مجله دیابت و لیپید ایران. زمستان ۱۳۸۳؛ دوره ۴ (شماره ۲):۵-۱

# تأثیر آنتی‌اکسیدانی منیزیم بر اسیدهای چرب آزاد پلاسما در رت‌های دیابتی شده با آلوکسان

حسین مدنی*[۱]، صادق ولیان بروجنی[۱]، نوشین نقش[۱]

## خلاصه

**مقدمه:** آلوکسان یکی از مواد گزنوبیوتیک می‌باشد که در دسته مواد دیابت زا قرار می گیرد. منیزیم کوفاکتور مهمی است که جهت تنظیم فعالیت آنزیم‌های دخیل در تولید لیپیدها و کربوهیدرات‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. آلوکسان می‌تواند به طور مستقیم موجب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های مسیر گلیکولیز مثل گلوکوکیناز گردد. در این تحقیق اثرات متقابل آلوکسان و منیزیم بر متابولیسم چربی‌ها در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است.

**روش‌ها:** از موش‌های صحرایی بالغ نر به عنوان مدل آزمایشگاهی برای ایجاد دیابت استفاده شد. جهت ایجاد دیابت، آلوکسان مونوهیدرات به میزان ۱۲۰ mg/kg به صورت داخل صفاقی (I.P) به ۲۸ موش صحرایی تزریق شد. ۷۲ ساعت بعد از تزریق، گلوکز پلاسما اندازه‌گیری شد که مقدار افزایش یافته معنی‌دارآن مؤید ایجاد دیابت در موش‌ها بود.

**یافته‌ها:** یافته‌های حاصل از این مطالعه افزایش معنی‌داری را برای اسیدهای چرب آزاد پلاسما در موش‌های صحرایی دیابتی(۷۵۱/۲۵ µM) نسبت به گروه‌های شاهد µM (۲۸۶/۶۸) نشان داد. در این مطالعه با سنجش منیزیم گلبول‌های قرمز، کاهش بسیار شدید منیزیم درون سلولی در موش‌های صحرایی دیابتی mg/dL (۴/۸۹) در مقایسه با گروه‌های شاهد mg/dL (۷/۱۸) دیده شد.

**نتیجه‌گیری:** نتایج حاصله نشانگر ارتباط معکوس و معنی‌دار بین منیزیم گلبول‌های قرمز و اسیدهای چرب آزاد پلاسما در موش‌های صحرایی دیابتی می‌باشد. لذا، بررسی تأثیرات کاهش این عنصر متعاقب ایجاد دیابت می‌تواند اطلاعات ضروری و مهمی درخصوص دیابت فراهم نماید.

**واژگان کلیدی:** دیابت، آلوکسان، گلوکز، اسید چرب، منیزیم

۱- دانشگاه اصفهان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

***نشانی:** دانشگاه اصفهان، دانشکدهٔعلوم، گروه زیست شناسی؛ **تلفن:** ۰۳۱۱-۷۹۳۲۴۶۲ **نمابر:** ۰۳۱۱-۷۹۳۲۴۵۶؛ پست الکترونیک: h.madani@sci.ui.ac.ir

