Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 35, No. 5, Dec. – Jan. 2013, Pages: 26-33

The Efficacy of Long-Term Resveratrol Administration on the Activity of Cyclooxygenase 1 and 2 and Nuclear Factor Kappa B in Type 2 Diabetic Rat Kidney

Saeed Khameneh[1*], Farhad Ghadiri Soufi[2], Mohammad Reza Alipour[3], Fatemeh Afshar[4], Fariba Mirzaei[3]

[1]Department of Physiology, School of Medical Sciences, Islamic Azad University (Tabriz branch), Tabriz, Iran
[2]Department of Physiology, School of M, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar-Abbas, Iran
[3]Department of Physiology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences Tabriz, Iran
[4]Department of Pathobiology, School of Medical Sciences, Islamic Azad University (Tabriz branch), Tabriz, Iran

Received: 24 Dec, 2012 Accepted: 23 Jan, 2013

Abstract

Background and Objectives: There are several studies conducted to investigate the pathogenesis of diabetic nephropathy, but the obtained results are controversial. It remains one of the most important reasons of mortality in diabetic subjects. Previous researches have indicated that cyclooxygenase 2 (COX_2) has an important role in the pathogenesis of diabetic nephropathy. Additionally resveratrol is an herbal polyphenol and it has been beneficial anti-inflammatory effects during short-term administration. This study aimed to investigate the efficacy of long-term resveratrol administration on the activity of COX_1, COX_2 and nuclear factor kappa B (NF-κB) in diabetic Rats.
Materials and Methods: Twenty four male Wistar rats (320-340 g) were randomly divided into four groups (n=6 for each group): normal control, diabetic control, normal rats treated with resveratrol, and diabetic rats treated with resveratrol. Diabetes was induced by injection of streptozotocin (50 mg/kg; *i.p.*), 15 min after the prescription of nicotinamide (110 mg/kg; *i.p.*) and resveratrol (5 mg/kg/day) was gavaged for four months. At the end of protocol, blood glucose, insulin, urea and creatinine as well as the activity of renal COX_1, COX_2 and NF-κB were measured.
Results: Four-month resveratrol administrations significantly attenuated the enhancement of blood glucose, urea and kidney to body weight ratio in diabetic rats (p <0.05 for all). Moreover, long-term resveratrol administration to diabetic rats reduced renal COX_2 and NF-κB activities.
Conclusion: Since the efficient control of blood glucose has a key role in preventing of diabetes complications and in regard to the anti-inflammatory effects of resveratrol in kidneys. It could be considered as a supplementation in preventing of diabetes renal complications.

Keywords: Type 2 diabetes, Resveratrol, Hyperglycemia, COX_2, NF-κB

*Corresponding author:
E-mail: khamnei_s@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

اثر مصرف طولانی رِسوِراترول بر میزان فعالیت سیکلواُکسیژناز ۱ و ۲ و فاکتور هسته‌ای کاپای B در کلیه رتهای دیابتی نوع ۲

سعید خامنه: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران، نویسنده رابط:
E-mail: khamnei_s@yahoo.com
فرهاد قدیری صوفی: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران
محمدرضا علیپور: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
فاطمه افشار: گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران
فریبا میرزایی: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

دریافت: ۹۱/۱۰/۴ **پذیرش**: ۹۱/۱۱/۴

چکیده

زمینه و اهداف: اگرچه مکانیسم‌های متعددی جهت بروز نفروپاتی دیابتی شرح داده شده اما این بیماری هنوز یکی از علل مرگ طی دیابت می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که سیکلواُکسیژناز۲ (COX_2) نقش مهمی در پاتوژنز نفروپاتی دیابتی دارد. رسوراترول یک پلی فنول گیاهی است و آثار ضد التهابی مفیدی طی دوره‌های تجویز کوتاه مدت دارد. این مطالعه به بررسی اثر مصرف طولانی رسوِراترول برَ فعالیت COX_1، COX_2 و فاکتور هسته‌ای کاپای B (NF-κB) در نفروپاتی دیابتی می‌پردازد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۴ موش صحرایی نر، بصورت تصادفی در چهار گروه ۶ تایی کنترل سالم، کنترل دیابتی، سالم دریافت‌کننده رسوراترول و دیابتی دریافت‌کننده رسوراترول تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg)، ۱۵ دقیقه بعد از تزریق داخل‌صفاقی نیکوتین‌آمید (۱۱۰ mg/kg) (وَ تجویز رسوِراترول با دوز ۵ mg/kg/day بصورت گاواژ روزانه و بمدت ۴ ماه صورت گرفت. در پایان، میزان اوره، کراتینین، قند و انسولین خون و میزان فعالیت میزان فعَالیت COX_1، COX_2 و NF-κB در بافت کلیه اندازه‌گیری شد).

