

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^۲، 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 به عنوان مدل دیابتی - آتروسکلروزی استفاده شد. گروه‌های تحت مطالعه عبارت بودند از: گروه‌های کنترل و دیابتی، و گروه‌های کنترل و دیابتی دریافت کننده 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، متیل گلی اوکسال و وزن رت‌ها اندازه‌گیری و بررسی شد.

یافته‌ها: رت‌های دیابتی - آتروسکلروزی نسبت به گروه کنترل افزایش قابل توجهی در میزان قندخون، تری گلیسیرید، کلسترول، LDL، نسبت LDL/HDL به عنوان شاخص آتروژنی، LDL گلیک و اکسیده، گلی اوکسال و متیل گلی 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 به عنوان 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 گلیک 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 آنتی اکسیدانت، نقش مهمی را در پیدایش اختلالات دیابت بازی می‌کند [۶]. گلوتاتیون (GSH) فراوان‌ترین تیول با وزن مولکولی کم است و در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانت 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 روندگلیک‌شدن 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 گلیک هستند و چندین برابر گلوکز قدرت گلیک‌کردن 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 گلیک 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 گلیک‌شدن LDL شده و از این طریق قابلیت اکسید شوندگی آن را می‌افزایند. ویژگی پیش‌آتروژنی LDL اکسیده با گلیک شدن آن افزایش می‌یابد [۱۱]. مطالعات بسیاری جهت بررسی و شناخت مواد شیمیایی مختلف جهت مهار روند گلیک‌شدن 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 گلیک‌کننده 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، گلیک 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 به عنوان 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 کلروفرم و متانول (۹:۱) لیپیدهای LDL استخراج شد. سپس با عبور گاز نیتروژن، کلروفرم و متانول تبخیر شد و ذرات باقی‌مانده در یک میلی لیتر سیکلوهاگزان حل شد. جذب نمونه‌ها در مقابل سیکلوهاگزان به عنوان شاهد، در ۲۳۴ نانومتر خوانده شد و با استفاده از جذب مولی دی‌ان‌کونجوگه ($M^{-1} \times 10^4 \times 2/95$) 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 میلی گرم 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 میلی گرم بر دسی لیتر داشتند، به عنوان مدل دیابتی پذیرفته شد (تمامی رت‌های تحت تزریق، همین حالت را داشتند). موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی به ترتیب ذیل تقسیم شدند. گروه کنترل و دیابتی و گروه کنترل و دیابتی در یافت 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 به منظور 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 به میزان ۰/۰۵ درصد در آب خوراکی دریافت کردند.

جمع‌آوری نمونه خون

رت‌ها بعد از ۱۶ ساعت ناشتایی، به وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلوزین (۹۰ و ۱۰ میلی گرم 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، تری گلیسرید، کلسترول و HDL به روش آنزیمی با کیت‌های شرکت پارس آزمون به وسیله

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 به وسیله بافر فسفات-سالین به نسبت ۱ به ۵، کلرامین T (۱۰۰-۰) میکرومول بر لیتر به عنوان استاندارد و بافر فسفات سالین (به عنوان شاهد) ۱۰ میکرولیتر یدورپتاسیم ۱۱۶۰ میلی مول 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 به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار ($\text{mean} \pm \text{SD}$) ارائه شد. برای تحلیل داده‌ها از "آزمون تحلیل

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، گلی اوکسال و متیل گلی اوکسال 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 ($P < 0.001$).

جدول ۱- اثر سیستمین بر سطح قندخون ناشتا، LDL گلیکیم، گلی اوکسال و متیل گلی اوکسال در گروه‌های کنترل و دیابتی آتروسکلروزی

گروه	قند ناشتا	LDL گلیکیم	گلی اوکسال	متیل گلی اوکسال
	میلی گرم بر لیتر		میکرومول بر لیتر	
کنترل	$85/5 \pm 5/9^{\#}$	$43/2 \pm 1/8^{\#}$	$16/3 \pm 0/7^{\#}$	$13/8 \pm 0/5^{\#}$
کنترل + سیستمین	$77/2 \pm 3/4^{**\#}$	$35/8 \pm 1/4^{\#}$	$14/1 \pm 0/6^{\#}$	$12/4 \pm 0/4^{\#}$
دیابتی	$238/2 \pm 6/7^{**}$	$103/2 \pm 4/2^{**}$	$47/4 \pm 1/9^{**}$	$50/5 \pm 2/1^{**}$
دیابتی + سیستمین	$165/8 \pm 3/5^{**\#}$	$69/9 \pm 3/7^{**\#}$	$28/5 \pm 1/2^{**\#}$	$24/3 \pm 1^{**\#}$

