مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۱، شماره ۱۲۵، آبان۱۳۹۳ http://rjms.tums.ac.ir مقاله پژوهشی

تاثیر تروگزروتین بر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب بافتی ناشی از آسیب ایسکمی-رپرفیوژن در قلب موش دیابتی

فاطمه حیدرزاده: دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. fatemeh.heydarzadeh@ymail.com
*__دکتر رضا بدل زاده__: استادیار فیزیولوژی، مرکزتحقیقات کاربردی دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (*نویسنده مسئول). reza.badalzadeh@gmail.com
دکتر حمیرا حاتمی: استادیار فیزیولوژی، گروه علوم جانوری، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران. homeirahatami@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۲/۹/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱۱/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: دیابت یکی از ریسک فاکتورهای اصلی بیماری ایسکمیک قلبی می باشد. تروگزروتین(TXR) ، یک بیوفلاونوئید طبیعی دارای ویژگی‌های بیولوژیکی آنتی اکسیداتیو و ضدالتهاب می باشد. هدف مطالعه حاضر، بررسی تداخل بیماری دیابت نوع یک با تاثیر محافظتی تروگزروتین بر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب بافتی ناشی از آسیب ایسکمی-رپرفیوژن میوکارد موش صحرایی است.

روش کار: رت‌های نر نژاد ویستار (۳۰۰-۲۵۰گرم) به ۴ گروه کنترل، کنترلTXR+، دیابت و دیابت TXR+ تقسیم شدند. جهت ایجاد دیابت مزمن (۱۰هفته) از روش تزریق داخل صفاقی ۵۰ mg/kg داروی استرپتوزوتوسین به صورت تک دوز استفاده شد. بعد از ۶ هفته دیابتی شدن، گروه های دریافت کننده TRX از طریق گاواژ به مدت ۴ هفته باTXR، ۱۵۰ mg/kg تیمار شدند. قلب رتها ایزوله شده و سریعاً در روی دستگاه لانگندروف، ۳۰دقیقه ایسکمی ناحیه ای و ۶۰دقیقه رپرفیوژن تجربه کردند. سطوح پراکسیداسیون لیپیدی (MDA) از سوپرناتانت بطن چپ و میزان کراتین کیناز (CK) از جریان کرونری با استفاده از کیت های اختصاصی و روش اسپکتوفتومتری اندازه گیری گردید.

یافته ها: استرپتوزوتوسین باعث افزایش قند خون در گروه های دیابتی نسبت به گروه کنترل شد. تروگزروتین توانست قند خون را در گروه دیابتی دریافت کننده TXR کاهش دهد اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود. سطوح MDA در گروه دیابتی ایسکمی-رپرفیوژن شده نسبت به کنترل شدیداًافزایش یافت و TXR توانست سطوح MDA را در گروه دیابتی کاهش دهد ($p<0.05$). دیابت در قلب ایسکمی-رپرفیوژن شده، باعث آزادشدن مقادیر زیادی CK نسبت به گروه کنترل شد. تجویز TXR باعث کاهش سطح این آنزیم در گروه دیابتی شد.

نتیجه گیری: تروگزروتین با جلوگیری از تشدید استرس اکسیداتیو و احتمالاً فعال سازی سیستم دفاعی آنتی اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب بافتی را به ویژه در رتهای دیابتی کاهش داده و می تواند اثرات محافظتی در آسیب قلبی ناشی از ایسکمی و رپرفیوژن داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: تروگزروتین، پراکسیداسیون لیپیدی، ایسکمی، رپرفیوژن، دیابت

مقدمه

بیماری عروق کرونری امروزه یکی از علل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان به ویژه در جوامع صنعتی است. وخیم ترین و اغلب کشنده ترین نتیجه بیماری کرونری ایجاد انفارکتوس حاد میوکارد (Acute Myocardial Infarction) می‌باشد که به دلیل انسداد حاد یکی از شرایین بزرگ کرونری حادث می شود. به دنبال انسداد کرونری، بافت قلبی دچار آسیب ایسکمی شده و آسیب ایسکمیک و انفارکتوس میوکارد ایجاد می‌شود (۱). برقراری مجدد خون یک درمان قطعی برای نجات میوکارد دچار ایسکمی از مرگ حتمی است. بررسی های آزمایشگاهی و کلینیکی نشان می‌دهند که اگرچه رپرفیوژن برای نجات میوکارد ایسکمیک ضروری است اما می‌تواند عوارض جانبی نیز داشته باشد که به آن آسیب رپرفیوژن اطلاق می‌شود (۲).

یکی از مهم‌ترین مکانیسم‌های ایجاد آسیب رپرفیوژن، استرس اکسیداتیو می باشد که عمدتا از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی می‌گردد (۳). لیپیدها به آسیب اکسیداتیو بسیار حساس هستند و پراکسیداسیون لیپیدی یکی از اثرات قابل توجه استرس اکسیداتیو می‌باشد. به دنبال پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده که به طور اساسی در غشاهای سلولی و لیپوپروتئین‌ها قرار دارند، اسیدهای چرب ناپایدار ممکن است به

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]

کربونیل‌ها از جمله مالون دی آلدئید (MDA) تبدیل شوند که پایداری بیشتری دارند، و یکی از شاخص های مورد استفاده در تعیین میزان استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی می‌باشند (۴).