یافته‌ها: مصرف رسوراترول، میزان قند خون، اوره و نسبت وزن کلیه به وزن بدن را در گروه دیابتی کاهش داد ($P < ۰/۰۵$). همچنین، تجویز دراز مدت رسوِراترول فعالیت COX_2 و نیز NF-κB را در کلیه موش‌های دیابتی کاهش داد ($P < ۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: از آنجایی که کنترل مناسب قند خون نقش کلیدی در پیشگیری از عوارض دیابت دارد، و نیز با توجه به اثرات ضد التهابی رسوِراترول در کلیه، می‌توان رسوِراترول را بعنوان یک مکمل در جهت پیشگیری از عوارض کلیوی دیابت در نظر گرفت.

کلید واژه‌ها: دیابت نوع ۲، هایپرگلایسمی، Resveratrol، COX_2 و NF-κB

مقدمه

امروزه کاملاً پذیرفته شده است که دیابت یک بیماری مزمن التهابی است زیرا هایپرگلایسمی شرایطی فراهم می‌کند که غلظت بالای میانجی‌های پیش برنده التهاب در خون می‌توانند اختلالات عروقی ریز و درشت ایجاد کرده و موجب التهاب بافتی و مرگ سلولی گردند (۱). اعتقاد بر این است که هایپرگلایسمی مزمن از طرق مختلف نظیر افزایش اکسیداسیون گلوکز، تولید محصولات نهایی گلیکاسیون پروتئین‌ها، آلدوز ردوکتاز ، هگزوز آمین‌ها و فعال کردن پروتئین C باعث افزایش فعالیت فاکتور هسته‌ای کاپای بتا (NF-κB) می‌گردد (۲). این فاکتور نسخه‌برداری نیز به نوبه خود باعث افزایش تولید میانجی‌های پیش‌برنده التهاب نظیر فاکتور نکروز تومور، اینترلوکین‌ها و پروستاگلندین‌ها می‌گردد (۳). آنزیم‌های سیکلواکسیژناز ۱ و ۲ (COX_1 و COX_2) مرحله آغازین تولید پروستاگلندین‌ها از اسید آراشیدونیک را هدایت می‌کنند (۳). این دو آنزیم اگرچه دارای مشابهت زیادی هستند اما دارای

Archive of SID

www.SID.ir

ویژگی‌های عملکردی متفاوتی می‌باشند بطوریکه COX_1 عمدتاً تولید پروستاگلندین‌های مورد نیاز جهت انجام فرایندهای فیزیولوژیک و COX_2 عمدتاً تولید پروستاگلندین‌های درگیر در فرایندهای التهابی را هدایت می‌کنند (۴). اعتقاد بر این است که NF-κB نسخه برداری از ژن COX_2 را افزایش داده (۵) و گزارش شده است که میزان این عوامل طی فرایندهای التهابی از جمله دیابت افزایش می‌یابد (۳).

مطالعات متعددی نشان داده‌اند که NF-κB و پروستاگلندین‌ها نقش مهمی در بروز و توسعه نفروپاتی دیابتی دارند (۸-۶). نفروپاتی دیابتی با هایپرتروفی، اسکلروز و نیز فیبروز توبولی و گلومرولی مشخص می‌گردد (۹). اگرچه مکانیسم‌های متعددی جهت بروز نفروپاتی دیابتی شرح داده شده است اما این بیماری هنوز غیر قابل درمان بوده و همواره یکی از مهمترین علل مرگ و میر در بیماران دیابتی می‌باشد (۹). از این رو جهت پی بردن به مکانیسم‌های زمینه‌ای این بیماری به مطالعات بیشتری نیاز است.

مدارک نشان می‌دهند که رسوراترول (Resveratrol; Res) که یک مولکول پلی‌فنولی موجود در گوجه سبز، بادام زمینی و بویژه انگور قرمز است، نقش مهمی در محافظت قلب، عروق و اعصاب ایفا نموده و همچنین اثرات ضد سرطان و ضد التهابی مفیدی دارد (۱۱و۱۰). گزارش شده است که Res یک مهارکننده غیر رقابتی COX_1 بوده و برخی از آثار ضد سرطانی خود را از طریق کاهش فعالیت COX_2 و NF-κB انجام می‌دهد (۱۳و۱۲). همچنین نشان داده شده است که تجویز کوتاه مدت Res باعث کاهش عوارض کلیوی ناشی از دیابت گردیده است (۱۵و۱۴).

طبق گزارش وانگ و همکاران که در سال ۲۰۱۱ میلادی منتشر شده است، از میان ۲۵۰ مقاله منتشر شده‌ای که تا سپتامبر ۲۰۱۰ به بررسی اثر Res بر عوارض دیابت پرداخته‌اند، بررسی اثر تجویز درازمدت Res بسیار کم بوده و با توجه به نتایج امیدوار کننده‌ای که مصرف کوتاه مدت Res به دنبال داشته است، انجام مطالعات تکمیلی با مدت زمان طولانی‌تر جهت بررسی ابعاد دقیق آثار Res در کاهش عوارض دیابت را پیشنهاد داده است (۱۶). قبلاً نیز چنین پیشنهادی توسط انجمن غذا و داروی آمریکا مطرح شده است (۱۷).

