلایان به دیابت، این بیماری را به عنوان یک عامل جدی تهدید سلامتی در قرن ۲۱ مطرح ساخته است [۲].

مشکلات عروقی شامل پرفشاری خون که در حدود ۷۰٪ بیماران دیابتی به چشم می خورد [۳]، می تواند از جمله عوارض متعاقب دیابت طولانی مدت بوده که ناشی از عوامل متعدد و از جمله احتمالاً هیپرگلیسمی باشد [۴]. مطالعات متعددی نشانگر این حقیقت می باشد که دیابت موجب اختلال در عملکرد اندوتلیوم [۵-۱۱] و متعاقباً کاهش ظرفیت گشاد کنندگی وابسته به آن که تا حد زیادی توسط نیتریک اکسید (NO) میانجیگری می گردد خواهد شد که افزایش احتمالی انقباض عروق در برخی از بسترهای عروقی را در پی خواهد داشت [۱۴-۱۱].

آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) یک دکاپتیدیل پپتیداز است و یکی از اجزای سیستم رنین - آنژیوتانسین (RAS) بوده که آنژیوتانسین I را به آنژیوتانسین II تبدیل می نماید. ACE در کلیه ها با تولید آنژیوتانسین II سبب ایجاد تغییراتی همچون کاهش دفع ادراری آب و سدیم می گردد و نقشی مهم در پایداری طولانی مدت پرفشاری دارد. شواهدی مبنی بر شیوع پرفشاری در نتیجه تغییر در سیستم رنین - آنژیوتانسین - آلدوسترون (RAAS) در بیماران دیابتی، موجود می باشد. از طرف دیگر نقش مهار کننده های آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) در بهبود عملکرد اندوتلیال در بیماران مبتلا به دیابت ملیتوس یا پرفشاری خون نیز حاکی از مداخله فعالیت سیستم رنین - آنژیوتانسین (RAS) در اختلال عملکرد اندوتلیال در این بیماران می باشد [۱۵]. گزارش های موجود نشانگر این است که آنژیوتانسین II که در شروع ابتلاء به دیابت فعال می گردد [۱۶، ۱۷] قادر می باشد که با ایجاد استرس اکسیداتیو سبب کاهش زیست دستیابی NO، اختلال در عملکرد اندوتلیوم و در نهایت پرفشاری خون گردد [۱۸، ۱۹].

تحقیقات نشان دهنده این است که سطح آزاد و تام L -

کارنیتین در بیماران دیابتی دارای عوارض نسبت به بیماران بدون عوارض کاهش معنی داری دارد [۲۰]. همچنین در مطالعاتی، مصرف مکمل L - کارنیتین، سبب کاهش فشار خون در انسان های با پرفشاری اولیه^۱ و موش های صحرایی با پرفشاری خود بخودی گردید [۲۱، ۲۲]. همچنین دریافت مکمل L - کارنیتین، منجر به گشادی عروق در موش های صحرایی با پرفشاری خون خود بخودی و دیابتی گردیده است و پیشنهاد می شود که سازوکار اثر L - کارنیتین بر گشاد کنندگی عروق احتمالاً از طریق تولید یا افزایش زیست دستیابی نیتریک اکسید مترشحه از اندوتلیوم باشد [۲۳، ۲۴].

بنابراین در مطالعه حاضر اثرات L - کارنیتین بر میزان نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین سرمی که از عوامل تعیین کننده و مهم در تنظیم فشار از طرفی و عواقب قلبی عروقی دیابت از طرف دیگر می باشند در موش های صحرایی نرمال و دیابتی ارزیابی گردیدند، بطوری که چنانچه L - کارنیتین بتواند سبب بهبود در سطح نیتریک اکسید سرمی و یا کاهش فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین سرمی گردد، شاید بتوان در درمان پرفشاری خون و همچنین در پیشگیری از پیچیدگی ها و عواقب قلبی و عروقی ناشی از دیابت مورد استفاده قرار گیرد.

روش ها

طرح تحقیق

تعداد ۴۰ موش صحرایی نر گونه Wistar - Kyoto (WKY) ۸ - ۶ هفته ای با وزن ۱۵۰-۱۳۰ گرم از انستیتو پاستور (کرج، ایران) تهیه شدند. موش های صحرایی تحت شرایط فیزیکی نرمال (۲۵-۲۲ °C با رطوبت نسبی ۳۵-۲۲٪ و یک چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته) با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی و غذای استاندارد نگهداری شدند. حیوانات بطور تصادفی به ۴ دسته اصلی گروه کنترل درمان نشده (C: تعداد=۱۰ رأس)، گروه کنترل درمان شده (CT: تعداد=۱۰ رأس)، گروه دیابتی درمان نشده (D: تعداد=۱۰ رأس) و گروه دیابتی درمان شده (DT: تعداد=۱۰ رأس)

^۱ Essential

اندازه گیری میزان فعالیت ACE سرمی

فعالیت ACE سرمی با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مطابق روش Horiuchi و همکاران [۲۷]، اندازه‌گیری گردید.