دیابت ملیتوس یکی از ریسک فاکتورهای اصلی بیماری ایسکمی قلبی است. بیش از ۵۰٪ مرگ و میرها در بین جمعیت دیابتیک به دنبال بیماری‌های شریان کرونری می باشد (۵و۶). یکی از شرایطی که در پاتوژنز بیماری دیابت دخیل است افزایش استرس اکسیداتیو و تولید رادیکالهای آزاد است که در نهایت با اختلال در عملکرد میتوکندری باعث آزاد شدن عواملی می شود که منجر به فعال شدن مسیرهای آپوپتوز و در نهایت مرگ سلول می شود (۷).

تروگزروتین که به عنوان ویتامین P4 شناخته شده است، یک مشتق تری هیدروکسی اتیله شده از روتین بیوفلاونوئیدهای طبیعی است. تروگزروتین در چای، قهوه، جوانه حبوبات و میوه‌ها وسبزیجات متنوع وجود دارد (۸و۹). بسیاری از گزارشات نشان داده اند که تروگزروتین دارای فعالیت های بیولوژیکی متنوع نظیر اثرات آنتی اکسیداتیو، ضدالتهاب، آنتی نئوپلاستیک، آنتی اریتروسیتیک، آنتی ترومبوتیک، آنتی فیبرینولیتیک و ضدآسیب DNA است (۱۶-۱۰). علاوه براین، تروگزروتین مدتها برای درمان بعضی بیماری‌های قلبی- عروقی استفاده شده است (۱۱و۱۷). همچنین اثر حفاظت نفرونی تروگزروتین با مکانیسم‌های آنتی اکسیداتیو و ضدالتهاب گزارش شده است (۸).

بنابراین با در نظرگرفتن خواص بیولوژیکی تروگزروتین، هدف مطالعه حاضر بررسی تاثیر تروگزروتین بر پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از آسیب ایسکمی- رپرفیوژن در میوکارد رتهای سالم و دیابتی می باشد.

روش کار

در این مطالعه از رتهای نر با نژاد Wistar در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. نحوه نگهداری حیوانات در حیوانخانه برای تمامی حیوانات یکسان بود. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و درجه حرارت تنظیم شده ۳±۲۵ درجه سانتی گراد و بدون محدودیت در مصرف آب و غذا نگهداری می شدند. ابتدا حیوانات به طور تصادفی به گروههای دیابتی و غیردیابتی تقسیم شدند. جهت ایجاد دیابت از روش تزریق داخل صفاقی 50mg/kg داروی استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) به صورت تک دوز استفاده شد. طبق این روش ۷۲ ساعت پس از تزریق، دیابت در رتها ایجاد شده و جهت تشخیص و تایید دیابت، با ایجاد یک جراحت کوچک توسط لانست در دم حیوانات، یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شده و سپس توسط دستگاه گلوکومتر (Boehringer Mannheim Indianapolis,IN) نوار خوانده شده و قندخون بالای 300 mg/dl، به عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد(۵). در ضمن در رتهایی که استرپتوزوتوسین دریافت کرده بودند، پرادراری و پرنوشی مشهود بود، به همین دلیل حیوانات این گروه ها به صورت سه تایی در هر قفس نگهداری شدند.

رتهای مورد آزمایش به ۴ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل که قبل از جراحی، هیچ مداخله ای دریافت نکردند.

۲. گروه TXR که به مدت ۴ هفته قبل از جراحی، TXR با دوز 150 mg/kg/day به صورت گاواژ دریافت کردند.

۳. گروه دیابتی که ۱۰ هفته قبل از جراحی، توسط استرپتوزوتوسین دیابتی شدند.

۴. گروه دیابتی + TXR که قبل از جراحی، ۱۰ هفته دیابتی بودند و از هفته هفتم تا دهم به مدت ۴ هفته TXR با دوز 150 mg/kg/day به صورت گاواژ دریافت کردند.

القای ایسکمی و رپرفیوژن ناحیه ای در قلب ایزوله: در همه گروه ها، ابتدا حیوانات پس از تزریق 500U هپارین به صورت داخل صفاقی، به وسیله ترکیبی از کتامین (60 mg/kg) و زایلازین (10 mg/kg) بیهوش شدند. پس از بیهوشی کامل و عدم وجود رفلکسهای پلک زدن، قلب آنها تحت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]

جراحی سریعا از بدن جدا شده و به دستگاه قلب ایزوله لانگندروف با فشار ثابت انتقال داده شد. در این حالت، قلب ایزوله از محلول پرفیوژن کربس- هنسلیت با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و گاز کربوژن،(95%O2 5%CO2) مشروب شدند (۱۸). علاوه بر مشاهده فعالیت قلبی در روی دستگاه، اندازه گیری میزان جریان کرونری قلب ها نیز به عنوان شاخصی برای تایید تثبت فعالیت قلبی در نظر گرفته شد. برای ایجاد ایسکمی و انفارکتوس میوکارد، شریان کرونری نزولی قدامی چپ (LAD) توسط نخ سیلک ۴/۰ به مدت ۳۰ دقیقه بسته شد. بعد از ۳۰ دقیقه ایسکمی، ۶۰ دقیقه رپرفیوژن با باز کردن نخ سیلک القا شد. در انتهای هر آزمایش دهلیزها از قلب جدا گردید و قسمتی از بطن چپ پس از قرار گرفتن در نیتروژن مایع برای بررسی شاخص های آسیب قلبی تا زمان مورد نظر در یخچال ۸۰- نگهداری شدند.