**تاریخ دریافت مقاله:** ۸۳/۴/۲۸
**تاریخ پذیرش مقاله:** ۸۳/۹/۲۸

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

## مقدمه

گزنوبیوتیک‌ها عبارتند از داروها و مواد شیمیایی که به طرق مختلف وارد بدن موجودات زنده شده و در بیشتر مواقع توسط کبد متابولیز و دفع می‌شوند [۱ و ۲]. حداقل ۳۰ آنزیم مختلف در واکنش‌های متابولیسمی این مواد دخالت دارند. آلوکسان یکی از مواد شیمیایی گزنوبیوتیک است که اولین بار از اکسیداسیون اسید اوریک به دست آمد و در دسته مواد ضد نئوپلاسمی قرار گرفت. این ماده از مشتقات پیریمیدین می‌باشد و ۲، ۴، ۵ و ۶ تتراکسوهگزاپیریمیدین نامیده می‌شود. ماده مزبور در حیوانات آزمایشگاهی به صورت تزریقی و یا خوراکی ایجاد دیابت می‌کند[۲]. آلوکسان با ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب تخریب DNA شده و سیستم‌های ترمیم را برمی‌انگیزد[۳]. یکی از آنزیم‌های لازم جهت ترمیم Poly (ADP-ribose) Synthatase می‌باشد که از $NAD^+$ داخل سلولی به عنوان کوفاکتور برای فعالیت خود استفاده می‌کند [۴]. کاهش $NAD^+$ داخل سلولی فعالیت آنزیم فسفوگلیسرآلدیید دهیدروژناز را کاهش می‌دهد. $NAD^+$ همچنین به عنوان یک کوفاکتور جهت تنظیم برخی از آنزیم‌های سیکل کربس عمل می‌نماید. بدین ترتیب آلوکسان با تأثیر مستقیم بر روی فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم گلوکز، روندهای تنظیم متابولیسم لیپیدها و لیپوپروتیین‌ها را نیز مختل می‌کند[۵]. یکی از کوفاکتورهای تنظیم کننده فعالیت آنزیم‌های مسیرهای مزبور منیزیم می‌باشد. این عنصر در دسته مواد آنتی‌اکسیدان قرار می‌گیرد[۶]. با توجه به این‌که اکسیداسیون لیپیدها در بیماری دیابت تشدید می‌شود، بررسی تأثیرات هم زمان عوامل فوق در این بیماری مهم می‌باشد[۷]. منیزیم همچنین خواص مشابه انسولین دارد که می‌توان از آن در درمان دیابت و عوارض قلبی ـ عروقی ناشی از افزایش اسیدهای چرب آزاد پلاسما متعاقب ایجاد دیابت استفاده نمود[۸]. بررسی دقیق سازوکارهای ارتباط دهنده متابولیسم لیپیدها با تأثیرات کوفاکتوری منیزیم جهت تنظیم فعالیت آنزیم‌های مسیرهای گلیکولیز و کربس، ایجاد ایده‌های اصولی جهت درمان دیابت توسط روش آنزیم درمانی[1] با استفاده از این عنصر را مطرح می‌سازد [۹ و ۱۰]. با توجه به این‌که منیزیم اثر آنتی‌اکسیدانی بر اسیدهای چرب آزاد و پلاسما دارد، در این مطالعه این تأثیر در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان مونوهیدرات مورد بررسی قرار گرفت.

## روش‌ها

**ایجاد دیابت در موش‌های صحرایی:** در این آزمایش از موش‌های صحرایی بالغ نر از نژاد Wistar با میانگین وزنی ۲۵۰–۲۰۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در شرایط استاندارد با حرارت ۲۳ درجه سانتی‌گراد و رژیم غذایی Ad Libitum نگهداری شدند. موش‌های صحرایی مورد نظر در هفت گروه چهارتایی قرار داده شدند و به عنوان گروه‌های بیمار درنظر گرفته شدند. به منظور ایجاد دیابت در حیوانات مزبور، گروه‌های شاهد نیز متناسب با آنها انتخاب شدند. از ماده آلوکسان مونوهیدرات به مقدار ۱۲۰ mg/kg به صورت تزریق داخل صفاقی استفاده شد[ ۲]. جهت یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق به موش‌های صحرایی شاهد، سرم فیزیولوژی تزریق شد. ۷۲ ساعت بعد از تزریق با استفاده از لوله‌های هماتوکریت، خون محیطی از گوشه چشم جمع‌آوری گردید و توسط دستگاه گلوکومتر خودکار (Roche, Germany)، گلوکز خون موش‌های صحرایی مورد سنجش قرار گرفت. رت‌هایی که گلوکز خون آنها بیشتر از ۲۰۰ mg/dL بود در دسته موش‌های صحرایی دیابتی شده قرار داده شدند[۴]. بعد از آن، سنجش اسیدهای چرب آزاد پلاسما (FFA) به روش بیوشیمیایی Felix صورت پذیرفت[۱۱].