تحلیل آماری

اطلاعات به صورت میانگین \pm استاندارد خطای میانگین (Mean \pm SEM) با استفاده از نرم افزار آماری SPSS بیان شده است. برای مقایسه هر گروه با گروه کنترل، از Unpaired Student's Test استفاده شد. در این مطالعه، $P < 0/05$ از نظر آماری، معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

وزن بدن

در پایان هفته ۱۲، وزن بدن کلیه گروه‌ها اندازه‌گیری شد (جدول ۱). اگرچه میانگین وزن گروه کنترل (C) نسبت به گروه دیابت (D) پس از پایان ۱۲ هفته بیشتر می‌باشد، ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست [C) $310/33 \pm 13/55$ در برابر (D) $281/89 \pm 27/05$ ، $P > 0/05$ ، نمودار ۱]. هیچ تفاوت معنی‌داری میان میزان وزن بدن در گروه CT نسبت به گروه C [CT) $313/89 \pm 7/43$ در برابر (C) $310/33 \pm 13/55$ ، $P > 0/05$ ، نمودار ۱] و در گروه DT نسبت به گروه D مشاهده نشد. [DT) $277/22 \pm 24/06$ در برابر (D) $281/89 \pm 27/05$ ، $P > 0/05$ ، نمودار ۱].

فشار خون سیستولیک

در پایان هفته ۱۲، فشار خون سیستولیک (SBP) کلیه گروه‌ها اندازه‌گیری شد. میزان SBP در گروه D نسبت به گروه C افزایش معنی‌داری را نشان داد [D) $114/78 \pm 4/81$ در برابر (C) $103/11 \pm 4/54$ ، $p < 0/05$ ، نمودار ۲]. هیچ تفاوت معنی‌داری میان میزان SBP در گروه CT نسبت به گروه C مشاهده نشد [CT) $93/96 \pm 4/14$ در برابر (C) $103/11 \pm 4/54$ ، نمودار ۲]. همچنین کاهش چشمگیری در

تقسیم شدند. دیابتی شدن با تزریق داخل صفاقی (IP) ۶۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوسین (STZ) تازه تهیه شده صورت گرفت [۲۵]. به رت‌های کنترل یک حجم مساوی از آب مقطر تزریق شد. سطح گلوکز ادراری بالاتر از ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر در حیوانات دریافت کننده استرپتوزوسین دیابتی بودن آنها را تأیید می‌کرد و این مسئله با تغییر رنگ نوار ادرار قابل مشاهده بود.

گروه C و D دسترسی آزاد به آب داشتند. گروه CT و DT یک دوز روزانه ۲۵۰ میلی گرم به ازاء کیلوگرم وزن بدن L- کارنیتین را به مدت ۱۲ هفته دریافت نمودند. L- کارنیتین در آب مصرفی حیوانات اضافه گردید و مقدار L- کارنیتین تجویز شده روزانه بطور هفتگی با وزن بدن و آب مصرفی تنظیم شد. فشار خون سیستولیک در پایان هفته دوازدهم مطالعه اندازه‌گیری شد. حیوانات قبل از مداخله و هفته‌ای یکبار در طی ۱۲ هفته مداخله توزین شدند. سطح NO و ACE سرمی در انتهای هفته دوازدهم سنجیده شد.

اندازه گیری فشار خون سیستولیک

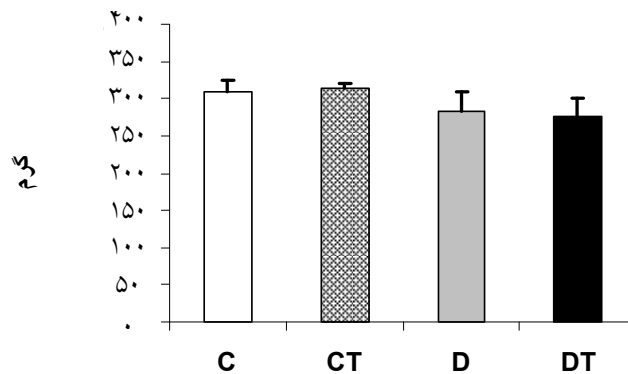
فشار خون سیستولیک با استفاده از روش دمی (tail - cuff) توسط دستگاه ثبت کننده فشار (Power Lab, Austrlia) سنجیده شد. میانگین ۳ فشار خون سیستولی در هر نوبت اندازه‌گیری و بعنوان برآورد فشار خون استفاده گردید.