اندازه گیری آنزیم کراتین کیناز قلبی (CK-MB): جریان کرونری، ۱۰ دقیقه بعد از شروع رپرفیوژن برای اندازه گیری فعالیت کراتین کیناز جمع آوری شد. فعالیت کراتین کیناز در جریان کرونری به وسیله دستگاه اونوالایزر بیوشیمیایی اتوماتیک با استفاده از کیت اختصاصی طبق دستورالعمل سازنده کیت اندازه گیری شد و در طول موج ۳۴۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفوتومتری خوانده شد و نتایج به صورت U/L گزارش گردید (۲۰).

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدی (MDA): ابتدا وزن معینی از عضله بطن چپ توسط هموژنایزر شیشه ای بر روی یخ هموژنیزه گردید. سپس محلول بدست آمده سانتریفوژ (rpm 10000، به مدت ۱۰ دقیقه، در دمای C°4) گردید. محلول رویی که شامل پروتئین سیتوپلاسمی بود جمع شده و کوکتل مهار کننده پروتئاز (شامل ۱۰۴میلی مول AEBSF، 08/0% میلی مول Aprotinin، 2میلی مول leupepin، 4 میلی مول bestatinbestatin، 5/1 میلی مول pepstatin A و ۱/۴ میلی مول P840 ((E-64، Sigma-Aldrich، St Lois، MO) بر روی آنها اضافه شد و تا زمان استفاده در یخچال C°80- نگهداری گردید. برای اندازه گیری پراکسیداسیون لیپیدی، مقادیر بافتی مالون دی آلدئید (MDA) بر اساس میزان واکنش Thiobarbituric Acid Reaction) TBARS Substances) در بافت های هموژن شده طبق روش Fraga آنالیز گردید (۱۹).

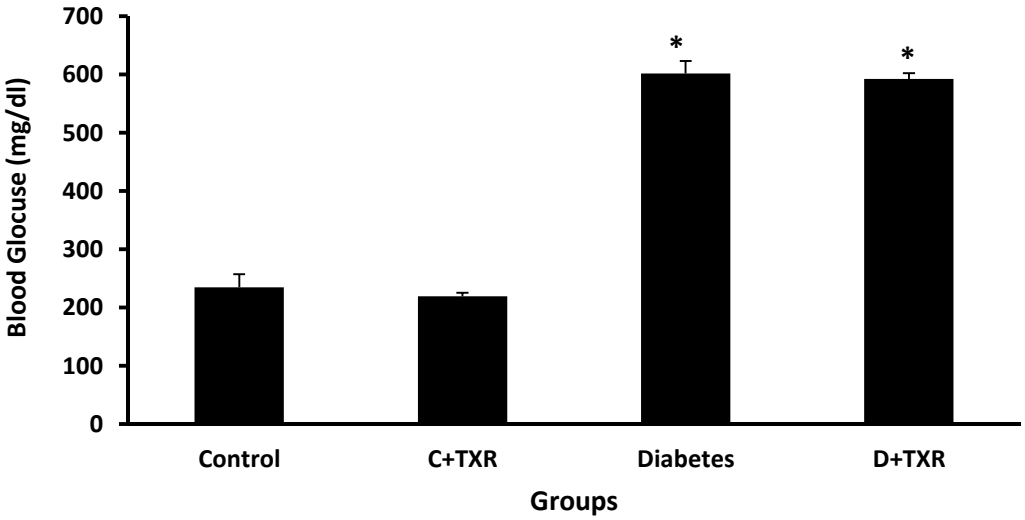
تجزیه و تحلیل آماری: تمامی نتایج حاصل از مطالعه حاضر به صورت میانگین ± انحراف معیار (Mean ±) گزارش شده اند. برای آنالیز نتایج مربوط به تغییرات در بین گروههای مختلف از آنالیز-واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و در صورت معنی دار بودن اختلاف میانگین ها از Tukey به عنوان تست تعقیبی یا Post hoc استفاده شد. سطح معنی داری در کلیه موارد $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد. در نمودارها ، یک ستاره (*) به معنی تغییر معنی دار با گروه کنترل و (#) به معنی تغییر معنی دار در سطح $p<۰/۰۱$ در مقایسه با گروه دیابتی می باشد.

