مجله دیابت و متابولیسم ایران. فروردین- اردیبهشت ۱۳۹۳؛ دوره ۱۳ (شماره۴)۲۸۶-۲۷۹

اثر یک ماه تیمار با سیستئین بر وضعیت قند و لیپید، همچنین گلیکه و اکسید شدن LDL در رت مدل دیابتی ــ آتروسکلروزی

صفدر مهدوی فرد[۱]، سیده زهرا بطحائی[۱*]، منوچهر نخجوانی[۲]، بتول اعتمادی‌کیا[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 سیستئین بر وضعیت قندخون، پروفایل لیپیدی، شاخص آتروژنی، استرس اکسیداتیو، گلیکه و اکسید شدنLDL در رت مدل دیابتی ـ آتروسکلروزی است.

روش‌ها: از رت دیابتی شده با استرپتوزوتوسین تحت رژیم غذایی آتروژنی به‌عنوان مدل دیابتی ـ آتروسکلروزی استفاده شد. گروه‌های تحت مطالعه عبارت بودند از: گروه‌های کنترل و دیابتی، و گروه‌های کنترل و دیابتی دریافت کننده سیستئین که به مدت یک ماه تحت تیمار با اسیدآمینه سیستئین (۰/۰۵ درصد در آب خوری) قرارگرفتند. بعد از یک ماه قندخون ناشتا، پروفایل لیپیدی، LDL گلیکه و اکسیده، محصولات پیشرفته اکسیدشدن پروتئینی، گلی‌اوگسال، متیل‌گلی‌اوکسال و وزن رت‌ها اندازه‌گیری و بررسی شد.

یافته‌ها: رت‌های دیابتی ـ آتروسکلروزی نسبت به گروه کنترل افزایش قابل‌توجهی در میزان قندخون، تری‌گلسیرید، کلسترول، LDL، نسبت LDL/HDL به‌عنوان شاخص آتروژنی، LDL گلیکه و اکسیده، گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال، همچنین پروتئین اکسیده داشتند. پارامترهای ذکر شده در گروه دیابتی ـ آترواسکلروزی تحت تیمار با سیستئین نسبت به گروه بدون تیمار ($P < 0.001$) کاهش قابل توجهی نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری: سیستئین با توجه به بهبود وضعیت قند ولیپید، مهار روندهای گلیکه و اکسیدشدن LDL و کاهش استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی ـ آتروسکلروزی می‌تواند به‌عنوان یک دارو جهت پیشگیری از اختلالات دیابت پیشنهاد شود.

واژگان کلیدی: دیابت، آتروسکلروز، سیستئین، استرپتوزوتوسین، LDL گلیکه، 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- ۱٤۱۱۵، تهران، ایران. پست الکترونیک: Bathai_z@modares.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۲/۰۳ **تاریخ درخواست اصلاح: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸** **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۲۴**

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 ٤ 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 گلیکه 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[٤]. شاخص اکسیدشدن این لیپوپروتئین، مقدار دی‌ان کونجوگه است [۵].

افزایش قندخون با تولید انبوه رادیکال‌های آزاد گونه اکسیژن[1] (ROS) همراه می‌شود. افزایش تولید ROS همراه با اختلال در سیستم دفاعی آنتی اکسیدانت، نقش مهمی را در پیدایش اختلالات دیابت بازی می‌کند [٦]. 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 سیستئین 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 باپروتئین‌ها یا روندگلیکه‌شدن 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 گلیکه هستند و چندین برابر گلوکز قدرت گلیکه‌کردن پروتئین‌ها را داشته و در ایجاد اختلالات دیابت نقش مهمی دارند [۹]. این ترکیبات همچنین از طریق تولید محصولات نهایی گلیکه 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 گلیکه‌شدن LDL شده و از این طریق قابلیت اکسید شوندگی آن را می‌افزایند. ویژگی پیش‌آتروژنی LDL اکسیده با گلیکه شدن آن افزایش می‌یابد [۱۱] . مطالعات بسیاری جهت بررسی و شناخت مواد شیمیایی مختلف جهت مهار روند گلیکه‌شدن 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 [١٤] و گلیسین [۱۵] در رت دیابتی مطالعه شده است. با توجه به ویژگی سیستئین در به دام اندازی ترکیبات دی‌کربونیل که مواد گلیکه 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، سیستئین 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 سیستئین در دیابت توأم با آتروسکروز، از طریق بررسی وضعیت قند خون، پروفایل لیپیدی، گلی‌اوکسال، متیل‌گلی‌اوکسال، گلیکه 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 دمای کنترل شده،