جمع‌آوری نمونه‌های سرمی خون

جهت جمع‌آوری نمونه‌های سرمی، ابتدا از قلب حیوانات خون گرفته شد سپس به مدت ۱۰ دقیقه در 3000 g سانتریفوژ گردید تا سرم آن جدا شود. نمونه‌های سرمی تا زمان اندازه‌گیری NO و ACE در 70°C ذخیره شد.

اندازه‌گیری میزان NO_x سرم

میزان NO سرمی با استفاده از اندازه‌گیری متابولیت‌های آن یعنی نیترات (NO_3^-) و نیتريت (NO_2^-) بر پایه واکنش گریس توسط NO Assay Kit (Colorimetric (Roche Diagnostics, Germany) ارزیابی گردید [۲۶].

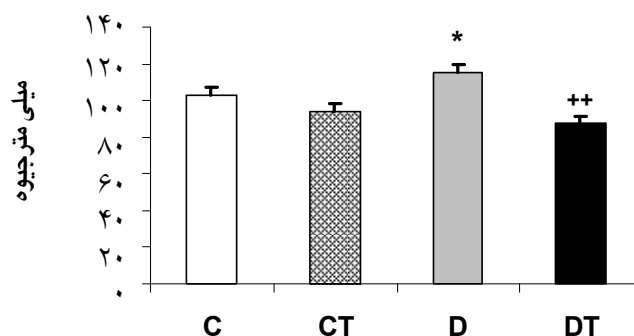


نمودار ۱- اندازه گیری وزن بدن (گرم) در گروه های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با L- کارنیتین با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's Test. C = کنترل درمان نشده، CT = کنترل درمان شده با L- کارنیتین، D = دیابتی درمان نشده، DT = دیابتی درمان شده با L- کارنیتین. تعداد = ۱۰ سر موش.

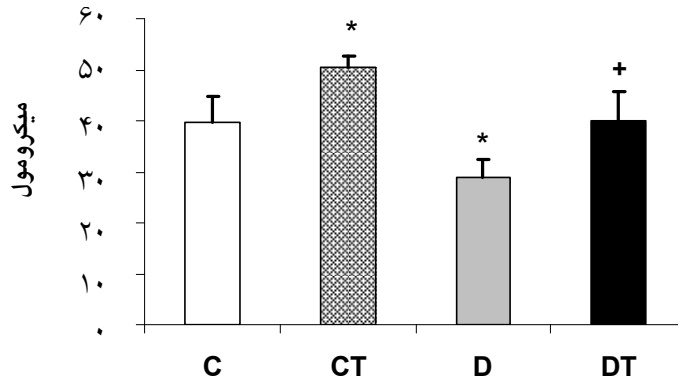
جدول ۱- اندازه گیری وزن بدن، میزان فشار خون سیستولیک، سطح نیتریک اکسید و فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین سرم در گروه های کنترل و دیابتی درمان شده و درمان نشده

گروه	کنترل (C)	کنترل درمان شده با L- کارنیتین (CT)	دیابتی (D)	دیابتی درمان شده با L- کارنیتین (DT)	معیار
وزن بدن (gr)	310.33 ± 13.55	313.89 ± 7.43	281.89 ± 27.05	277.22 ± 24.06	
فشار خون سیستولیک (mmHg)	103.11 ± 4.54	93.96 ± 4.14	114.78 ± 4.81*	88.11 ± 3.06++	
نیتریک اکسید (μmol)	39.7 ± 4.98	50.58 ± 2.00*	28.81 ± 3.48*	40.06 ± 0.53+	
فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین (μmol/min/lit)	126.44 ± 3.24	125.05 ± 4.07	135.43 ± 3.38*	104.67 ± 4.57++	

معیارها به صورت میانگین ± استاندارد خطای میانگین بیان شده اند. با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's Test. از نظر آماری، $p < 0.05$ معنی دار تلقی می گردد. $p < 0.05$ = *، در برابر گروه C، $p < 0.01$ = ++، در برابر گروه D. $p < 0.01$ = ++ در برابر گروه D. $p < 0.05$ = +، در برابر گروه C. تعداد = ۱۰ سر موش

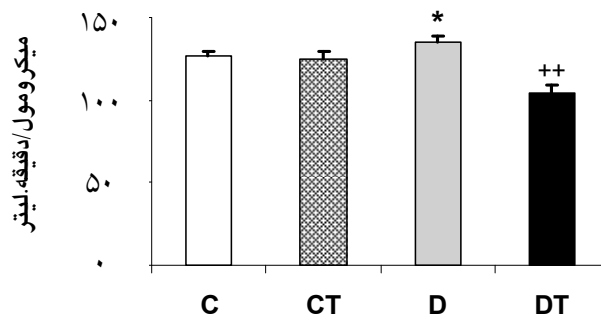


نمودار ۲- اندازه گیری میزان فشار خون (میلی متر جیوه) در گروه های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با L- کارنیتین با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's Test. C = کنترل درمان نشده، CT = کنترل درمان شده با L- کارنیتین، D = دیابتی درمان نشده، DT = دیابتی درمان شده با L- کارنیتین. $p < 0.05$ = *، در برابر گروه C، $p < 0.01$ = ++، در برابر گروه D. تعداد = ۱۰ سر موش.