اگرچه مطالعات معدودی به بررسی اثر کوتاه مدت Res (تا یک ماه) بر نفروپاتی دیابتی پرداخته‌اند، اما بر حسب آخرین جستجوهای انجام شده، فقط یک مطالعه به بررسی اثر Res بر فعالیت آنزیم‌های COX در کلیه رتهای دیابتی پرداخته است (۴). در مطالعه مذکور که یک ماه پس از القای دیابت مصرف Res آغاز گردیده و به مدت یک ماه ادامه داشته است، گزارش شده که مصرف کوتاه مدت Res قادر به کاهش فعالیت آنزیم‌های COX نبوده و مطالعه‌ای با دوره طولانی‌تر را پیشنهاد داده است. مطالعه حاضر به بررسی اثر مصرف طولانی مدت و پیشگیرانه Res می‌پردازد. با توجه به اینکه بیش از ۹۰ درصد از موارد دیابت انسانی از نوع ۲ می‌باشد (۱)، لذا در این تحقیق القای دیابت توسط تزریق استرپتوزوتوسین- نیکوتینامید بعنوان مدل دیابت نوع ۲ انجام گردید. طی این مطالعه اثر مصرف ۴ ماهه Res (یک هفته پس از القای دیابت) بر میزان آنزیم‌های COX_1 و COX_2 و نیز میزان فعالیت NF-κB در کلیه رتهای دیابتی نوع ۲ بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

بر حسب مطالعات انجام شده در این زمینه، تعداد ۲۴ موش صحرایی نر سه ماهه از نژاد ویستار و با محدوده وزنی ۳۴۰-۳۲۰ گرم بصورت تصادفی از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی موسسه سرم‌سازی رازی تهیه و در چهار گروه ۶ تایی کنترل سالم، سالم دریافت کننده Res، کنترل دیابتی و دیابتی دریافت کننده Res تقسیم شدند. القای دیابت با تزریق تک دوز $۵۰_{mg/kg}$ استرپتوزوتوسین بصورت داخل صفاقی، ۱۵ دقیقه پس از تزریق داخل صفاقی $۱۱۰_{mg/kg}$ نیکوتینامید صورت گرفت و قند خون بالای $۲۵۰_{mg/dl}$ چهل و هشت ساعت پس از تزریق، بعنوان دیابت القا شده در نظر گرفته شد (۱۸). تجویز نیکوتینامید قبل از استرپتوزوتوسین باعث حفظ حدود ۴۰ درصد از ذخایر انسولین پانکراس و در نتیجه موجب هایپرگلایسمی مزمن و پایدار، عدم تحمل گلوکز و بویژه باعث تغییر در الگوی ترشح انسولین در پاسخ به گلوکز (نظیر آنچه در دیابت انسانی رخ می‌دهد) می‌گردد (۱۹). یک هفته پس از القای دیابت، تجویز Res با دوز $۵_{mg/kg/day}$ بصورت گاواژ روزانه انجام و دوزاژ آن بصورت هفتگی تنظیم می‌شد. ۴ ماه پس از شروع تجویز Res، موش صحرایی‌های موجود در همه گروه‌ها با تزریق داخل صفاقی $۸۰_{mg/kg}$ کتامین بیهوش گردیده و سپس ۳ میلی‌لیتر خون از سینوس رترو اُربیتال هر موش صحرایی تهیه و سپس کشته شدند. کلیه‌ها بسرعت خارج و وزن شده و سپس در نیتروژن مایع فریز شدند. همه مداخلات در فاصله ساعت ۱۰ الی ۱۲ صبح انجام شد. رسوراترول مورد استفاده از شرکت کِی‌مَن و مابقی مواد شیمیایی از شرکَت سیگما تهیه گردید.

اندازه‌گیری میزان گلوکز، انسولین، اوره و کراتینین

اندازه‌گیری قند خون توسط گلوکومتر (Arkray, Kyoto, Japan) و اندازه‌گیری اوره و کراتینین توسط کیت آماده شرکت زیست شیمی (Zistshimi, Tehran, Iran) و با روش اسپکتروفتومتری توسط دستگاه $Auto\text{-}Analyzer\ Alcyon_{P300}$ و اندازه‌گیری انسولین توسط کیت اختصاصی شرکت (Ann Arbor, MI, USA) Cayman chem. به روش ELISA و بر اساس دستور العمل کیت در طول موج ۴۵۰ نانومتر بررسی و مقادیر آن با رسم منحنی استاندارد محاسبه گردید.

استخراج پروتئین سیتوپلاسمی و هسته‌ای

بر اساس دستورالعمل کیت استخراج (Cayman chem. nuclear extraction kit)، ۱۰۰ میلی‌گرم از بخش فوقانی قشر کلیه راست هر موش صحرایی به مدت ۱۵ دقیقه در ۲۰۰ میکرولیتر از بافر هایپوتونیک سرد موجود در کیت، هوموژنیزه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با سرعت g ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید.