**سنجش منیزیم و اسیدهای چرب:** به منظور سنجش منیزیم داخل سلولی (گلبول های قرمز)، پس از سانتریفوژ نمودن خون در ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه گلبول‌های قرمز چندین مرتبه با سرم فیزیولوژی شستشو داده شدند. به منظور ایجاد همولیز در گلبول‌های قرمز، به ترتیب از روش‌های شوک اسمزی و حرارتی استفاده شد. پس از

[1] Enzyme therapy

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]

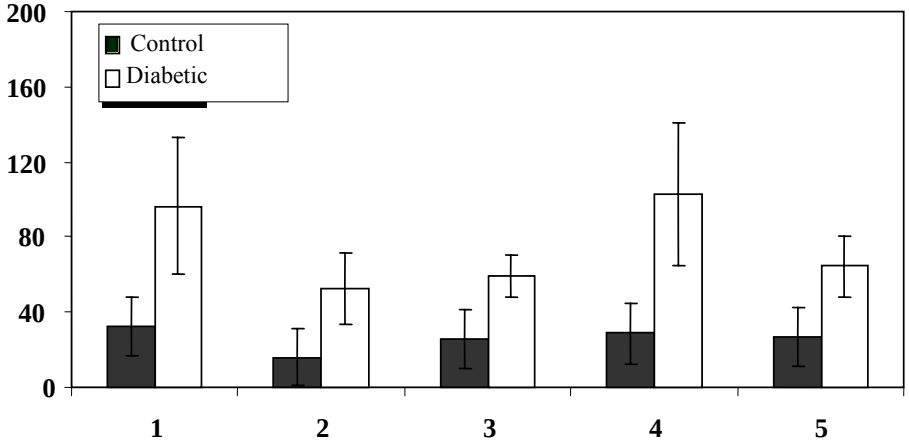
تهیه رقت‌های لازم از محلول همولیز شده، مقدار منیزیم موجود در آن توسط دستگاه اتمیک ابزربشن (Beckman, USA) اندازه‌گیری شد. بعد از محاسبه، رقت نمونه‌ها با نمودار استاندارد مقایسه و میزان منیزیم تعیین گردید و بدین ترتیب غلظت منیزیم درون گلبول‌های قرمز مورد سنجش و بررسی قرار گرفت [۱۲ و ۷].

**تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها:** در این تحقیق، روش آماری، طرح بلوک‌های کامل تصادفی و آزمون t (t-test) استفاده شد. سپس کلیه داده‌ها با کمک برنامه نرم‌افزاری Excel بصورت جدول و نمودار رسم شدند. در طرح بلوک‌های تصادفی به کار گرفته شده، موش‌های صحرایی براساس شباهت وزنی در دسته‌های مختلف دسته‌بندی شدند.