نمودار ۳- اندازه گیری سطح نیتریک اکسید (میکرومول) سرمی در در گروه‌های کنترل و دیابتی درمان نشده و درمان شده با L- کارنیتین

با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's Test. C= کنترل درمان نشده. CT= کنترل درمان شده با L- کارنیتین. D= دیابتی درمان نشده. DT= دیابتی درمان شده با L- کارنیتین. * $P < 0.05$ ، در برابر گروه C، $P < 0.05 = +$ در برابر گروه D. تعداد = ۱۰ سر موش.



نمودار ۴- اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین سرمی (میکرومول/دقیقه.لیتر) در گروه‌های کنترل و دیابتی

با استفاده از آزمون آماری Unpaired Student's test. C= کنترل درمان نشده. CT= کنترل درمان شده با L- کارنیتین. D= دیابتی درمان نشده. DT= دیابتی درمان شده با L- کارنیتین. * $p < 0.05$ ، در برابر گروه C، $P < 0.001 = ++$ در برابر گروه D. تعداد = ۱۰ سر موش.

نمودار ۳]. میزان NO_x سرم در گروه CT نیز نسبت به گروه C افزایش داشته است [CT) $50/58 \pm 2/00$ در برابر C) $39/7 \pm 4/98$ ، $P < 0.05$ ، نمودار ۳]. همچنین افزایش معنی داری در میزان NO_x سرم در گروه DT نسبت به گروه D مشخص گردید. [DT) $40/06 \pm 5/53$ در برابر (D) $28/81 \pm 3/48$ ، $P < 0.05$ ، نمودار ۳].

میزان SBP در گروه DT نسبت به گروه D مشخص گردید [DT) $88/11 \pm 3/06$ در برابر (D) $114/78 \pm 4/81$ ، $P < 0.001$ ، نمودار ۲].

نیتریک اکسید (NO_x) سرم

NO_x سرم ($NO_2^- + NO_3^-$) متابولیت‌های نهایی NO بوده و اغلب جهت اندازه گیری میزان NO در سرم مورد استفاده قرار می‌گیرد. در پایان هفته ۱۲، میزان NO_x سرم تمامی گروه‌ها اندازه‌گیری شد. میزان NO_x سرم در گروه D نسبت به گروه C کاهش معنی داری داشته است [D) $28/81 \pm 3/48$ در برابر (C) $39/7 \pm 4/98$ ، $P < 0.05$ ، نمودار ۳].

فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) سرمی

در پایان هفته ۱۲، میزان فعالیت ACE سرم چهار گروه اندازه گیری شد. میزان فعالیت ACE سرم در گروه D نسبت به گروه C افزایش با اهمیتی را نشان داد [D)

در این مطالعه فعالیت ACE در گروه D نسبت به گروه C افزایش داشت. این مشاهده هم‌راستا با مطالعات قبلی که نشانگر افزایش فعالیت ACE سرمی در موش‌های صحرایی دیابتی شده با STZ بود می‌باشد [۲۵]. این افزایش فعالیت ACE را شاید بتوان به دیابتی شدن موش‌های صحرایی و اختلال نقش NO نسبت داد. در شروع دیابت که هیپرگلیسمی سبب هیپرفیلتراسیون و ناتریورز می‌گردد، آنژیوتانسین II بعنوان یک محرک جبرانی پرفشاری در جهت حفظ فشار خون طبیعی فعال می‌شود. لذا افزایش فعالیت ACE و متعاقب آن افزایش سطح آنژیوتانسین II در دیابت از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو سبب کاهش زیست دستیابی NO می‌گردد [۱۸]. از طرفی مشخص شده است که NO بر سنتز ACE و گیرنده تیپ یک آنژیوتانسین II اثرات تنظیمی منفی دارد [۱۸]، بنابراین می‌توان چنین فرض کرد که کاهش NO مشاهده شده در گروه دیابتی درمان نشده نسبت به کنترل درمان نشده می‌تواند با کاهش اثر تنظیمی منفی بر سنتز ACE سبب افزایش فعالیت ACE در گروه D نسبت به گروه C گردد.