Archive of SID

www.SID.ir

سوپرناتانت حاوی پروتئین‌های سیتوپلاسمی، جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت COX_1 و COX_2 مورد استفاده قرار گرفت. باقیمانده رسوبی در ۵۰ میکرولیتر از بافر استخراج موجود در کیت، هوموژنیزه و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با سرعت g ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و سوپرناتانت حاوی پروتئین‌های هسته‌ای، جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت NF-κB مورد استفاده قرار گرفت. از کیت تعیین پروتئین(Cayman chem., Ann Arbor, MI; Item No: 704002) جهت بررسی غلظت پروتئین سیتوپلاسمی و هسته‌ای استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت NF-κB

فعالیت NF-κB با استفاده از کیت فاکتور نسخه برداری NF-κB p65 (Cayman chem., Ann Arbor, MI, USA) و بر اساس دستورالعمل سازنده اندازه‌گیری شد. بطور خلاصه، ۲ میکرولیتر از عصاره هسته‌ای کلیوی ابتدا در اولیگونوکلئوتید حاوی اجتماع NF-κB و سپس در آنتی‌بادی مونوکلونال و پلی‌کلونال NF-κB p65 انکوبه شد. آنگاه واکنش در طول موج ۴۵۰ نانومتر اندازه‌گیری و بر حسب میلی‌گرم پروتئین/OD 450 بیان گردید.

اندازه‌گیری میزان فعالیت COX_1 و COX_2

فعالیت آنزیم‌های COX توسط کیت اختصاصی شرکت Cayman chem. به روش ELISA و بر اساس دستور العمل کیت در طول موج ۴۵۰ نانومتر بررسی و مقادیر آن با رسم منحنی‌های استاندارد محاسبه گردید.

جهت مقایسه تفاوت موجود در بین گروه‌های مختلف از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و در صورت وجود تفاوت، برای تعیین گروه‌های دارای تفاوت، از آزمون Tukey (توسط نرم افزار SPSS 18.0) استفاده گردید. داده‌ها بصورت میانگین ± انحراف معیار بیان گردید و مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنادار آماری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است در پایان دوره آموزش، غلظت انسولین و میزان وزن در گروه‌های دیابتی کمتر از گروه کنترل بود (p=۰/۰۰۱ برای همه موارد). همچنین میزان قند، اوره و کراتینین خون و نیز میزان وزن کلیه‌ها و نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه دیابتی بیشتر از گروه سالم بود (p=۰/۰۰۱ ، p=۰/۰۰۳ و p=۰/۰۰۱ به ترتیب برای قند، اوره و نسبت وزن کلیه به وزن بدن، p=۰/۰۲۳ برای کراتینین و p=۰/۰۴۷ برای وزن کلیه). تجویز ۴ ماهه Res باعث تخفیف فرایند کاهش وزن گردید (p=۰/۰۲۹). بعلاوه میزان قند خون، اوره و نیز نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه دیابتی دریافت کننده Res در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش قابل توجهی داشت (به ترتیب p=۰/۰۱۸ ، p=۰/۰۴۴ و p=۰/۰۲۱). تجویز Res قادر به تغییر هیچیک از متغیرهای مذکور در گروه سالم نبود. نمودار ۱ و ۲ به ترتیب نشان می‌دهند که میزان فعالیت آنزیم COX_2 و نیز میزان فعالیت NF-κB در گروه دیابتی بطور قابل توجهی بیشتر از گروه کنترل بود (p=۰/۰۰۱ برای NF-κB و p=۰/۰۲۵ برای COX_2). تجویز Res باعث جلوگیری از افزایش معنی‌دار آنزیم COX_2 در گروه دیابتی دریافت کننده Res در مقایسه با گروه کنترل سالم گردید. اگرچه تجویز Res میزان فعالیت NF-κB را در گروه دیابتی دریافت کننده Res در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش داد (p=۰/۰۱۹)، اما همچنان میزان فعالیت NF-κB در مقایسه با گروه کنترل سالم بیشتر بود (p =۰/۰۳۴). دیابت و مصرف Res، هیچیک تاثیر قابل توجهی بر میزان فعالیت آنزیم COX_1 نداشتند (نمودار ۳).