یافته‌ها

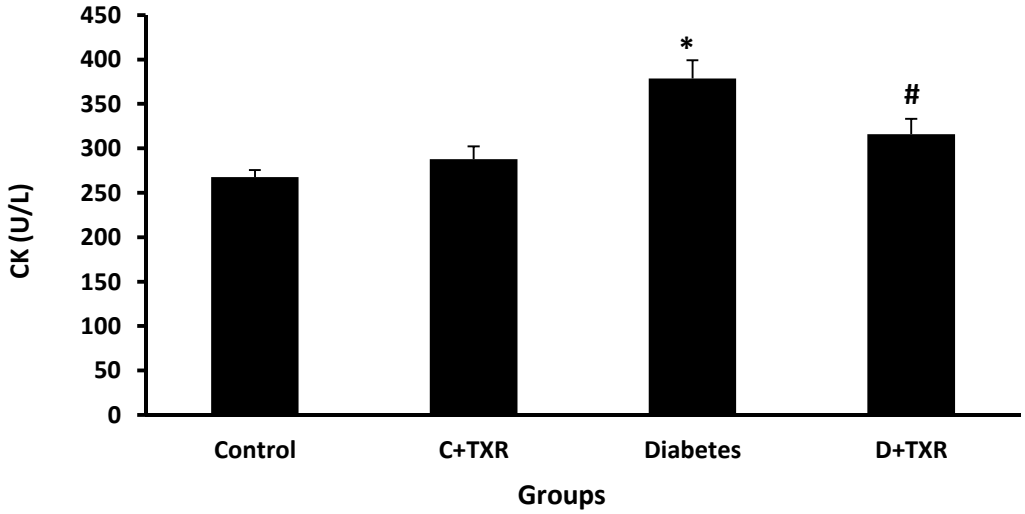
تاثیر تروگزروتین بر سطح گلوکز خون: تجویز استرپتوزوتوسین در رتهای گروه دیابتی باعث شد که سطح گلوکز خون این رتها به طور چشمگیری نسبت به گروه کنترل افزایش یابد (شکل ۱). تجویز تروگزروتین در گروه های کنترل، بر میزان قند خون آنها تاثیری نداشت. از طرف دیگر، تجویز تروگزروتین در گروه های دیابتی نیز اگرچه باعث کاهش سطح قند خون نسبت به رتهایی که تروگزروتین دریافت نکرده بودند، شد اما این کاهش از لحاظ آماری معنی دار نبود (شکل ۱).

تأثیر تروگزروتین بر میزان آزاد شدن کراتین کیناز قلبی (CK-MB): نتیجه حاصل از این مطالعه نشان داد که تروگزروتین بر میزان آزاد شدن CK ناشی از آسیب ایسکمی- رپرفیوژن در قلب های سالم تاثیر معنی داری نداشت اما این ماده تأثیر معنی داری برروی آزاد شدن CK-MB ناشی از آسیب ایسکمی-رپرفیوژن در قلب های رتهای دیابتی داشت (شکل ۲). دیابت باعث آزاد شدن مقادیر زیادی کراتین کیناز نسبت به گروه کنترل شد ($p<0.05$). تجویز تروگزروتین باعث

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]



شکل۱- سطح گلوکز خون در رتهای دیابتی و غیر دیابتی و تاثیر تروگزروتین. داده ها با mean±SEM بیان شده است. (*: P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل. C: کنترل، D: دیابتی، TXR: تروگزروتین).



شکل ۲- فعالیت کراتین کیناز میوکارد در گروه های دیابتی و غیردیابتی. داده ها با mean±SEM بیان شده است. (*: P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل، #: P<0.01 در مقایسه با گروه دیابتی. C: کنترل، D: دیابتی، TXR: تروگزروتین).

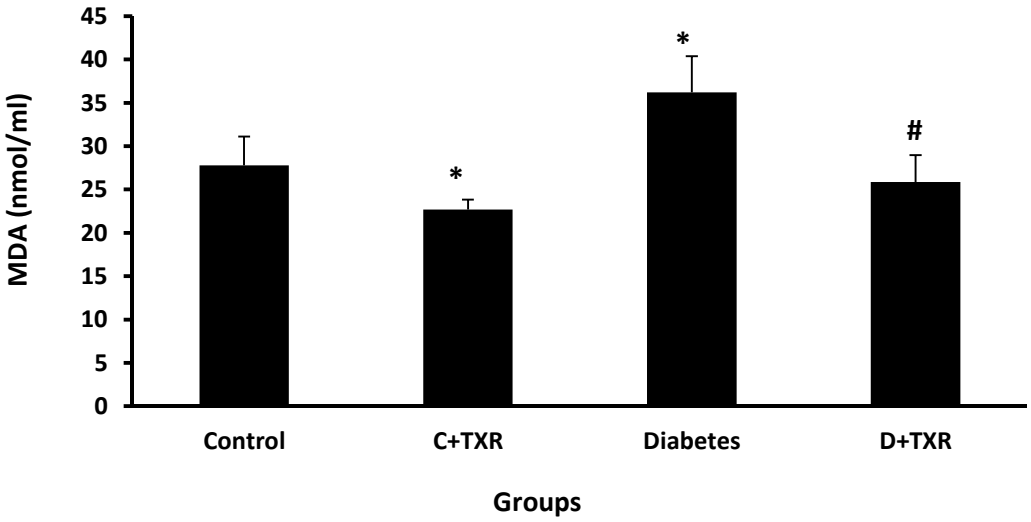
کاهش سطح این آنزیم در گروه دیابتی دریافت کننده دارو گردید (p<0.05).