[1] Reactive Oxygen Species (ROS)

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 ٤٥ 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 ٤ گروه ۱۰ تایی به ترتیب ذیل تقسیم شدند. گروه کنترل و دیابتی و گروه کنترل و دیابتی دریافت کننده سیستئین به ترتیب (کنترل + سیستئین) و (دیابتی + سیستئین). 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 [١٦] 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، به‌مدت یک ماه، سیستئین به‌میزان ۰/۰۵ درصد در آب خوراکی دریافت کردند.

جمع‌آوری نمونه خون

رت‌ها بعد از ١٦ ساعت ناشتایی، به‌وسیله 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، تری گلیسرید، کلسترول و HDL به روش آنزیمی با کیت‌های شرکت پارس آزمون به‌وسیله اتوآنالیزور اسپکترا-۲ سنجش شد. میزان LDL به‌وسیله معادله فریدوال [١٤] و شاخص آتروژنی از طریق تقسیم میزان LDL بر HDL محاسبه شد [۱۸].

سنجش گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال

این ترکیب‌ها با روش HPLC فاز معکوس و قرائت جذب در طول موج ٣٦٠ نانومتر اندازه‌گیری شد [۱۹]. فاز متحرک، بافر فسفات + استونیتریل + بوتانول (با نسبت ۸:۳۲:٦٠) و روش ایزوگرادیانت بود. جهت سنجش از دستگاه HPLC شرکت KNAUER (آلمان) استفاده گردید.

سنجش LDL- گلیکه

میزان LDL گلیکه به‌وسیله آزمون تیوباربیتوریک اسید تعیین گردید [۲۰]. ابتدا LDL به‌وسیله 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، تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد به نمونه‌ها افزوده و سانتریفوژ شد. مایع رویی جدا و به آن تیوباربیتوریک اسید افزوده و تشکیل ماده ٥- هیدوکسی‌متیل‌فورفورال با قرائت جذب نمونه‌ها در ٤٣٠ نانومتر بررسی شد. جهت محاسبه غلظت LDL-گلیکه در نمونه‌ها از منحنی استاندارد ٥- هیدوکسی متیل فورفورال استفاده گردید.

سنجش دی‌ان‌کونجوگه به‌عنوان شاخص LDL اکسیده

غلظت دی‌ان‌کونجوگه از طریق خواندن جذب نمونه‌ها در ٢٣٤ نانومتر تعیین شد [٥]. جهت سنجش دی‌ان‌کونجوگه یا شاخص اکسید شدن LDL، ابتدا به‌وسیله 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 سیکلوهگزان حل شد. جذب نمونه‌ها در مقابل سیکلوهگزان به‌عنوان شاهد، در ٢٣٤ نانومتر خوانده شد و با استفاده از جذب مولی دی‌ان‌کونجوگه ($۲/۹٥\times۱۰^{٤} M^{-1}$) غلظت آن به‌صورت میکرومول بر لیتر بیان شد.

سنجش محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده (AOPP)

سنجش محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده یا AOPP براساس روش اسپکتوفتومتری در طول موج ۳٤۰ 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 فسقات سالین (به‌عنوان شاهد) ۱۰ میکرولیتر یدورپتاسیم ۱۱٦۰ 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 ± انحراف معیار (±mean SD) ارائه شد. برای تحلیل داده‌ها از "آزمون تحلیل واریانس چندگانه یا چند متغییری" (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 <۰/۰۵ برای تمام سنجش‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج قندخون ناشتا، LDL- گلیکه، 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 سیستئین نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار، میزان این متغیرها پائین‌تر بود (P < ۰/۰۰۱).