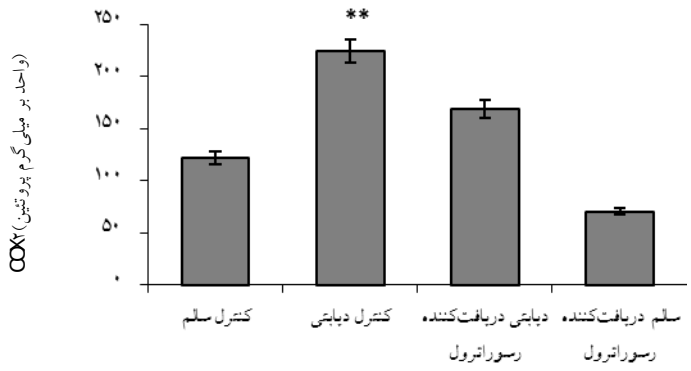
جدول ۱: اثرات تجویز رسوراترول بر وزن و متغیرهای بیوشیمیایی

متغیر	سالم	سالم دریافت کننده Res	دیابتی	دیابتی دریافت کننده Res
وزن بدن (گرم)	۴۶۹/۳۳ ± ۴/۵۶	۴۴۳/۷۱ ± ۳/۸۸	۲۲۰/۲۸ ± ۵/۰۱*	۲۸۱/۹۹ ± ۵/۱۱##*
وزن کلیه (گرم)	۱/۵۳ ± ۰/۱۸	۱/۶۳ ± ۰/۳۳	۲/۰۷ ± ۰/۸۱**	۱/۸۶ ± ۰/۱۲**
نسبت وزن کلیه به بدن (درصد)	۳/۲۵ ± ۰/۴۲	۳/۶۷ ± ۰/۲۴	۹/۱۹ ± ۰/۱۸*	۶/۸۹ ± ۰/۴۴##*
قند خون (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۱۱۱/۱۸ ± ۴/۰۹	۱۰۱/۶۲ ± ۵/۳۱	۵۰۷/۳۳ ± ۴/۲۷*	۳۸۸/۷۳ ± ۷/۰۳##*
انسولین خون (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۱۸/۱۸ ± ۰/۳۱	۲۱/۶۱ ± ۰/۴۹	۶/۱۱/ ± ۰/۲۱*	۷/۹۱ ± ۰/۸۳*
کراتینین (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۰/۶۹ ± ۰/۰۲	۰/۷۴ ± ۰/۰۳	۱/۷۳ ± ۰/۰۳**	۱/۲۳ ± ۰/۰۳**
اوره (میلی‌گرم بر دسی‌لیتر)	۲۱/۵۲ ± ۱/۱۲	۲۴/۱۶ ± ۲/۶۱	۳۹/۴۴ ± ۲/۹۱*	۳۵/۴۷ ± ۱/۴۶##**

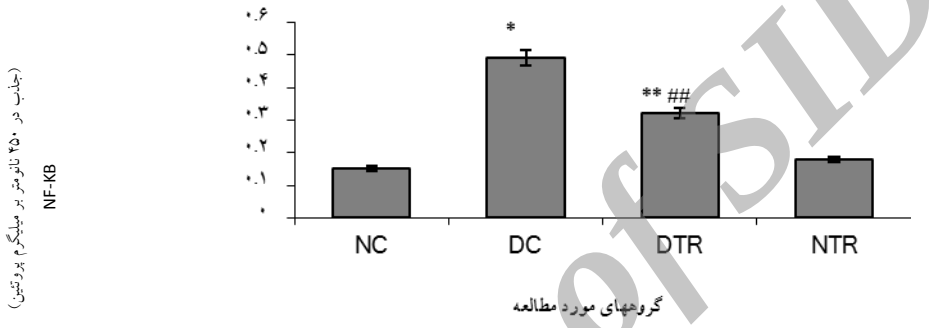
مقادیر بصورت میانگین ±انحراف معیار از ۶ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. علامت * و ** به ترتیب بیانگر $p < ۰/۰۱$ و $p < ۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل سالم و علامت ## بیانگر $p < ۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل دیابتی است.

Archive of SID

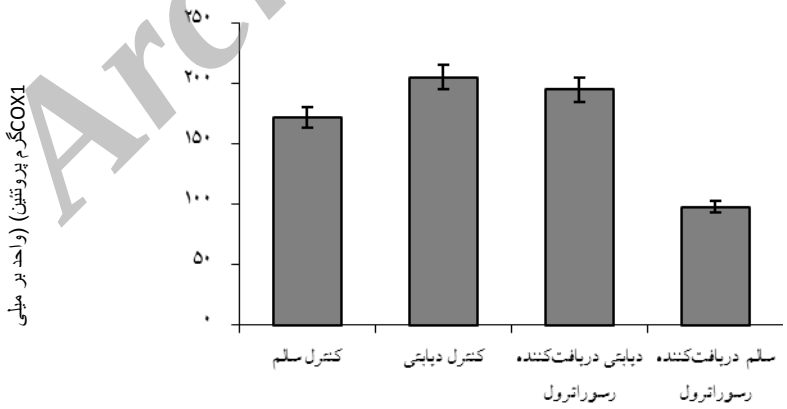
www.SID.ir



نمودار ۱: اثرات تجویز Res بر میزان فعالیت COX_2 در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی و سالم. مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار از ۶ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. علامت ** بیانگر $p<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل سالم (NC) است. NC: گروه کنترل دیابتی، NTR: گروه سالم دریافت‌کننده Res و DTR: گروه دیابتی دریافت‌کننده Res.