^{**} 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

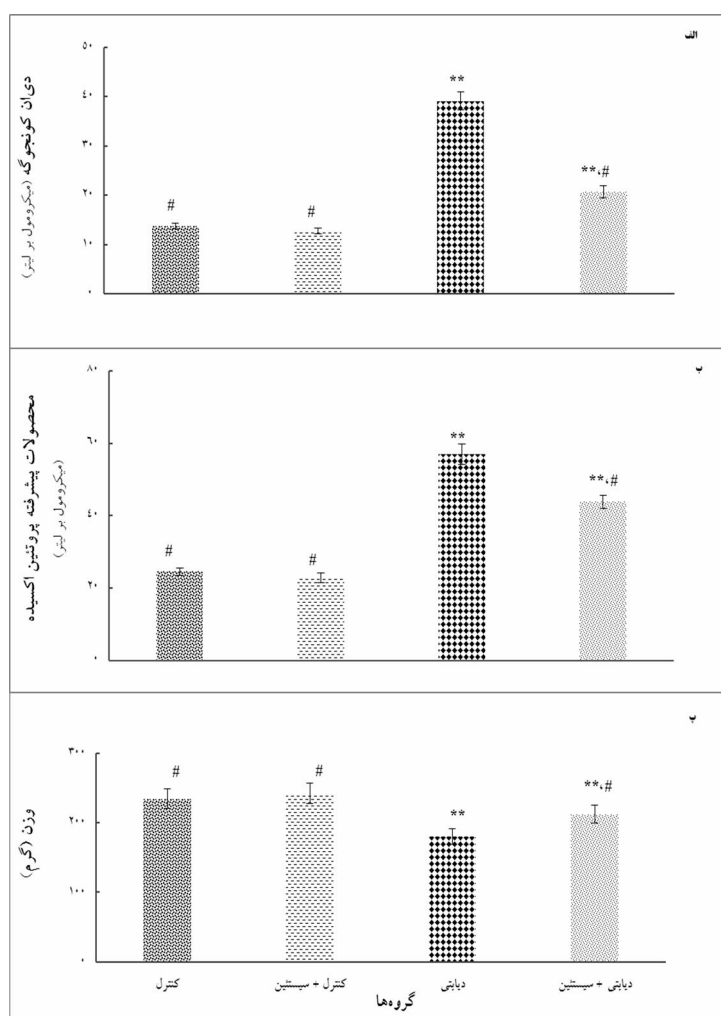
جدول ۲- مقایسه سطح پروفایل لیپیدی (تری گلیسری، کلسترول، HDL و LDL) و شاخص آتروژنی (LDL/HDL) در تمام گروه‌های کنترل و دیابتی - آتروسکلروزی بعد از یک ماه دریافت سیستین.

گروه	تری گلیسرید	کلسترول	HDL	LDL	شاخص آتروژنی
میلی گرم بر دسی لیتر					
کنترل	$72/8 \pm 2/8^{\#}$	$80/6 \pm 2/6^{\#}$	$50/1 \pm 2/2^{\#}$	$15/9 \pm 0/5^{\#}$	$0/3 \pm 0/1^{\#}$
کنترل + سیستین	$73/5 \pm 3/6^{\#}$	$68/5 \pm 4/2^{**\#}$	$41/2 \pm 1/9^{\#}$	$12/3 \pm 0/5^{\#}$	$0/29 \pm 0/01^{\#}$
دیابتی	$176/5 \pm 4/6^{**}$	$188/5 \pm 5/4^{**}$	$31/3 \pm 1/1^{**}$	$121/9 \pm 5/2^{**}$	$4 \pm 0/15^{**}$
دیابتی + سیستین	$121/7 \pm 3/8^{**\#}$	$155/1 \pm 6/1^{**\#}$	$34/9 \pm 1/6^{**\#}$	$95/8 \pm 4/3^{**\#}$	$2/7 \pm 0/1^{**\#}$

* $P < 0/05$ و ** $P < 0/001$ نمایانگر تفاوت معنی دار بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها

$P < 0/001$: 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 کونجوج، محصولات پیشرفته پروتئین اکسید 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 ($P < 0/001$)؛ # نمایانگر تفاوت معنی دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها ($P < 0/001$)

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

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

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 به ترتیب 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 دی کربونیل، 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 گاوژ استرس‌زا است [۲۳]، مشابه سایر مطالعات انجام شده در آزمایشگاه ما (۱۵، ۱۴) 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 اسیدآمینه سیستمین، در مدل رت دیابتی چاق Zucker (ZDF) نیز گزارش شده است [۲۴]. این اسید آمینه، به واسطه 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 نروبلاستومای 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