افزایش فشار خون ملاحظه شده در گروه D نسبت به گروه C را شاید بتوان با کاهش میزان NO، افزایش سطح سوپراکسید و همچنین افزایش فعالیت ACE توجیه نمود. نتایج حاصل از تحقیقات ما نشان داده است که سطح NO در کنترل درمان شده با LC (CT) نسبت به کنترل درمان نشده (C) افزایش داشته است و این نتایج با یافته‌های بدست آمده از تحقیق Bueno و همکاران [۲۴] ناشی از اثر LC و پروپیونیل L-کارنیتین (PLC) در موش‌های صحرایی WKY مطابقت دارد. در بررسی Calò و همکارانش [۳۶]، انکوپاسیون سلول‌های آندوتلیال کشت شده با LC، استیل L- کارنیتین، پروپیونیل L- کارنیتین در شرایط طبیعی و در حضور استرس اکسیداتیو ناشی از H₂O₂ سبب افزایش بیان ژن و پروتئین نیتریک اکسید سنتاز آندوتلیال گردید.

نتایج نشان می‌دهد که مصرف LC در گروه دیابتی درمان شده با LC (DT) منجر به افزایش سطح NO نسبت به گروه دیابتی درمان نشده (D) گردیده است. در مطالعه

در برابر (C) $126/44 \pm 3/24$ ، $P < 0/05$ ، نمودار ۴]. هیچ تفاوت معنی داری در میزان فعالیت ACE سرم در گروه CT نسبت به گروه C مشاهده نشد [CT] $125/05 \pm 4/07$ در برابر (C) $126/44 \pm 3/24$ ، نمودار ۴]. همچنین کاهش چشمگیری در میزان فعالیت ACE سرم در گروه DT نسبت به گروه D مشخص گردید [DT] $104/77 \pm 4/57$ در برابر (D) $135/43 \pm 3/38$ ، $P < 0/001$ ، نمودار ۴].

بحث

مشکلات قلبی عروقی و از جمله پرفشاری خون از عوارض ناشی از ابتلا به دیابت طولانی مدت می‌باشد. نیتریک اکسید (NO) و آنزیم مبدل آنژیوتانسین (ACE) از سازوکارهای پر اهمیت تنظیم کننده فشار خون می‌باشند. کاهش در غلظت L- کارنیتین (LC)، که نقش اصلی آن انتقال اسیدهای با زنجیر بلند به داخل میتوکندری است، در افراد دیابتی دارای عوارض گزارش گردیده است و اثرات مثبت و کاهنده آن بر پرفشاری خون نیز مشاهده گردیده است.

در تحقیق حاضر مشاهده گردیده است که میزان NO در موش‌های صحرایی دیابتی درمان نشده (D) در مقایسه با کنترل‌های درمان نشده (C) کاهش پیدا کرده است. سازوکارهایی که برای این عمل پیشنهاد می‌شوند می‌تواند مهار آنزیم نیتریک اکسید سنتاز (NOS) [۲۸-۳۰] یا بدام افتادن نیتریک اکسید توسط سوپر اکسید [۳۵-۳۱]، [۹] باشد. شواهد حاکی از اختلال سنتز NO در دیابت طولانی مدت می‌باشد [۳۶]. آنژیوتانسین II که میزان آن در نتیجه هیپرگلیسمی افزایش می‌یابد [۱۷] سبب فعال شدن NAD(P)H اکسیداز II شده بطوریکه فعالیت این آنزیم فراتر از ظرفیت بدام اندازی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌رود و در نهایت استرس اکسیداتیو افزایش یافته و NO غیر فعال می‌شود [۳۷]. در این تحقیق چون میزان بیان آنزیم eNOS اندازه‌گیری نشده است مشخص نمی‌باشد که آیا میزان سنتز NO کاهش پیدا است یا اینکه افزایش سطح آنیون سوپراکسید سبب کاهش میزان NO شده است.

توسط Herrera و همکارانش [۲۳]، گشادی عروق وابسته به آندوتلیوم ناشی از عمل LC در حلقه‌های آئورت SHR در حضور مهار کننده NOS بطور معنی‌داری مهار گردید که می‌توان آن را به تولید NO توسط L-کارنیتین نسبت داد. در پژوهش Bueno و همکاران سطح NO در SHR درمان شده با LC و PLC نسبت به SHR درمان نشده افزایش یافت، به طوری که سطح آن به سطحی مشابه با موش‌های صحرائی WKY با فشارخون طبیعی درمان نشده رسید که این نتایج کاملاً همراستا با نتایج مطالعه اخیر می‌باشد. سازوکار احتمالی دخیل در افزایش میزان NO در گروه‌های CT و DT به ترتیب نسبت به دو گروه C و D می‌تواند ناشی از عمل LC به شکل کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش تولید آنیون سوپراکسید و رهایی NO از دام آنیون سوپراکسید یا ناشی از افزایش بیان eNOS توسط LC باشد. LC باتسهیل β -اکسیداسیون اسیدهای چرب و ورود استیل کوآ به چرخه کربس و مصرف مقدار زیادی اکسیژن در این واکنش و در نهایت احیاء اکسیژن به آب در انتهای چرخه، سبب کاهش غلظت اکسیژن و تشکیل گونه‌های واکنشی اکسیژن همچون سوپراکسید می‌گردد [۳۶].