نمودار ۲: اثرات تجویز Res بر میزان فعالیت NF-κB در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی و سالم. مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار از ۶ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. علامت * و ** به ترتیب بیانگر $p<۰/۰۱$ و $p<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل سالم (NC) و علامت ## بیانگر $p<۰/۰۵$ نسبت به گروه کنترل دیابتی (NC) است. NTR: گروه سالم دریافت کننده Res و DTR: گروه دیابتی دریافت کننده Res.



نمودار ۳: اثرات تجویز **Res** بر میزان فعالیت **COX_1** در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی و سالم. مقادیر بصورت میانگین ± انحراف معیار از ۶ موش صحرایی در هر گروه بیان شده است. اختصارات مشابه نمودار ۲ می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

ویژگی قلیایی استرپتوزوتوسین باعث شکسته شدن رشته DNA، فعال شدن پلیADP ریبوز سنتتاز، تخلیه نیکوتینامید آدنین دی‌نوکلئوتید (NAD) و نهایتاً نکروز سلول‌های بتای پانکراس در بسیاری از مدل‌های حیوانی می‌گردد (۱۸). تجویز نیکوتینامید (مهارکننده پلیADP ریبوز سنتتاز) باعث محافظت از کاهش NAD و حفظ جزایر پانکراس (تا حدود ۴۰ درصد) از اثرات سمی استرپتوزوتوسین گردیده و نوعی از دیابت شبیه دیابت نوع ۲ انسانی ایجاد می‌کند (۱۸).

ترشح یا عملکرد نامناسب انسولین عمدتاً از طریق افزایش رهایش کبدی گلوکز و کاهش مصرف گلوکز توسط بافت‌های محیطی باعث هایپرگلایسمی می‌گردد. در این وضعیت، بدن مجبور است با تجزیه پروتئین‌ها و چربی‌ها از منابع ذخیره‌ای آنها انرژی مورد نیاز خود را فراهم نماید. در این مطالعه تجویز Res باعث تضعیف فرایند کاهش وزن و هایپرگلایسمی القا شده با دیابت، بدون تغییر سطح انسولین خون گردید که پیشنهادکننده بهبود متابولیسم انرژی طی دیابت می‌باشد. این یافته، با نتایج منتشره از مطالعات قبلی همسو می‌باشد (۲۰و۱۸). در این ارتباط نشان داده شده است که تجویز یک ماهه Res در موش‌های صحرایی دیابتی باعث کاهش غلظت گلوکز و جلوگیری از کاهش وزن بدون تغییر میزان انسولین شده است (۲۲و۲۱و۱۸).

در این مطالعه جهت بررسی آثار دیابت بر کلیه، میزان وزن کلیه، نسبت وزن کلیه به وزن بدن و نیز میزان اوره و کراتینین خون اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اگرچه وزن بدن در گروه‌های کنترل دیابتی و دیابتی دریافت کننده Res از گروه سالم کنترل کمتر بود، اما وزن کلیه‌های آنها و نیز نسبت وزن کلیه به وزن بدن در آنها (که شاخص‌های مناسبی از آسیب کلیه می‌باشند)، بیشتر بود. آثار عملکردی این آسیب نیز بصورت افزایش سطح اوره و کراتینین بویژه در گروه کنترل دیابتی به وضوح قابل مشاهده است. تجویز دراز مدت Res اگرچه باعث کاهش سطح اوره و نسبت وزن کلیه به وزن بدن در گروه دیابتی دریافت کننده Res گردید، اما قادر به جلوگیری از افزایش وزن کلیه‌ها و کراتینین خون نبود. این مشاهده حداقل نشان می‌دهد که هایپرگلایسمی مزمن باعث آسیب کلیوی در هر دو گروه دیابتی دریافت کننده Res و کنترل دیابتی شده است.

در این مطالعه جهت بررسی بخش از مکانیسم آسیب کلیوی ناشی از هایپرگلایسمی، میزان فعالیت NF-κB و نیز میزان فعالیت آنزیم‌های COX_1 و COX_2 اندازه‌گیری شد. یافته‌های ما در این بخش نشان می‌دهد که ۱) تجویز ۴ ماهه Res بطور قابل توجهی از افزایش فعالیت آنزیم COX_2 طی دیابت جلوگیری می‌کند و ۲) اگرچه مصرف Res باعث کاهش میزان فعالیت NF-κB دیابتی دریافت کننده Res گردید، اما سطح فعالیت این فاکتور همچنان بالاتر از مقادیر آن در گروه سالم بود.