مطالعه محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده (AOPP) به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی - آتروسکلروزی نسبت به گروه بدون تیمار کاهش یافت (شکل ۱- ب). اثر کاهنده این اسید آمینه بر میزان مالون‌دی‌آلدئید به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در رت ZDF گزارش شده است [۲۴]. کاهش قند در رت‌های دیابتی توسط اسیدآمینه‌های لیزین [۱۴] و گلیسین [۱۵] قبلاً توسط گروه تحقیقاتی ما گزارش شده است. براساس نتایج مطالعه حاضر، سیستمین در دوز کمتری نسبت به اسیدآمینه‌های ذکر شده، دارای قابلیت بهتری در بهبود وضعیت قندخون بود، که این از مزیت‌های استفاده از این اسیدآمینه 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 صحرایی تحت تیمار به‌طور معنی‌داری کمتر از رت‌های دیابتی - آتروسکلروزی بدون تیمار بود (جدول ۲). براساس جستجوهای ما در مقالات و وبگاه‌ها، اثرات مفید این اسیدآمینه 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 به وسیله لیزین در رت دیابتی قبلاً توسط آزمایشگاه ما گزارش شده است [۱۴].

در این مطالعه، سیستمین بر روند گلیک و اکسید شدن LDL اثر مهاري نشان داد (جدول یک و شکل ۱- الف). اثر مهاري بر اکسید شدن LDL در شرایط آزمایشگاهی توسط اسیدآمینه‌های سیستمین و هیستیدین قبلاً گزارش شده است [۲۷]. روند گلیک شدن LDL با اکسید شدن آن همراه است. مهار فرآیند گلیک شدن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها، تایید کننده این مطلب است. سیستمین احتمالاً با داشتن قابلیت آنتی‌اکسیدانی 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 مهاري دارد. نقش اساسی گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال در بروز اختلالات دیابت، ثابت شده است.

² Glucose Transporter (GLUT)

آنتی اکسیدانی، به دام انداختن ترکیبات دی کربونیل [۲۸] و به عنوان پیش ساز گلو تاتیون [۸]، به عنوان یک جزء ضروری از سامانه آنزیمی گلی اوکسیلاز که خشی کننده ترکیبات دی کربونیل به ویژه متیل گلی اوکسال است، این نوید را می دهد که در آینده نزدیک به عنوان یک داروی کنترل کننده جهت پیشگیری از عوارض دیابت استفاده گردد.

محدودیت های این مطالعه، مدت کوتاه آن و عدم بررسی اثر سیستم بر سطح انسولین، ترکیبات نهایی پیشرفته گلیک و فعالیت سیستم گلی اوکسیلاز است. این تحقیق جهت بررسی پارامترهای ذکر شده و بررسی سایر اثرات سیستم ادامه دارد. همچنین برای شناسایی بهتر سازوکار اثر سیستم در مهار گلیک شدن پروتئین ها، مطالعات در شرایط برون تنی (*in test tube or in vitro*) ضروری به نظر می رسد.

نتیجه گیری

بر اساس نتایج به دست آمده از این تحقیق، سیستم پس از یک ماه، موجب بهبود وضعیت قند و لیپید، مهار روندهای گلیک و اکسید شدن LDL و کاهش استرس اکسیداتیو در رت های دیابتی - آتروسکلروزی شد.

سپاسگزاری

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

همان طور که ذکر شد، تیمار موش های دیابتی با سیستم اثر کاهندگی بر این ترکیبات نشان داد (جدول ۱). قابلیت به دام اندازی متیل گلی اوکسال به وسیله این اسید آمینه در سلول های کبدی جدا شده از رت، قبلاً گزارش شده است [۲۸]. ترکیبات دی کربونیل از طریق سیستم آنزیمی گلی اوکسیلاز وابسته به گلو تاتیون تجزیه می گردند [۲۵]. از طرفی، سیستم پیش ساز گلو تاتیون نیز هست، و در دیابت میزان سیستم و گلو تاتیون هر دو کاهش می یابد [۸]. بنابراین، تجویز سیستم به بیماران دیابتی نه تنها جهت پیشگیری از استرس اکسیداتیو و ممانعت از تشکیل ترکیبات کربونیل ضروری به نظر می رسد، بلکه برای تامین ماده اولیه لازم برای ساخت گلو تاتیون نیز مورد نیاز است. بر اساس جستجوهای ما در مقالات و وبگاه ها، تاکنون در مورد اثر مهار سیستم بر گلیک و اکسید شدن LDL در مدل دیابتی - آتروسکلروزی گزارشی ارائه نشده است.

این اسید آمینه دارای اثر مفیدی بر جبران کاهش وزن رت های دیابتی بود. به طوری که وزن گروه دیابتی تحت تیمار بیشتر از گروه بدون تیمار بود (شکل ۱- پ). در مطالعه قبلی نقش سیستم بر جبران کاهش وزن رت های ZDF بی اثر بیان شده بود [۲۴]. احتمالاً علت این اختلاف در نتایج، تفاوت در دوز سیستم تجویز شده و نوع مدل دیابتی القاء شده در مطالعه حاضر با مطالعه قبلی است. با توجه به یافته ها، سیستم از طریق اعمال اثرات مفید بر وضعیت قند و لیپید، همچنین به دلیل 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