جدول ۱- اثر سیستئین بر سطح قندخون ناشتا، LDL گلیکه، گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال در گروه‌های کنترل و دیابتی آتروسکلروزی

گروه	قند ناشتا	LDL گلیکه	گلی‌اوکسال	متیل‌گلی‌اوکسال
	میلی‌گرم بر لیتر		میکرومول بر لیتر	
کنترل	۸۵/۵ ± ۵/۹$^{\#}$	٤۳/۲ ± ۱/۸$^{\#}$	۱٦/۳± ۰/۷$^{\#}$	۱۳/۸ ±۰/۵$^{\#}$
کنترل + سیستئین	۷۷/۲ ± ۳/٤$^{**\#}$	۳۵/۸ ±۱/٤$^{\#}$	۱٤/۱ ± ۰/٦$^{\#}$	۱۲/٤ ± ۰/٤$^{\#}$
دیابتی	۲۳۸/۲ ± ٦/۷**	۱۰۳/۲ ±٤/۲**	٤۷/٤ ±۱/۹**	۵۰/۵ ± ۲/۱**
دیابتی + سیستئین	۱٦۵/۸ ±۳/۵$^{**\#}$	٦۹/۹ ± ۳/۷ $^{**\#}$	۲۸/۵ ±۱/ ۲ $^{**\#}$	۲٤/۳ ± ۱$^{**\#}$

** نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها (P < ۰/۰۰۱)

$^{\#}$ نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها (P < ۰/۰۰۱)

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

در جدول ۲، تغییرات پروفایل لیپیدی و شاخص آتروژنی (LDL/HDL) در گروه‌های کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیستئین 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 تـفاوت معنی‌داری وجود داشت (P < 0.05). در اثر مصرف غذای آتروژن، سطح پروفایل لیپیدی و شاخص آتروژنی در گروه‌های دیابتی ـ آتروسکلروزی از گروه‌های کنترل بالاتر بود. سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و شاخص آتروژنی در رت‌های دیابتی تحت تیمار با سیستئین نسبت به بدون تیمار اختلاف معنی‌داری نشان داد (P < ۰/۰۰۱).

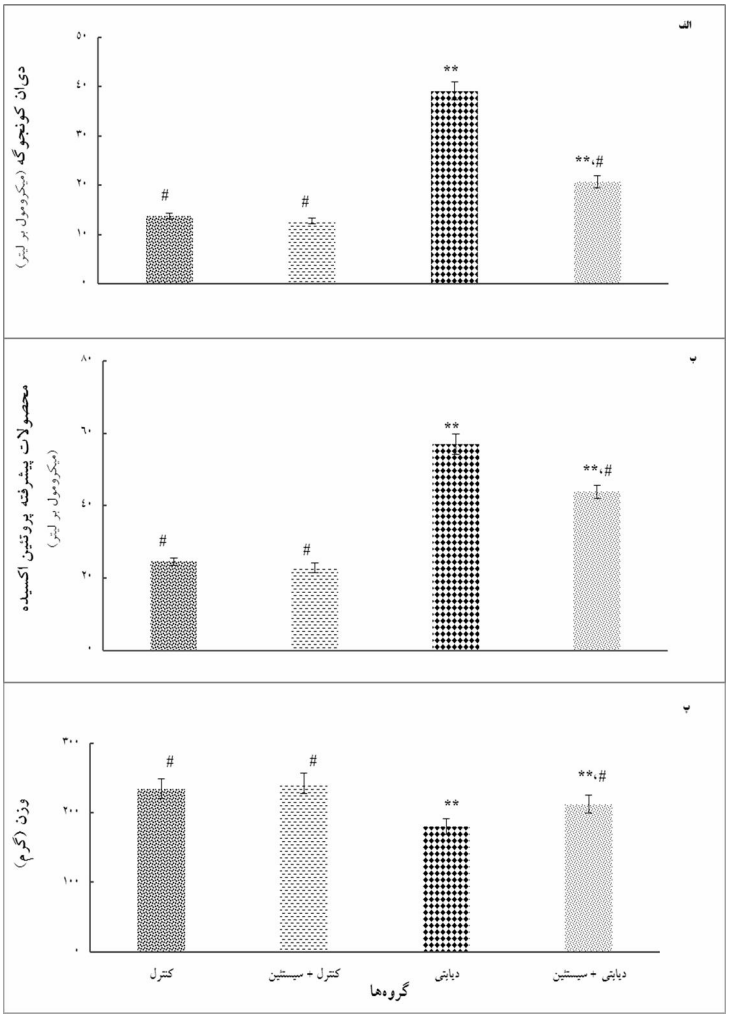
جدول ۲- مقایسه سطح پروفایل لیپیدی (تری گلیسری، کلسترول، HDL و LDL) و شاخص آتروژنی (LDL/HDL) در تمام گروه‌های کنترل و دیابتی ـ آتروسکلروزی بعد از یک ماه دریافت سیستئین.