## یافته‌ها و بحث

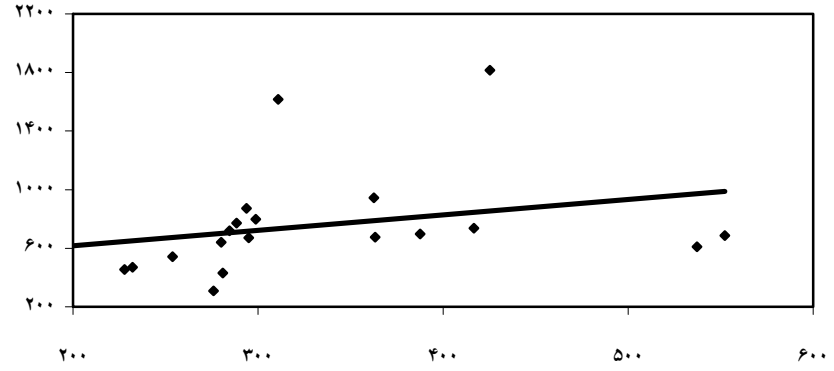
تأثیر تزریق آلوکسان بر متابولیسم کربوهیدرات‌ها و اسیدهای چرب آزاد پلاسما از دو مسیر امکان‌پذیر است. طریقه نخست که با دخالت مستقیم آلوکسان در فعالیت آنزیم‌های مسیر گلیکولیز از جمله فسفوگلیسرآلدیید دهیدروژناز صورت می‌پذیرد[۲]. در طریقه غیر مستقیم، آلوکسان با کاهش هورمون انسولین بعد از نکروز شدن سلول‌های بتای پانکراس به تغییرات در متابولیسم لیپیدها و کربوهیدرات‌ها کمک می‌کند. در این پروژه سنجش اسیدهای چرب آزاد پلاسما با روش Felix صورت پذیرفت. نتایج نشان دادند که در موش‌های صحرایی شاهد، مقدار اسیدهای چرب دارای میانگینی معادل µM ۱۵۶ ± ۲۸۶ و در موش‌های دیابتی با افزایش معنی‌داری به مقدار میانگین µM ۳۶۵ ± ۷۵۱ رسید (نمودار ۱).

این افزایش می‌تواند ناشی از تأثیر آلوکسان بر فعالیت لیپاز حساس به هورمون (HSL) باشدکه در این صورت تجزیه تری‌گلیسریدهای بافت چربی و آزاد شدن اسیدهای چرب آزاد به درون پلاسما را همراه خواهد داشت[۱۰]. از طرفی اخیراً ثابت شده که با افزایش اسیدهای چرب آزاد پلاسما میزان رادیکال‌های آزاد نیز افزایش می‌یابد و استرس اکسیداتیو ایجاد شده موجب تخریب سلول‌های بتای سالم (باقی مانده) می‌شودکه این عملکرد موجب کاهش انسولین باقی‌مانده و افزایش گلوکز پلاسما می‌گردد [۳]، که خود باعث بالا رفتن اسیدهای چرب آزاد می گردد[۱ و ۱۱]. در این تحقیق همبستگی غلظت این دو عامل مورد سنجش قرار گرفت و ارتباط مستقیم و معنی‌داری پس از افزایش گلوکز پلاسما و اسیدهای چرب آزاد پلاسما در موش‌های صحرایی دیابتی مشاهده گردید ($p \geq ۰/۰۰۵$) (نمودار ۲). در سال ۱۹۹۴ میلادی Koyama و همکارانش منیزیم را که به عنوان یکی از کوفاکتورهای لازم برای تنظیم فعالیت آنزیم‌های تنظیمی مسیر گلیکولیز می‌باشد؛ بعنوان یک ماده

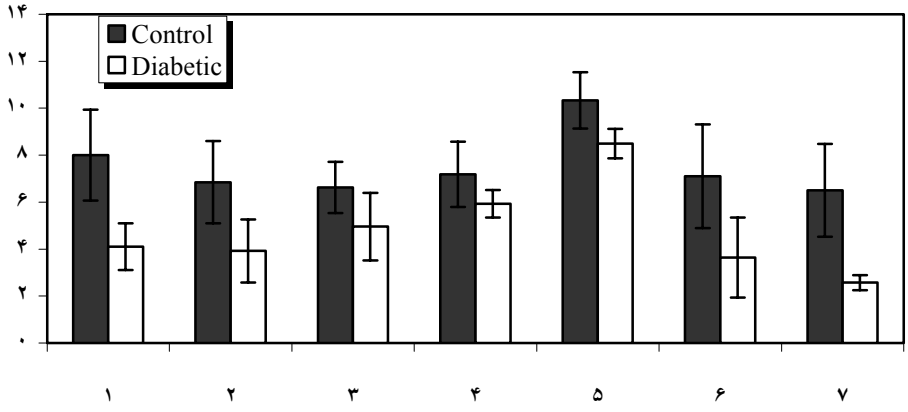



**نمودار ۱- مقایسه میانگین سطح پلاسمایی اسیدهای چرب آزاد (FFA) در گروه‌های دیابتی و شاهد. در هر قفس موش‌های شاهد و دیابتی مقایسه شده‌اند. نمودار حاصل نشان دهنده میانگین سنجش چهار اندازه‌گیری مستقل می‌باشد.**