شاخص پراکسیداسیون لیپیدی: سطح مالون دی آلدئید (MDA): سطح مالون دی آلدیئد به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی اندازه گیری شد. همان طور که در شکل ۳ مشاهده می شود سطح مالون دی آلدئید در گروه دیابتی ناشی از آسیب ایسکمی- رپرفیوژن نسبت به گروه کنترل شدیدا افزایش یافت (p<0.05). پیش درمانی با تروگزروتین توانست سطح مالون دی آلدئید را به طور معنی داری در گروه کنترل دریافت کننده دارو کاهش دهد (p<O.O5). از طرف دیگر، تجویز تروگزروتین سبب کاهش چشمگیر سطح مالون دی آلدئید در گروه دیابتی شده و توانست سطح مالون دی آلدئید در گروه دیابتی را به مقادیر طبیعی گروه کنترل برگرداند (p<0.01).

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، رتهای دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین در طول ۱۰ هفته، با سطح گلوکز

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]



شکل ۳- فعالیت مالون دی آلدئید میوکارد در گرو های دیابتی و غیردیابتی. داده ها با mean±SEM بیان شده است. (*: P<0.05 در مقایسه با گروه کنترل، #: P<0.01 در مقایسه با گروه دیابتی. C: کنترل، D: دیابتی، TXR: تروگزروتین).

خون بیشتر از 300 mg/dl پس از ۳روز القای دیابت، مشخص شدند. تجویز تروگزروتین نتوانست قند خون را در حیوانات دیابتی کاهش دهد. در حیوانات سالم، تجویز تروگزروتین سطح پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داد که با کاهش سطح MDA مشخص شد. سطوح MDA در گروه دیابتی نسبت به کنترل افزایش یافت و تروگزروتین توانست سطوح MDA را در گروه دیابتی کاهش دهد. همچنین دیابت باعث افزایش سطح کراتین کیناز میوکاردی شد که تجویز تروگزروتین باعث کاهش آن فقط در گروه دیابتی شد.

مدت زمان طولانی است که گونه های واکنشی اکسیژن (ROS) شامل آنیون سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال هیدروکسیل، به دلایل زیر به عنوان آغازگر اصلی آسیب میوکارد در طول رپرفیوژن در نظر گرفته می شوند: ۱) اولاً، ROS سریعاً در میوکارد ایسکمیک در طول دقایق اولیه رپرفیوژن تولید می شود (۲۱). ۲) ثانیاً، کاربرد تجربی معادل های ROS باعث آسیب میوکارد مشابه با آسیب ناشی از رپرفیوژن می‌گردد (۲۲). ۳) و نهایتاً، درمان با عوامل آنتی اکسیدانت یا افزایش تولید آنزیم های آنتی اکسیدانت درونی نظیر سوپراکسیددسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در حیوانات، محافظت قلبی علیه آسیب رپرفیوژن را فراهم می کند (۲۵-۲۳). بطور مثال در یک مطالعه‌ای، Ferreira و همکاران نشان دادند که مانیتول (به عنوان یک جاروب کننده‌ی رادیکال هیدروکسیل)، باعث کاهش چشمگیری در پراکسیداسیون لیپیدی شد (۲۶).

تروگزروتین، یک بیوفلاونوئید طبیعی، یک عامل آنتی اکسیدانت محسوب می شود (۸). در مطالعه حاضر، تروگزروتین توانست از افزایش MDA ناشی از دیابت و آسیب ایسکمی-رپرفیوژن به طور چشمگیری جلوگیری نماید. در مطالعه ای همسو با مطالعه ی حاضر، تروگزروتین افزایش مالون دی آلدیئد را در کبد مهار کرد و باعث محافظت کبد از آسیب پراکسیداسیون لیپیدی شد (۲۷). در مطالعه ایی دیگر، تجویز گاواژ تروگزروتین به طور چشمگیری سطح ROS را در کلیه رت های تیمار شده با D-galactose کاهش داد که به توانایی جاروب کنندگی و مهارکنندگی تولید رادیکالهای آزاد تروگزروتین نسبت داده شد (۱۰و۲۸و۲۹). در یک مطالعه ای Liu و همکاران نشان دادند که تروگزروتین می تواند به طور چشمگیری فعالیت NADPHاکسیداز را در کلیه رتهای تیمار شده با D-galactose مهار کند که این اثر نیز به کاهش سطوح ROS در کلیه رتهای مذکور نسبت داده شد (۳۰). همچنین تروگزروتین توانسته است به طور چشمگیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]

در کلیه رت های تیمار شده با D-galactose را افزایش دهد. بنابراین پیشنهاد شد که تروگزروتین توانست استرس اکسیداتیو را حداقل تا حدودی با فعال سازی مجدد آنزیم های آنتی اکسیدانت در کلیه رت های تیمار شده با D-galactose کاهش دهد و باعث اثر حفاظت کلیوی شود (۳۰). همچنین این ماده با کاهش شدید تولید مالون دی آلدئید اثر محافظتی خود را در کلیه رتها اعمال نموده است. در مطالعه ای دیگر، تروگزروتین با کاهش سطوح ROS و پروتئین کربونیل باعث حفاظت عصبی در رتهای تیمار شده با D-galactose شد (۱۴).