گروه	تری‌گلیسرید	کلسترول	HDL	LDL	شاخص آتروژنی
	میلی‌گرم بر دسی لیتر				
کنترل	۷۲/۸ ± ۲/۸$^{\#}$	۸۰/٦ ± ۲/٦$^{\#}$	۵۰/۱± ۲/۲$^{\#}$	۱۵/۹ ±۰/۵$^{\#}$	۰/۳± ۰/۰۱$^{\#}$
کنترل + سیستئین	۷۳/۵ ± ۳/٦$^{\#}$	٦۸/۵ ±٤/۲$^{*\#}$	٤۱/۲ ± ۱/۹$^{\#}$	۱۲/۳ ± ۰/۵$^{\#}$	۰/۲۹ ± ۰/۰۱$^{\#}$
دیابتی	۱۷٦/۵ ±٤/٦**	۱۸۸/۵ ±۵/٤**	۳۱/۳ ±۱/۱**	۱۲۱/۹ ± ۵/۲**	٤ ±۰/۱۵**
دیابتی + سیستئین	۱۲۱/۷ ±۳/۸$^{\#**}$	۱۵۵/۱ ± ٦/۱$^{\#**}$	۳٤/۹ ±۱/٦ $^{\#**}$	۹۵/۸ ± ٤/۳ $^{\#**}$	۲/۷ ±۰/۱$^{\#**}$

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

$^{\#}$ P < ۰/۰۰۱: نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها

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



شکل ۱- مقایسه میزان دی‌ان‌کونجوگه، محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده و وزن در بین رت‌های کنترل و دیابتی تحت تیمار سیستئین با دوز ۰/۰۵ درصد در آب خوراکی به‌مدت یک ماه

** نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و سایر گروه‌ها (P < ۰/۰۰۱) $^{\#}$نمایانگر تفاوت معنی‌دار بین گروه دیابتی و سایر گروه‌ها (P < ۰/۰۰۱)

روش آماری MANOVA و تست Tukey (تعداد در هر گروه، ۱۰ سر موش) الف) دی‌ان‌کونجوگه به‌عنوان شاخص LDL- اکسیده

ب) محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده یا AOPP به‌عنوان 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 سیستئین 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 سیستئین کاهش و افزایش معنی‌داری به‌ترتیب از نظر شاخص‌های اکسیده و وزن نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار نشان داد ($P <$ ۰/۰۰۱).

بحث و نتیجه‌گیری

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

در تحقیق حاضر، با توجه به حل شوندگی این اسید امینه در آب (۵۰ میلی‌گرم در میلی لیتر) [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 سیستئین نیز از طریق آب خوراکی صورت گرفت.