مطالعات متعددی در گذشته نشان داده‌اند که Res باعث مهار بیان ژنی و میزان پروتئین آنزیم‌های COX شده‌است (۲۵-۲۳). بعنوان مثال Jang و همکاران گزارش کرده‌اند که Res از طریق مهار آنزیم COX_1 باعث مهار سنتز پروستاگلندین‌ها در فرایندهای سرطانی می‌گردد (۲۶). همچنین، Subbaramaiah و همکاران نشان داده‌اند که مصرف Res بدون تغییر دادن میزان فعالیت COX_1 باعث کاهش میزان فعالیت آنزیم COX_2 در سلول‌های اپی‌تلیال پستانی شده است (۲۵). بعلاوه، Banerjee و همکاران ثابت کردند که تجویز Res از طریق سرکوب NF-κB باعث کاهش فعالیت آنزیم COX_2 و جلوگیری از توسعه سرطان پستان در موش صحرایی می‌گردد (۱۳).

در مطالعه حاضر میزان فعالیت COX_1 طی دیابت و نیز طی دوره ۴ ماهه مصرف Res از نظر آماری تغییر قابل توجهی نداشت اما میزان فعالیت آنزیم COX_2 و نیز میزان فعالیت NF-κB طی دیابت افزایش یافت. تجویز Res باعث جلوگیری از افزایش معنی‌دار آنزیم COX_2 در گروه دیابتی دریافت کننده Res در مقایسه با گروه کنترل سالم گردید. همچنین، اگرچه تجویز Res میزان فعالیت NF-κB را در گروه دیابتی دریافت کننده Res در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش داد، اما همچنان میزان فعالیت NF-κB در مقایسه با گروه کنترل سالم بیشتر بود. این یافته فرضیه اثر مهاری Res بر میزان فعالیت آنزیم COX_2 از طریق سرکوب NF-κB را تایید می‌نماید هرچند که نشان دهنده عدم قدرت کافی Res در مهار کامل NF-κB می‌باشد.

قبلاً نیز گزارش شده است که تجویز کوتاه مدت Res طی دیابت، باعث کاهش فعالیت NF-κB در سطح نسخه‌برداری و یا در سطح پس از نسخه‌برداری شده است (۲۸و۲۷). اما در خصوص اثر Res بر میزان فعالیت آنزیم‌های COX در بافت کلیه در افراد دیابتی، بر حسب آخرین جستجوهای انجام شده، فقط یک مطالعه به انجام چنین مطالعه‌ای در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی پرداخته است (۴). در مطالعه مذکور، Yar و همکاران نشان دادند که مصرف یک ماهه Res (یک ماه پس از القای دیابت) قادر به کاهش فعالیت آنزیم‌های COX نبوده و مطالعه‌ای با دوره طولانی‌تر را پیشنهاد داده است. شاید یک دلیل دیگر در تفاوت نتایج این گروه با نتایج بدست آمده از مطالعه ما به این نکته بازگردد که ما در این تحقیق، یک هفته پس از القای دیابت تجویز Res را آغاز نمودیم (در مقایسه با Yar و همکاران که یک ماه پس از القای دیابت تجویز Res را آغاز نمودند) و ممکن است Res فرصت کافی جهت جلوگیری از توسعه روند افزایش در فعالیت آنزیم COX_2 را داشته باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که تجویز ۴ ماهه Res در رتهای دیابتی، اثرات آنتی هایپرگلایسمیک دارد. بعلاوه، Res باعث کاهش میزان فعالیت NF-κB و نیز فعالیت آنزیم COX_2 در کلیه موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. آثار مفید Res بصورت کاهش میزان اوره خون و نسبت وزن کلیه به وزن بدن که شاخص‌هایی از

Archive of SID

www.SID.ir

آسیب کلیوی هستند، قابل مشاهده بود. بنابراین، از آنجایی که کنترل مناسب قند خون تاثیر زیادی در پیشگیری از عوارض دیابت دارد، و نیز با توجه به ایمن بودن مصرف Res، می‌توان Res را بعنوان یک مکمل در جهت پیشگیری از عوارض کلیوی دیابت در نظر گرفت.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مسئولین دانشگاه آزاد اسلامی (شعبه تبریز) به جهت تامین هزینه اجرای طرح قدردانی می شود.

