

اثر تجویز دراز مدت سیلی مارین بر برخی شاخص‌های آنزیمی و سطح بافتی مالون دی‌آلدئید در موش صحرایی دیابتی

مهرداد روغنی^۱، توراندخت بلوچ‌نژاد مجرد^۲، فرشاد روغنی دهکردی^۳

چکیده

زمینه و هدف: دیابت قندی باعث افزایش استرس اکسیداتیو در اثر افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و کاهش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود. فلاونوئولیگنان سیلی‌مارین دارای اثر ضد دیابتی است و هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی اثر تجویز آن بر سطح سرمی آسپاراتات و آلانین آمینوترانسفراز و سطح مالون دی‌آلدئید در دو بافت قلب و کبد بود.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش صحرایی نر به پنج گروه کنترل، کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، دیابتی و دو گروه دیابتی تحت درمان با سیلی‌مارین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. سیلی‌مارین از روز دهم پس از تزریق استریوتوزوتوسین به مدت ۴ هفته (داخل صفاقی و روزانه) تجویز شد. سطح سرمی آسپاراتات و آلانین آمینوترانسفراز قبل از مطالعه و در انتهای مطالعه سنجش شد؛ به علاوه سطح مالون دی‌آلدئید در دو بافت قلب و کبد بر اساس واکنش تیوباربیتوریک اسید اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در گروه دیابتی دریافت‌کننده دوز بالای سیلی‌مارین، میزان گلوکز سرم در هفته ششم به طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود ($P=0/007$)؛ بعلاوه، در موش‌های دیابتی، یک افزایش معنی‌دار در سطح سرمی آسپاراتات ($P=0/028$) و آلانین آمینوترانسفراز ($P=0/008$) مشاهده شد و درمان با سیلی‌مارین در دوز ۱۰۰، تنها سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز را به صورت معنی‌داری کاهش داد ($P=0/034$)؛ به علاوه دیابت باعث افزایش معنی‌دار سطح مالون دی‌آلدئید در دو بافت قلب ($P=0/009$) و کبد ($P=0/008$) شد و درمان با دوز بالای سیلی‌مارین به صورت معنی‌دار، سطح مالون دی‌آلدئید را فقط در بافت کبد کاهش داد ($P=0/026$).

نتیجه‌گیری: درمان دراز مدت با سیلی‌مارین در دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند، سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز و سطح کبدی مالون دی‌آلدئید را در حالت دیابت قندی در موش صحرایی کاهش دهد و بر سطح سرمی آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز و سطح قلبی مالون دی‌آلدئید در دوز بکار رفته، تأثیر معنی‌دار ندارد.

واژه‌های کلیدی: سیلی مارین، دیابت قندی، آمینوترانسفراز، مالون دی‌آلدئید، استرس اکسیداتیو

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۳۹۱؛ ۱۹(۱): ۱۲-۲۱

دریافت: ۱۳۹۰/۰۷/۰۱ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۱/۲۹

^۱ استاد مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

^۲ نویسنده مسؤول؛ استاد گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

آدرس: تهران - بزرگراه همت - دانشگاه علوم پزشکی تهران - پردیس همت - دانشکده پزشکی - گروه فیزیولوژی

تلفن: ۰۲۱-۸۲۹۴۴۵۷۷ - نمابر: ۰۲۱-۸۸۶۲۲۷۰۹ - پست الکترونیکی: tmojarad@yahoo.com

^۳ دانشیار گروه قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

دیابت قندی از نظر بالینی یکی از مهمترین عوامل خطر برای اختلالات دیگر نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی، و بیماری‌های قلبی-عروقی محسوب می‌شود که بر اساس پیش‌بینی به عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت (۱). بعلاوه، مشکلات قلبی، عروقی و کبدی ناشی از بیماری‌ها بویژه بیماری‌های متابولیک نظیر دیابت قندی، هیپرلیپیدمی و چاقی، درصد بالایی از افراد جامعه را در سنین بالا گرفتار می‌کند و با در نظر گرفتن عادات‌های غذایی نامطلوب که به طور روز افزون در حال گسترش می‌باشد، پیش‌بینی می‌شود شیوع مشکلات قلبی و کبدی در آینده افزایش بیشتری در جامعه نشان دهد که این بار زیادی به سیستم‌های درمانی و بهداشتی تحمیل می‌نماید (۲). از نظر بالینی، حتی در زمان تشخیص، بیماری دیابت به میزان زیادی پیشرفت کرده است که این اهمیت کنترل رژیم غذایی و لزوم استفاده از درمان‌ها و اقدامات پیشگیری‌کننده را به خوبی مشخص می‌نماید. با توجه به این که امکان تغییر برخی ریسک‌فاکتورها شامل جنسیت، سن و سابقه فامیلی عملاً وجود ندارد؛ لذا تغییر دادن سایر ریسک‌فاکتورها از طریق مصرف غذاهای کم‌چرب، کم‌کالری، و سودمند از اهمیت بالینی زیادی برخوردار است (۳،۲)؛ بعلاوه، دیابت در دراز مدت موجب تغییرات بافتی و عملکردی نامطلوب در دو بافت قلب و کبد می‌گردد (۳،۲). دیابت قندی همچنین ارتباط گسترده و نزدیکی با استرس اکسیداتیو ناشی از تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارد. مطالعات مختلفی نشان داده‌اند که افزایش قند خون با افزایش استرس اکسیداتیو همراه می‌باشد و خود این، بسیاری از عوارض بیماری را به دنبال دارد (۴-۶). تشدید استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن، نقش مهمی در ایجاد این عوارض دارد. از نظر بیوشیمیائی، از جمله شاخص‌های بافتی این پدیده‌های مخرب، افزایش سطح دو آنزیم آسپاراتات آمینوترانسفراز و