در یک مطالعه درمان با LC در موش‌های صحرائی دیابتی شده با STZ منجر به احیاء بخشی از گشادی وابسته به آندوتلیوم عروق در پاسخ به استیل کولین گردید و وضعیت اکسیدان به آنتی اکسیدان را کاملاً طبیعی ساخت [۴۰]. پیشنهاد شده است که LC بعنوان بدام اندازنده رادیکال آزاد عمل کرده و سلول‌ها را از ROS محافظت می‌نماید [۳۸]. LC قادر است سیستم دفاع آنزیمی‌های آنتی اکسیدانی شامل گلوکوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز را از صدمه بعدی پرکسیداتیو محافظت نماید [۳۶]. بنابراین درمان با LC می‌تواند سبب کاهش رادیکال‌های آزاد، ممانعت از به دام افتادن NO توسط آنیون سوپراکسید و افزایش سطح NO گردد. سازوکار دیگر برای اثر LC در افزایش سطح NO، تأثیرات مثبت LC بر روی بیان NOS در سطح ژن و پروتئین است. در مطالعه‌ای، LC و استرهای کوتاه زنجیر آن در شرایط طبیعی و در حضور استرس اکسیداتیو ناشی از H₂O₂،

بیان eNOS را در سطح ژن و پروتئین در سلول‌های آندوتلیال کشت شده انسانی افزایش دادند [۳۷]، بنابراین می‌توان این طور توجیه نمود که شاید LC در مطالعه اخیر نیز با سازوکار مشابه یعنی افزایش بیان eNOS سبب افزایش سطح NO شده است.

در این بررسی نشان داده شده است که مصرف LC در گروه DT منجر به کاهش فعالیت ACE سرمی نسبت به گروه D گردیده است، بررسی‌های ما نشان داد تأثیرات مثبت LC بر فعالیت ACE سرمی در موش‌های صحرائی دیابتی و نرمال اولین گزارش در نوع خود می‌باشد. کاهش میزان فعالیت ACE پس از درمان با LC در گروه DT نسبت به گروه D را می‌توان با افزایش میزان NO در گروه DT نسبت به گروه D نسبت داد که متعاقباً با اثر تنظیم منفی بر سنتز ACE سبب کاهش فعالیت ACE در گروه دیابتی درمان شده با LC نسبت به گروه دیابتی درمان نشده می‌گردد.

نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر نشان داد که فشار خون سیستمیک موش‌های صحرائی گروه DT نسبت به D کاهش معنی‌داری داشته است، ولی اختلاف معنی‌داری میان فشار خون سیستمیک (SBP) موش‌های صحرائی گروه CT و گروه C مشاهده نگردید. در خصوص این اثر کارنیتین گزارش‌های ضد و نقیضی شامل موافق در SHR [۲۲] و انسان [۲۱] و بدون تأثیر در SHR [۲۴،۳۸،۳۹] موجود می‌باشد. تفاوت‌های این نتایج را می‌توان با تغییرات شرایط تجربی مانند میزان دوز، طول مدت درمان و متابولیسم متفاوت LC و PLC، سن موش‌های صحرائی و حتی روش‌های مختلف سنجش فشارخون، مرتبط دانست [۲۴،۳۸].

سازوکار کاهش فشارخون در مطالعه حاضر می‌تواند در نتیجه افزایش بیان NOS و متعاقباً افزایش تولید NO از طرفی و رهایی NO از دام سوپراکسید با اثرات آنتی اکسیدانی LC در کاهش استرس اکسیداتیو از طرف دیگر باشد.

از جمله محدودیت‌های مطالعه عدم انجام آن در زمان‌های کوتاهتر و یا طولانی‌تر می‌باشد که می‌توانست تصویر بهتری در راستای اهداف مطالعه را میسر سازد. جهت

سازوکارهای دقیق تأثیرات L-کارنیتین نشان می دهد که مصرف L-کارنیتین طی مدت ۱۲ هفته منجر به افزایش میزان نیتریک اکسید، کاهش فعالیت آنزیم مبدل آنژیوتانسین سرمی و کاهش فشارخون در موش های صحرایی مبتلا به دیابت می گردد که این امر ممکن است بتواند در درمان پرفشاری ناشی از دیابت و پیشگیری از بیماری های قلبی - عروقی متعاقب، راه گشا و مؤثر واقع گردد.