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]




**نمودار ۲- بررسی میزان همبستگی دو متغیر اسیدهای چرب آزاد و گلوکز پلاسما در موش‌های دیابتی تا ضریب همبستگی پیرسن بین این دو متغیر برابر ۰/۵۴۴ = r می‌باشد که نشان دهنده یک همبستگی مستقیم و معنی‌دار است.**



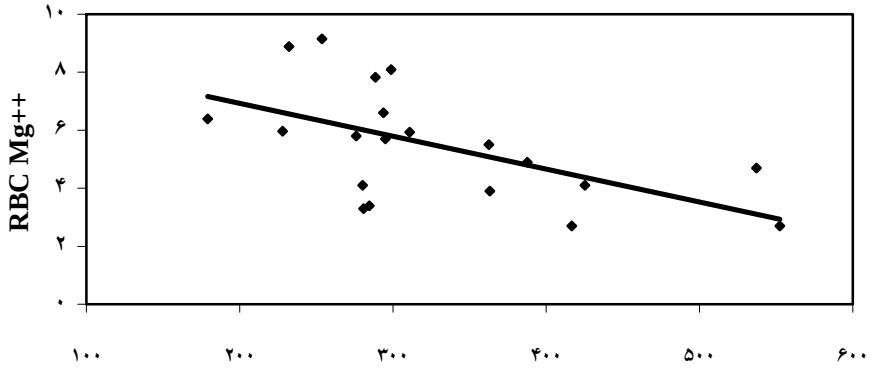

**نمودار ۳- مقایسه میانگین سطح منیزیم گلبول‌های قرمز در گروه‌های دیابتی و شاهد. در هر قفس موش‌های شاهد و دیابتی مقایسه شده‌اند. نمودار حاصل نشان دهنده میانگین سنجش چهار اندازه‌گیری مستقل می‌باشد.**

آنتی اکسیدان[1] دانسته‌اند [۱]. با توجه به تشدید واکنش‌های اکسیداسیون و پراکسیداسیون لیپیدها به هنگام ایجاد دیابت، بررسی تغییرات درون سلولی منیزیم حائز اهمیت می‌باشد. در این مطالعه میانگین میزان منیزیم گلبول‌های قرمز در موش‌های صحرایی دیابتی mg/dL ۴/۸۹ بوده که کاهش آن نسبت به گروه‌های شاهد mg/dL ۷/۱۸ می‌تواند مربوط به کاهش باز جذب این عنصر در توبول‌های کلیه باشد (نمودار ۳). این سازوکار احتمالاً نشان دهنده تأثیر آلوکسان به میزان نفوذپذیری نفرون‌های کلیوی پس از ایجاد دیابت می‌باشد [۲ و ۳]. با توجه به خواص مشابه انسولین منزیم[2] این عنصر مشابه با هورمون انسولین، در افزایش نفوذپذیری سلول‌ها نسبت به گلوکز نقش عمده دارد. در سازوکارهای استرس اکسیداتیو حاصل توسط آلوکسان در موش‌های دیابتی، با توجه به تخریب اختصاصی سلول‌های بتا توسط سازوکار آزاد و کاهش انسولین و همچنین تأثیر آلوکسان بطور مستقیم و غیر مستقیم در کاهش منیزیم درون و برون سلولی، اثرات حاصل از دیابت تشدید می‌شود. به‌عبارتی دیگر افزایش گلوکز و اسیدهای چرب آزاد پلاسما همزمان به عنوان عامل افزایشی با کاهش منیزیم در تشدید عوارض دیابت