آلانین آمینوترانسفراز به دنبال آسیب بافت‌های نظیر قلب و کبد در سرم و افزایش سطح بافتی مارکر مالون دی‌آلدئید به عنوان یکی از شاخص‌های معتبر استرس اکسیداتیو می‌باشد (۶-۷). در همین رابطه، به علت تشدید روند پراکسیداسیون لیپیدی در دو بافت قلب و کبد، سطح مالون دی‌آلدئید نیز در این بافت‌ها افزایش می‌یابد.

از طرف دیگر، کاهش دادن استرس اکسیداتیو با استفاده از مواد مؤثره گیاهی با خاصیت آنتی‌اکسیدانتی، دارای اهمیت زیادی می‌باشد (۳). در این خصوص، سیلی مارین به عنوان مهمترین ماده مؤثر گیاه ماریتیغال با نام علمی *Silybum marianum* می‌باشد که از گروهی از عناصر به نام فلاوونو لیگنان‌ها^۱ تشکیل شده است (۸). نتایج مطالعات نشان داده‌اند که سیلی مارین دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانتی قابل توجه بوده و سبب کاهش رادیکال‌های آزاد و مهار پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش فعالیت سوپراکسید دیس موتاز در اریتروسیت‌ها می‌شود. بعلاوه دارای اثرات ضد التهابی بوده؛ سبب مقاومت در برابر تخلیه ذخایر گلوکوتائین شده و به هنگام آسیب پارانشیم کبد، سنتز پروتئین توسط هپاتوسیت‌ها را افزایش می‌دهد (۹، ۱۰). در چندین مطالعه، اثربخشی آن در درمان بیماری کبد الکلی مزمن، سیروز، کبد چرب و هپاتیت‌های ویروسی با ارزیابی مارکرهای متابولیک، بالینی و بافت‌شناسی نشان داده شده است (۱۱)؛ همچنین برخی مطالعات نشان داده‌اند که سیلی مارین دارای اثرات کاهش‌دهندگی کلسترول و قند خون، ضد سرطان‌زایی و تعدیل‌کنندگی ایمنی می‌باشد (۱۲، ۱۳)؛ به نحوی که در بررسی‌های آزمایشگاهی مشخص شده است که سیلی مارین به میزان قابل توجهی جذب کلسترول را کاهش می‌دهد و به تبع آن، سبب کاهش مقادیر کلسترول و *LDL* خون می‌شود و موجب افزایش چشمگیر کلسترول *HDL* خون می‌گردد (۱۴). با توجه به اینکه در حالت دیابت، استرس اکسیداتیو در بافت‌هایی نظیر کبد و قلب افزایش می‌یابد (۲، ۳) و آزاد شدن آنزیم‌های کبدی

¹ Flavonolignans

تجویز شد. برای دیابتی‌نمودن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (سیگما، آمریکا) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت محلول سالین فیزیولوژیک سرد استفاده شد. در روز نهم پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی‌بودن حیوانات، نمونه ادرار خارج‌شده از حیوان با نوار ادراری (شرکت گلوکویاب، تهران) تماس داده شد و وجود قند در ادرار کنترل گردید و فقط حیوانات دیابتی با میزان قند ادرار بالاتر از ۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر که با میزان قند خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، با در نظر گرفتن آستانه فیزیولوژیک ظهور قند در ادرار برابری می‌کند، به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. البته در روزهای بعد، علائم بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز، و کاهش وزن نیز در برخی موش‌ها به تدریج دیده شد. ضمناً کاهش وزن در پایان کار در تمام موش‌ها دیده شد. تعیین میزان وزن و گلوکز سرم در روز سوم قبل از انجام آزمایش و در پایان هفته‌های ۳ و ۶ پس از آزمایش، به انجام رسید. اندازه‌گیری میزان گلوکز سرم، توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) در طول موج ۵۱۰ نانومتر انجام شد.