بررسی های دقیقتر آینده در زمینه اثر LC بر سازوکارهای تنظیم کننده فشارخون در پرفشاری ناشی از دیابت می توان به بررسی اثرات LC بر پرفشاری ناشی از دیابت در انسان، بررسی اثرات LC بر میزان فعالیت رنین و آلدسترون خون، بررسی اثرات LC در سطح بیان ژن و پروتئین eNOS با استفاده از روش RT-PCR و بررسی اثرات LC بر فشارخون، NO و ACE در دوره های زمانی کمتر و بیشتر از ۱۲ هفته پرداخت.

نتایج این تحقیق صرف نظر از تعیین بعضی از

مآخذ

- Gikas A, Sotiropoulos A, Panagiotakos D, Peppas TH, Skliros E, Pappas S. Prevalence, and associated risk factors, of self – reported diabetes mellitus in a sample of adult urban population in Greece: MEDICAL Exit Poll Research in Salamis (MEDICAL EXPRESS 2002). *BMC Public Health* 2004; 4: 1-9.
- Cheng D. Prevalence, predisposition and prevention of type II diabetes. *Nutrition & Metabolism* 2005; 2: 1-12.
- Duggirala MK, Cuddihy RM, Cuddihy MT, Naessens JM, Cha SS, Mandrekar JN, et al. Predictors of blood pressure control in patients with diabetes and hypertension seen in primary care clinics. *Am J of Hypertension* 2005; 18: 833-8.
- Brands MW, Fitzgerald SM. Blood pressure control early in diabetes: a balance between angiotensinII and nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Phsiol* 2002; 29: 127-31.
- Dia FX, Diederich A, Skopec J, Diederich D. Diabetes-induced endothelial dysfunction in streptozotocin-treated rats: role of prostaglandin endoperoxides and free radicals. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4: 1327-36.
- Dorga G, Rich L, Stanton K, Watts GF. Endothelium – dependent and independent vasodilation studies at normoglycaemia in type 1 diabets mellitus with and without microalbiminuria. *Diabetologia* 2001; 44: 593-601.
- Hink U, Li H, Mollnau H, Oelze M, Matheis E, Hartmann M, et al. Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus. *Circ Res* 2001; 88: E14-22.
- Tesfamariam B. Free radicals in diabetic endothelial cell dysfunction. *Free Radic Biol Med* 1994; 16: 383-91.
- Craven PA, DeRubertis FR, Melhem M. Nitric oxide in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1997; 52: S46-53.
- Pieper GM. Review of alterations in endothelial nitric oxide production in diabetes. *Hypertension* 1998; 31: 1047-60.
- Pflueger AC, Osswald H, Knox FG. Adenosine-induced renal vasoconstriction in diabetes mellitus rats: role of nitric oxide. *AM J Physiol Renal Physiol* 1999; 276: F340-6.
- Tesfamariam B, Jakubowski JA, Cohen RA. Contraction of diabetic rabbit aorta caused by endothelium –derived PGH2-TxA2. *AM J Physiol Heart Circ Physiol* 1989; 257: H1327-33.
- Kiff RJ, Gardiner SM, Compton AM, Bennet T. Selective impairment of hindquarter vasodilator responses to bradykinin secretion. *AM J Phusiol Renal Physiol* 1998; 275: 1357-62.
- Brands MV, Fitzgerald SM. Acute endothelium – mediated vasodilation is not impaired at the onset of diabetes. *Hypertension* 1998; 32: 541-7.
- Ito A, Egashira K, Narishing T, Muramatsu K, Takeshita A. Renin-angiotensin system is involved in the mechanism of increased serum asymmertic dimethylarginine in essential hypertension. *Jpn Circ J* 2001; 65: 775-8.
- Brands MW, Fitzgerald SM, Hewitt WH, Hailman AE. Decreased cardiac output at the onset of diabetes: renal mechanisms and peripheral vasoconstriction. *Am J Physiol* 2000; 278: E917-24.
- Brands MW, Fitzgerald SM. Blood pressure control early in diabetes: a balance between angiotensinII and nitric oxide. *Clin Exp Pharmacol Phsiol* 2002; 29: 127-31.
- Zhou MS, Schulman IH, Raji L. Nitric oxide, angiotensin, and hypertension. *Semin Nephrol* 2004; 24: 366-78.
- Drexler H. Nitric oxide and coronary endothelial dysfunction in humans. *Cardiovascular Research* 1999; 43: 572-9.
- Tammogullari N, Siling Y, Icagasioglu S, Atalay A. Carnitine deficiency in diabetes mellitus complications. *J Diabetes Complications* 1999; 13: 251-3.