References

1. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2010; **33** Suppl 1**:** 62-69.
2. Rabinson R, Barathi VA, Chaurasia SS, Wong TY, Kern TS. Update on animal models of diabetic retinopathy: from molecular approaches to mice and higher mammals. *Dis Mod Mech* 2012; **5**: 444-456.
3. Kern TS. Contributions of inflammatory processes to the development of the early stages of diabetic retinopathy. *Exp Diabetes Res* 2007; **2007**: 95-103.
4. Yar AS, Menevse S, Alp E, Helvacioglu F, Take G. The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2 mRNA and protein levels in diabetic rat kidneys. *Mol Biol Rep* 2010; **37**: 2323-3231.
5. Yar AS, Menevse S, Alp E, Helvacioglu F, Take G. The effects of resveratrol on cyclooxygenase-1 and -2, nuclear factor kappa beta, matrix metalloproteinase-9, and sirtuin 1 mRNA expression in hearts of streptozotocin-induced diabetic rats. *Genet Mol Res* 2010; **37**(5): 2323-2331.
6. Sanz AB, Sanchez-Nino MD, Ramos AM, Moreno JA, Santamaria B, Ruiz-Ortega M, et al. NF-κB in Renal Inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2010; **21**: 1254-1262.
7. Yabuki A, Tahara T, Taniguchi K, Matsumoto M, Suzuki S. Neuronal nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 in diabetic nephropathy of type 2 diabetic OLETF rats. *Exp Anim* 2006; **55**(1):17-25.
8. Yabuki A, Taniguchi K, Yamato O. Immunohistochemical examination of cyclooxygenase-2 and renin in a KK-A(y) mouse model of diabetic nephropathy. *Exp Anim* 2010; **59**(4): 479-486.
9. Cohen-Bucay A, Viswanathan G. Urinary Markers of Glomerular Injury in Diabetic Nephropathy. *Int J Nephrol* 2012; **2012**: 1-11.
10. Rains JL, Jain SK. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. *Free Radic Biol Med* 2011; **50**(5): 567-575.
11. Szkudelska K, Szkudelski T. Resveratrol, obesity and diabetes. *Euro J Pharmachol* 2010; **635**(1-3): 1-8.
12. Szewczuk LM, Forti L, Stivala LA, Penning TM. Resveratrol is a peroxidase-mediated in activator of COX-1 but not COX-2. *J Biol Chem* 2004; **279**: 22727–22737.
13. Banerjee S, Bueso-Ramos C, Aggarwal BB. Suppression of 7, 12-dimethylbenz (a) anthracene-induced mammary carcinogenesis in rats by resveratrol: role of nuclear factor kB, cyclooxygenase2, and matrix metalloprotease 9. *Cancer Res* 2002; **62**: 4945–4954.
14. Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. *Biochim Biophys Acta* 2011; **1812**: 719-731.
15. Chang CC, Chang CY, Wu YT, Huang JP, Yen TH, Hung LM. Resveratrol retards progression of diabetic nephropathy through modulation of oxidative stress, proinflammatory cytokines, and AMP-activated protein kinase. *J Biomed Sci* 2011; **18**: 47-57.
16. Vang O, Ahmad N, Baile CA, Baur JA, Brown K, Csiszar A, et al. What is new for an old molecule? Systemic review and recommendations on use of resveratrol. *Plos one* 2011; **6**(6): 19881-19887.
17. Cottart CH, Nivet-Antoine V. Resveratrol bioavailability and toxicity in humans. *Mol Nutr Food Res* 2010; **54**: 7-16.
18. Palsamy P, Subramanian S. Resveratrol, a natural phytoalexin, normalizes hyperglycemia in streptozotocin-nicotinamide induced experimental diabetic rats. *Biomed Pharmacother* 2008; **62**: 598-605.
19. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide, *Diabetes* 1998; **47**: 224-229.
20. Roghani M, Baluchnejadmojarad T. Mechanism's underlying vascular effect of chronic resveratrol in streptozotocin-diabetic rats. *Phytother Res* 2010; **24**: 148-154.
21. Su HC, Hung LM, Chen JK. Resveratrol, a red wine antioxidant, possesses an insulin-like effect in streptozotocin-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinal Metab* 2006; **290**: 1339-1346.
22. Palsamy P, Subramanian S. Ameliorative potential of resveratrol on proinflammatory cytokines, hyperglycemia mediated oxidative stress, and pancreatic β-cell dysfunction in streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic rats. *J Cell Physiol* 2010; **224**: 423-432.
23. Martinez J, Moreno JJ. Effect of resveratrol, a natural Polyphenolic compound, on reactive oxygen species and prostaglandin production. *Biochem Pharmacol* 2000; **59**: 865-870.

Archive of SID

www.SID.ir

24. Fremont L. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* 2000; **66**: 663-673.
25. Subbaramaiah K, Chung WJ, Michaluart P. Resveratrol inhibits cyclooxygenase-2 transcription and activity in phorbol ester-treated human mammary epithelial cells. *J Biol Chem* 1998; **273**: 21875-21882.
26. Juan ME, Vinardell MP, Planas JM. The daily oral administration of high doses of trans-resveratrol to rats for 28 days is not harmful. *J Nutr* 2002; **132**(2): 257-260.
27. Zhang H, Morgan B, Potter BJ, Ma L, Dellsperger KC, Ungvari Z, et al. Resveratrol improves left ventricular diastolic relaxation in type 2 diabetes by inhibiting oxidative/nitrative stress: in vivo demonstration with magnetic resonance imaging. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; **299**: 985-994.
28. Lee JH, Song MY, Song EK, Kim EK, Moon WS, Han MK, et al. Overexpression of SIRT1 protects pancreatic beta-cells against cytokine toxicity by suppressing the nuclear factor-kappaB signaling pathway. *Diabetes* 2009; **58**: 344-351.

Archive of SID

www.SID.ir