[1] Antioxidant agents

[2] Insulinomimetic effects

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]




**نمودار ۴- بررسی میزان همبستگی دو متغیر اسیدهای چرب آزاد پلاسما (FFA) و منیزیم گلبول‌ها قرمز در موش‌های دیابتی. ضریب همبستگی پیرسن بین این دو متغیر برابر r = ۰/۴۸۲ می‌باشد که نشان دهنده یک همبستگی معکوس و معنی‌دار است.**

مؤثر می‌باشد. همچنین با توجه به ارتباط معکوس معنی‌دار این عنصر با اسیدهای چرب آزاد پلاسما (نمودار ۴) می‌توان از ترکیبات این عنصر جهت درمان مناسب و کم هزینه دیابت استفاده نمود [۶ و ۸].

## سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای دکتر منوچهر خردمندنیا عضو هیأت علمی محترم گروه آمار دانشگاه اصفهان جهت مشاوره آماری نتایج این مطالعه تشکر فراوان می‌گردد.

## مآخذ

1. Koyama, K., Takatsuki, K. and Inoue, M. Determination of superoxide and ascorbyl radicals in the circulation of animals under oxidative stress. Arch. *Biochemical Biophysics*. 1994;309(2): 323-328.
2. Matkovics. B., Sasvari, M., Kotorman, M., Varga, I., Hai, D. and Varge, C. Further jprove on oxidative stress in alloxan diabetic rat tissues. *Acta. Physiology. Hungary*. 1997;85(3): 183-192.
3. Heler, B., Burkle, A., Radons, J., Fengler, E., Jalowy, A., Muler, M. *et. al.* Analysis of oxygen radical toxicity in pancreatic islets at the single cell level. *Biological Chemistry*. 1994;75(9): 597-602.
4. Nobuyki, T., Takayuki, A., Ichiro, K., Yoshitaka, N. and Takashi, Y. Alloxan-induced DNA strand breaks in pancreatic islets. *Journal of Biological Chemistry*. 1991;266(4): 2112-2114.
5. Gowri, M., Reaven, G. and Azhar, S. Effect of masoprocol on glucose transport and lipolysis by isolated rat adipocytes. *Metabolism*. 1999;8(5): 411-414.
6. Juliette, L., Human, M. and Arp, D. Roles of bovine serum and copper in the assay and stability of ammonia monoxygenase activity in vitro. *Journal of Bacteriology*. 1995;77(17): 4908-4913.
7. Cekic, O. and Bardak, Y. Lenticular calcium, magnesium, and iron levels in diabetic rats and verapamil effect. *Ophthalmic. Research*. 1998;0(2): 107-112.
8. Rossetti, I., Giaccari, A., Klein-robbenhaav, E. and Vogel, L. R. Insulinomimetic properties of trace elements and characterization of their in vivo mode of action. *Diabetes*. 1990;9(10): 1243-1250.
9. De-vos, A., Heimberg, H., Quartier, E., Huypens, P., Bouwens, L., Pipeleers, D. and Schuit, F. Human and rat beta cells differ in glucose transporter but not in glucokinase gene expression. *Journal of Clinical Investigation*. 1995;96(5): 2489-2495.
10. Martin, R. Localization of Lipoprotein Lipase in fat Cells of rat adipose tissue. *Nutrition Endocrinology*. 1964;30(3): 753-755.
11. Caprio, S., Amiel, S., Tamborlane, W., Gelfand, R. and Sherwin, R. Defective free-fatty acid and oxidative glucose metabolism in IDDM during hyperglycemia. Influence of glycemic control. *Diabetes*. 1990;9(2): 134-141.
12. Asayam, K., Hayashibe, H., Dobashi, K., Niitsu, T., Miyao, A. and Kato, K. Antioxidant enzyme status and lipid peroxidation in various tissues of diabetic and starved rats. *Diabetes* Research. 1989;2(2): 85-91.

[ Downloaded from ijdld.tums.ac.ir on 2025-04-04 ]