یکی از بهترین مکانیسم‌های مشخص شده آسیب رپرفیوژن، استرس اکسیداتیو می‌باشد که ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. سلول‌هایی که با گونه‌های واکنشی اکسیژن(ROS) مواجه می‌گردند متحمل آسیب اکسیداتیو می‌شوند (۳). ROS نظیر O_2^- و OH^- سبب اکسیداسیون فسفولیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و DNA شده و منجر به آسیب سلولی و نقص عملکردی میوکارد می‌شود (۳۱و۳۲). پراکسیداسیون فسفولیپیدها، ویژگی های غشا را تغییر می دهد که به نوبه خود می تواند کانال‌های یونی، رسپتورها و اعمال آنزیم هایی که با غشا میانکنش می دهد را تحت تاثیر قرار دهد. علاوه بر این، پراکسیداسیون در سارکولما اعمال Ca^{2+}-pump ATPase و Na^+-K^+ ATPase را تحت تاثیر قرار می دهد که نتیجتاً اعمال سلول دستخوش تغییرات خواهد شد (۳۳).

همچنین اثبات شده است که دیابت ملیتوس، آسیب القا شده با رپرفیوژن را با اختلالات متعدد ی افزایش می دهد که منجر به نقص عملکردی اندوتلیالی میوکارد و تغییر در حساسیت ROS می شود (۳۴). میوسیت ها دارای مکانیسم های آنتی اکسیدانت درونزاد می باشند که ROS را خنثی می کند اما بعد از رپرفیوژن، بسیاری از مولکول های جاروب کننده شسته می شوند (۳). در مطالعه ی حاضر، میزان آزاد شدن کراتین کیناز به عنوان شاخصی برای تمامیت غشایی و آسیب سلولی به کار برده شد، برای اینکه وقتی غشاهای سلولی از بین می روند این آنزیم ها به فضای بین سلولی آزاد می شوند. بنابراین میزان آزاد شدن آنها بیانگر میزان آسیب سلولی است. از آنجایی که تاکنون تحقیقی بر روی اثرات محافظتی تروگزروتین بر روی مارکرهای آسیب بافتی صورت نگرفته است امکان مقایسه ی نتایج این بررسی با کارهای سایرین وجود ندارد. ما در این مطالعه، تاثیر تروگزروتین را بر روی مارکر آسیب بافتی (کراتین کیناز) بررسی کردیم و طبق شکل ۲، نتایج حاکی از اثر محافظتی تروگزروتین به ویژه در قلب های دیابتی نسبت به قلب های غیردیابتی می باشد.این تاثیر محافظتی ممکن است به توانایی این بیوفلاونوئید در پاکسازی و مهار تولید رادیکال های آزاد نسبت داده شود. بنابراین استراتژی استفاده از آنتی اکسیدانت های گیاهی نظیر تروگزروتین در جهت کاستن از آسیب ایسکمی رپرفیوژن میوکارد منطقی به نظر می رسد. پس با در نظر گرفتن خاصیت آنتی اکسیدانتی تروگزروتین، به نظر می رسد که بیوفلاونوئید مذکور، با کاهش استرس اکسیداتیو و احتمالاً تقویت سیستم دفاعی آنتی اکسیدانتی، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب بافتی را به ویژه در رتهای دیابتی که در آنها نیز شرایط استرس اکسیداتیو مضاعف حاکم است، کاهش داده و در نتیجه آسیب ایسکمی-رپرفیوژن را در آنها کم کند.

به طور خلاصه، پیش درمانی با تروگزروتین می تواند اثرات محافظتی در آسیب قلبی ناشی از ایسکمی و رپرفیوژن داشته باشد و از تشدید پراکسیداسیون لیپیدی جلوگیری نماید. این اثرات تروگزروتین در شرایط دیابتی قوی‌تر و چشمگیرتر از شرایط کنترل می‌باشد. براین مبنا، یکی از کاربردهای یافته‌های حاصل از این پژوهش، پیشنهاد الزام بررسی های بالینی در افراد دیابتی مبتلا به انفارکتوس میوکارد است که می تواند در پیشگیری از آسیب ایسکمی- رپرفیوژن قلبی، مهم و موثر باشد.

عدم امکان بررسی تاثیر تروگزروتین بر تغییرات مسیر سیگنالینگ در شرایط دیابتی از محدودیت‌های این مطالعه به شمار می‌آید و در

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]

ادامه مطالعه حاضر، بررسی تغییرات مسیر سیگنالینگ در شرایط دیابتی پیشنهاد می‌گردد.