در این مطالعه تجویز سیستئین به موش‌های دیابتی باعث کاهش معنی‌دار قندخون شد (جدول ۱). اثر کاهندگی قندخون در رت‌های دیابتی توسط اسیدآمینه سیستئین، 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 سیستئین از طریق افزایش میزان ناقلین گلوکز نوع ۳ و ٤ (GLUT 3 , 4)[2] 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) به‌عنوان شاخص استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی- آتروسکلروزی نسبت به گروه بدون تیمار کاهش یافت (شکل ۱ـ 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 اسیدآمینه‌های لیزین [۱۴] و گلیسین [۱۵] قبلاً توسط گروه تحقیقاتی ما گزارش شده است. براساس نتایج مطالعه حاضر، سیستئین 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 سیستئین وضعیت پروفایل لیپیدی در رت دیابتی ـ 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 ـ 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 سیستئین 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، سیستئین بر روند گلیکه و اکسید شدن LDL اثر مهاری نشان داد (جدول یک و شکل ۱ـ الف). اثر مهاری بر اکسید شدن LDL در شرایط آزمایشگاهی توسط اسیدآمینه‌های سیستئین و هیستیدین قبلاً گزارش شده است [۲۷]. روند گلیکه شدن LDL با اکسیدشدن آن همراه است. مهار فرآیند گلیکه‌شدن توسط آنتی‌اکسیدان‌ها، تایید کننده این مطلب است. سیستئین احتمالاً با داشتن قابلیت آنتی‌اکسیدانتی و کاهش میزان ترکیبات دی‌کربونیل مانند گلی‌اوکسال و متیل‌گلی اوکسال (جدول یک) از طریق به دام اندازی این ترکیبات و حمایت از سیستم گلی‌اوکسیلاز (که باید بررسی شود)، بر گلیکه و اکسید شدن این لیپوپروتئین اثر مهاری دارد. نقش اساسی گلی‌اوکسال و متیل‌گلی‌اوکسال در بروز اختلالات دیابت، ثابت شده است.

[2] Glucose Transporter (GLUT)

همان‌طور که ذکر شد، تیمار موش‌های دیابتی با سیستئین اثر کاهندگی بر این ترکیبات نشان داد (جدول ۱). قابلیت به دام اندازی متیل‌گلی‌اوکسال به‌وسیله این اسیدآمینه در سلول‌های کبدی جدا شده از رت، قبلاً گزارش شده است [۲۸]. ترکیبات دی‌کربونیل از طریق سیستم آنزیمی گلی‌اوکسیلاز وابسته به گلوتاتیون تجزیه می‌گردند [۲۵]. از طرفی، سیستئین پیش‌ساز گلوتاتیون نیز هست، و در دیابت میزان سیستئین و گلوتاتیون هر دو کاهش می‌یابد [۸]. بنابراین، تجویز سیستئین 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 گلوتاتیون نیز مورد نیاز است. براساس جستجوهای ما در مقالات و وبگاه‌ها، تاکنون در مورد اثر مهاری سیستئین بر گلیکه و اکسید شدن LDL در مدل دیابتی ـ آتروسکلروزی گزارشی ارائه نشده است.

این اسیدامینه داری اثر مفیدی بر جبران کاهش وزن رت‌های دیابتی بود. به‌طوری که وزن گروه دیابتی تحت تیمار بیشتر از گروه بدون تیمار بود (شکل ۱ـ پ). در مطالعه قبلی نقش سیستئین بر جبران کاهش وزن رت‌های ZDF بی اثر بیان شده بود [۲٤]. احتمالاً علت این اختلاف در نتایج، تفاوت در دوز سیستئین تجویز شده و نوع مدل دیابتی القاء شده در مطالعه حاضر با مطالعه قبلی است. با توجه به یافته‌ها، سیستئین از طریق اعمال اثرات مفید بر وضعیت قند و لیپید، همچنین به‌دلیل بروز ویژگی آنتی‌اکسیدانی، به دام انداختن ترکیبات دی‌کربونیل [۲۸] و به‌عنوان پیش‌ساز گلوتاتیون [۸]، به‌عنوان یک جزء ضروری از سامانه آنزیمی گلی‌اوکسیلاز که خنثی کننده ترکیبات دی‌کربونیل به‌ویژه متیل‌گلی‌اوکسال است، این نوید را می‌دهد که در آینده نزدیک به‌عنوان یک داروی کنترل کننده جهت پیشگیری از عوارض دیابت استفاده گردد.

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

نتیجه‌گیری

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

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس جهت همکاری در اجرای این تحقیق سپاس گذاریم.

تامین منبع مالی: دانشگاه تربیت مدرس

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-ß: 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, Banasadegh 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 (NewYork, 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 Mahdavifard[1], Seyede Zahra Bathaie[*1], Manouchehr Nakhjavani[2], Batoul Etemadi Kia[1]

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 dirking 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