21. Digiesi V, Cantini F, Bisi G, Guarino G, Brodbeck B. L-carnitine adjuvant therapy in essential hypertension. *Clin Ter* 1994; 144: 391-5.
22. Rauchova H, Dobesova Z, Drahota Z, Zicha J, Kunes J. The effect of chronic L-carnitine treatment on blood pressure and plasma lipids in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol* 1998; 342: 235-9.
23. Herrera MD, Bueno R, De Sotomayor MA, Perez-Guerrero C, Vazquez CM, Marhuenda E. Endothelium-dependent vasorelaxation induced by L-carnitine in isolated aorta from normotensive and hypertensive rats. *J Pharm Pharmacol* 2002; 54:1423-7.
24. Bueno R, Alvarez de Sotomayor M, Perez-Guerrero C, Gomez-Amores L, Vazquez CM, Herrera MD. L-carnitine and propionyl-L-carnitine improve endothelial dysfunction in spontaneously hypertensive rats: different participation of NO and COX-products. *Life Sciences* 2005; 77: 2082-97.
25. Sharifi AL, Mousavi SH, Larijani B. Study of interaction between nitric oxide and ACE activity in STZ-induced diabetic rats: role of insulin. *Pharmacological Research* 2004; 50: 261-6.
26. Marzinzig M, Nussler AK, Stadler J, Marzinzig E, Barthlen W, Nussler NC, et al. Improved methods to measure end products of nitric oxide in biological fluids: nitrite, nitrate and S-nitrosothiol. *Nitric Oxide* 1997; 1: 177-89.
27. Horiuchi M, Fujimura K, Terashima T, Iso T. Method for determination of angiotensin-converting enzyme activity in blood and tissue by high performance liquid chromatography. *J Chromatogr* 1982; 233: 123-30.
28. Ding Y, Vaszi ND, Coulson R, Kamanna VS, Roh DD. Effects of stimulated hyperglycemia, insulin, and glucagons on endothelial nitric oxide synthase expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 279: E11-7.
29. Bohlen HG, Nase GP. Arteriolar nitric oxide concentration is decreased during hyperglycemia – induced beta II PKC activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280: H621-7.
30. Chakravarthy U, Hayes RG, Stitt AW, McAuley E, Archer DB. Constitutive nitric oxide synthase expression in retinal vascular endothelial cells is suppressed by high glucose and advanced glycation and products. *Diabetes* 1998; 47: 945-52.
31. Ishii N, Patel KP, Lane PH, Taylor T, Bian K, Murad F, et al. Nitric oxide synthesis and oxidative stress in renal cortex of rats with diabetes mellitus. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1630-9.
32. Ceriello A, Mercuri F, Quagliaro L, Assaloni R, Motz E, Tonutti L, et al. Detection of nitrotyrosine in diabetic plasma: evidence of oxidative stress. *Diabetologia* 2001; 44: 834-8.
33. Kimura C, Oike M, Koyama T, Ito Y. Impairment of endothelial nitric oxide production by acute glucose overload. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 280: E171-8.
34. Graier WF, Posch K, Wascher TC, Kostner GM. Role of superoxide anions in changes of endothelial vasoactive response during acute hyperglycemia. *Horm Metab Res* 1997; 29: 622-6.
35. Cosentino F, Hishikawa K, Katusic ZS, Luscher TF. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. *Circulation* 1997; 96: 25-8.
36. Gülçin I. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences* 2006; 78: 803-11.
37. Calò LA, Pagnin E, Davis PA, Semplicini A, Nicolai R, Calvani M, et al. Antioxidants effect of L-carnitine and its short chain esters relevance for the protection from oxidative stress related cardiovascular damage. *Intern J of Cardiol* 2006; 107: 54-60.
38. Gómez-Amores L, Mate A, Revilla E, Santa-Maria C, Vazquez CM. Antioxidant activity of propionyl-L-carnitine in liver and heart of spontaneously hypertensive rats. *Life Sciences* 2006; 78: 1945-52.
39. Mauriello A, Sangiorgi G, Orlandi A, Schiaroli S, Perfumo S, Spagnoli LG. Effect of long-term treatment with propionyl-L-carnitine on smooth muscle cell polyploidy in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension* 1996; 28: 177-82.
40. Irat AM, Aktan F, Ozansoy G. Effects of L-carnitine treatment on oxidant/antioxidant state and vascular reactivity of streptozotocin - diabetic rat aorta. *J Pharm Pharmacol* 2003; 55: 1389-95.