منابع

1. Ferdinandy P, Schulz R, Baxter G. Interaction of cardiovascular risk factors with myocardial ischemia/reperfusion injury, preconditioning, and postconditioning. Pharmacological Reviews; 2007. 59: 418-458.
2. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. New England Journal of Medicine; 2007. 357(11): 1121-1135.
3. Lefer DJ, Granger DN. Oxidative stress and cardiac disease. The American journal of medicine; 2000. 109(4): 315-323.
4. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. Chemistry and physics of lipids; 1987. 45(2): 337-351.
5. Ebel D, Toma O, Appler S, Baumann K, Fräßdorf J, Preckel B, Weber NC. Ischemic preconditioning phosphorylates mitogen-activated kinases and heat shock protein 27 in the diabetic rat heart. Hormone and Metabolic Research; 2009. 41(01): 10-15.
6. Tsang A, Hausenloy DJ, Mocanu MM, Carr RD, Yellon DM. Preconditioning the Diabetic Heart The Importance of Akt Phosphorylation. Diabetes; 2005. 54(8): 2360-2364.
7. Friederich M, Hansell P, Palm F. Diabetes, oxidative stress, nitric oxide and mitochondria function. Current diabetes reviews; 2009. 5(2): 120-144.
8. Fan SH, Zhang ZF, Zheng YL, Lu J, Wu DM, Shan Q, Wang YY. Troxerutin protects the mouse kidney from d-galactose-caused injury through anti-inflammation and anti-oxidation. International immunopharmacology; 2009. 9(1): 91-96.
9. Yang X, Wang F, Hu S. The electrochemical oxidation of troxerutin and its sensitive determination in pharmaceutical dosage forms at PVP modified carbon paste electrode. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces; 2006. 52(1): 8-13.
10. Blasig IE, Loewe H, Ebert B. Effect of troxerutin and methionine on spin trapping of free oxy-radicals. Biomedica biochimica acta; 1988. 47: S252-5.
11. Boisseau MR, Taccoen A, Garreau C, Vergnes C, Roudaut MF, Garreau-Gomez B. Fibrinolysis and hemorheology in chronic venous insufficiency: a double blind study of troxerutin efficiency. The Journal of cardiovascular surgery; 1995: 364- 369.
12. Kessler M, Ubeaud G, Walter T, Sturm F, Jung L. Free radical scavenging and skin penetration of troxerutin and vitamin derivatives. Journal of dermatological treatment; 2002. 13(3): 133-141.
13. Maurya DK, Salvi VP, Nair CKK. Radioprotection of normal tissues in tumor-bearing mice by troxerutin. Journal of radiation research; 2004. 45(2): 221-228.
14. Lu J, Wu DM, Hu B, Cheng W, Zheng YL, Zhang ZF, Wang YJ. Chronic administration of troxerutin protects mouse brain against d-galactose-induced impairment of cholinergic system. Neurobiology of learning and memory; 2010. 93(2): 157-164.
15. Zhang ZF, Fan SH, Zheng YL, Lu J, Wu DM, Shan Q, Hu B. Troxerutin protects the mouse liver against oxidative stress-mediated injury induced by d-galactose. Journal of agricultural and food chemistry; 2009. 57(17): 7731-7736.
16. Sarkar A, Biswas N, Kapoor S, Mahal HS, Nair CKK, Mukherjee T. One-electron redox reactions of troxerutin in aqueous solutions. Research on chemical intermediates; 2005. 31(9): 857-866.
17. Gohel MS, Davies AH. Pharmacological agents in the treatment of venous disease: an update of the available evidence. Current Vascular Pharmacology; 2009. 7(3): 303-308.
18. Fang NX, Yao YT, Shi CX, Li LH. Attenuation of ischemia–reperfusion injury by sevoflurane postconditioning involves protein kinase B and glycogen synthase kinase 3 beta activation in isolated rat hearts. Molecular biology reports; 2010. 37(8): 3763-3769.
19. Fraga CG, Leibovitz BE, Tappel AL. Lipid peroxidation measured as thiobarbituric acid-reactive substances in tissue slices: characterization and comparison with homogenates and microsomes. Free Radical Biology and Medicine; 1988. 4(3): 155-161.
20. Yao YT, Fang NX, Shi CX Li L. H. Sevoflurane postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury. Chin Med J (Engl); 2010. 123(10): 1320-8.
21. Duilio C, Ambrosio G, Kuppusamy P, DiPaula A, Becker LC, Zweier JL. Neutrophils are primary source of O2radicals during reperfusion after prolonged myocardial ischemia. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology; 2001. 280(6): H2649-H2657.
22. Rothstein EC, Byron KL, Reed RE, Fliegel L, Lucchesi PA. H2O2-induced Ca2+ overload in NRVM involves ERK1/2 MAP kinases: role for an NHE-1-dependent pathway. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology; 2002. 283(2): H598-H605.
23. Qin F, Shite J, Liang CS. Antioxidants attenuate myocyte apoptosis and improve cardiac function in CHF: association with changes in MAPK pathways. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology; 2003. 285(2): H822-H832.
24. Suzuki K, Murtuza B, Sammut IA, Latif N,

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]

Jayakumar J, Smolenski RT, Yacoub M H. Heat shock protein 72 enhances manganese superoxide dismutase activity during myocardial ischemia-reperfusion injury, associated with mitochondrial protection and apoptosis reduction. Circulation; 2002. 106:1270-1276.

25. Peng X, Li Y. Induction of cellular glutathione-linked enzymes and catalase by the unique chemoprotective agent, 3H-1, 2-dithiole-3-thione in rat cardiomyocytes affords protection against oxidative cell injury. Pharmacological research, 45(6), 491-497.

26. Ferreira R, Burgos M, Llesuy S, Molteni L, Milei J, Flecha BG, Boveris, A. Reduction of reperfusion injury with mannitol cardioplegia. The Annals of thoracic surgery; 1989. 48(1): 77-83.

27. Adam BS, Pentz R, Siegers CP, Strubelt O, Tegtmeier, M. Troxerutin protects the isolated perfused rat liver from a possible lipid peroxidation by coumarin. Phytomedicine; 2005. 12(1): 52-61.

28. Lu J, Zheng YL, Wu DM, Luo L, Sun DX, Shan Q. Ursolic acid ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative damage in the brain of senescent mice induced by D-galactose. Biochemical pharmacology; 2007. 74(7): 1078-1090.

29. Lu J, Wu DM, Zheng YL, Hu B, Zhang ZF, Ye Q, Wang, YJ. Ursolic acid attenuates d-galactose-induced inflammatory response in mouse prefrontal cortex through inhibiting AGEs/ RAGE/NF-κB pathway activation. Cerebral Cortex; 2010. 20(11): 2540-2548.

30. Liu CM, Ma JQ, Lou Y. Chronic administration of troxerutin protects mouse kidney against D-galactose-induced oxidative DNA damage. Food and Chemical Toxicolog; 2010. 48(10): 2809-2817.

31. Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, Utsumi H, Kang D, Hattori N, Takeshita A. Mitochondrial electron transport complex I is a potential source of oxygen free radicals in the failing myocardium. Circulation Research; 1999. 85(4): 357-363.

32. Ide T, Tsutsui H, Kinugawa S, Suematsu N, Hayashidani S, Ichikawa K, Takeshita A. Direct evidence for increased hydroxyl radicals originating from superoxide in the failing myocardium. Circulation research; 2000. 86(2): 152-157.

33. Dhalla NS, Elmoselhi AB, Hata T, Makino N. Status of myocardial antioxidants in ischemia–reperfusion injury. Cardiovascular Research; 2000. 47(3): 446-456.

34. Galiñanes M, Fowler AG. Role of clinical pathologies in myocardial injury following ischaemia and reperfusion. Cardiovascular research; 2004.61(3):512-521.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]

Original Article http://rjms.tums.ac.ir

The effect of troxerutin on lipid peroxidation and tissue injury induced by myocardial ischemia reperfusion injury in diabetic rat

Fatemeh Heidarzadeh, Faculty of Natural Science, Tabriz University, Tabriz, Iran. fatemeh.heydarzadeh@ymail.com
***Reza Badalzadeh**, Drug Applied Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran (*Corresponding author). reza.badalzadeh@gmail.com
Homeira Hatami, Faculty of Natural Science, Tabriz University, Tabriz, Iran. homeirahatami@yahoo.com

Abstract

Background: Diabetes is a main risk factor of ischemic heart disease. Troxerutin, a natural bioflavonoid rutin, has many biologic properties, such anti-oxidative and anti-inflammatory effects. The purpose of this study was to investigate the interaction of diabetes with the protective effect of troxerutin on lipid peroxidation and tissue injury induced by myocardial ischemia reperfusion injury in rats.
Methods: Male Wistar rats (250-300 g) were divided into 4 groups: control, control+ drug, diabetic and diabetic+drug. Diabetes was induced by single injection of streptozotocin (50 mg/kg; intraperitoneally) and the diabetic period was 10 weeks. After 6 weeks of diabetes, treatment groups were received 150 mg/kg/day troxerutin in distilled water by oral gavage for 4 weeks. The hearts were removed quickly, mounted on Langendorff apparatus, and then subjected to 30-minutes regional ischemia followed by 60-minutes reperfusion. The levels of lipd peroxidation (MDA) of left ventricular supernatant and level of creatine kinase (CK) release in coronary flow were measured by spectrophotometric method using special kits.
Results: STZ increased blood glucose in the diabetic group than in the control group. Troxerutin could reduce blood glucose in diabetic group, but this reduction was not statistically significant. MDA levels were increased in diabetic rats compared to control ones and troxerutin treatment could reduce MDA levels in diabetic group ($p<0.05$). Diabetes causes release of large amounts of CK compared to the control group. TXR administration reduces the level of this enzyme in the diabetic group.
Conclusion: Troxerutin reduced lipid peroxidation and tissue injury probably by preventing oxidative stress and activation antioxidative system especially in diabetic rats and can have the protective effects on damage induced by myocardial ischemia and reperfusion.

Keywords: Troxerutin, Lipd peroxidation, Ischemia, Reperfusion, Diabetes

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-07-19]