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی (آنزیمی) سرم

برای به دست آوردن مقادیر سرمی آنزیم‌های کبدی و قلبی شامل آلانین آمینوترانسفراز (*ALT*) و آسپاراتات آمینوترانسفراز (*AST*) از کیت‌های بیوشیمیایی و با توجه به دستورالعمل آنها (زیست شیمی، تهران) و تطبیق دادن نتایج بر روی منحنی استاندارد استفاده گردید.

سنجش سطح مالون دی‌آلدئید بافتی

پس از پایان کار و کشتن حیوان به روش یوتنزی^۱ (کشتن حیوان با رعایت اصول اخلاقی)، قلب و کبد از بدن

و قلبی نظیر آسپاراتات و آلانین آمینوترانسفراز به داخل خون افزایش می‌یابد (۱) و از طرفی سیلی‌مارین دارای اثرات حفاظتی و آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد (۱۰)؛ لذا در این بررسی، اثر تجویز سیلی‌مارین بر سطح سرمی آنزیم‌های آسپاراتات و آلانین آمینوترانسفراز و میزان مالون دی‌آلدئید دو بافت کبد و قلب در موش‌های صحرایی دیابتی‌شده، توسط استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

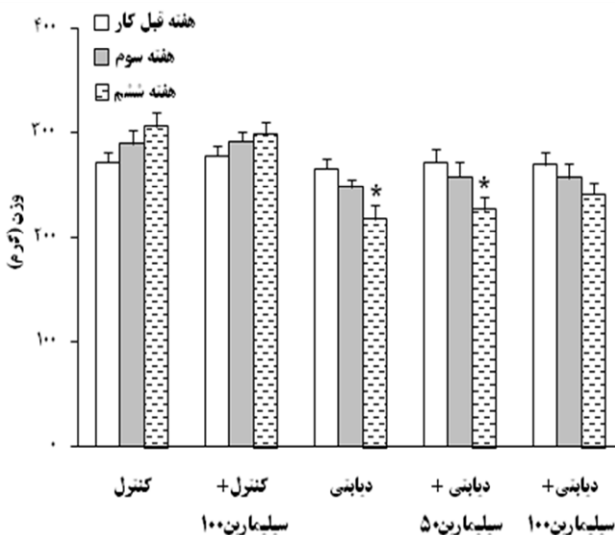
روش تحقیق

در این مطالعه تجربی، از ۴۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۴۰-۳۰۰ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۱-۲۳ درجه سانتی‌گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند. حیوان‌ها آزادانه به آب لوله‌کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) به مدت ۶ هفته دسترسی داشتند. در ضمن، بررسی بر اساس پروتکل‌ها و دستورالعمل‌های توصیه‌شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (*NIH*) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و راهکارهای عملی موجود در داخل کشور به انجام رسید. در این بررسی از آن دسته موش‌های صحرایی نر استفاده شد که در شرایط طبیعی و در حالت ناشتا (به مدت ۱۴ ساعت)، میزان گلوکز سرم آنها کمتر از ۱۳۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود (۱۵). در این خصوص، از شبکه رترواوبیتال و لوله موئینه برای خونگیری استفاده شد. حجم خون اخذ شده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی‌لیتر بود. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی: گروه کنترل، گروه کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین (سیگما، آلمان) (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، گروه دیابتی و دو گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. دوز سیلی‌مارین بر اساس آزمایشات پیلوت و رفرانس‌های موجود انتخاب شد (۱۶). سیلی‌مارین، ۱۰ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین به مدت ۴ هفته (داخل صفاقی و روزانه)

¹ Euthenesia

یافته‌ها

تفاوت معنی‌دار از نظر وزن بین گروه‌ها، در روز سوم قبل از آزمایش مشاهده نشد. گروه کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین، یک افزایش طبیعی در وزن را پس از شش هفته نشان داد؛ هر چند این افزایش وزن کمتر از گروه کنترل بود. در گروه دیابتی در پایان هفته ششم، یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با روز سوم قبل از آزمایش ($P=0/014$) مشاهده گردید. همین وضعیت در مورد گروه دیابتی دریافت‌کننده سیلی‌مارین به میزان ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز وجود داشت؛ از طرف دیگر، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای سیلی‌مارین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دیابتی در پایان هفته ششم در حد معنی‌دار کمتر بود ($P=0/029$) (نمودار ۱)؛ همچنین، تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در خصوص میزان گلوکز سرم در روز سوم قبل از آزمایش یافت نشد. در پایان هفته‌های سوم و ششم، میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین در حد معنی‌دار ($P<0/0005$ تا $P<0/01$) بیشتر از گروه کنترل بود؛ هر چند که با تجویز دوز بالای سیلی‌مارین، میزان گلوکز سرم کاهش بیشتری در این هفته‌ها نشان داد.



نمودار ۱- تغییرات وزن در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با سیلی‌مارین. * $P<0/05$ (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه).

جدا شده و پس از شستشو با محلول سالین سرد و خشک‌نمودن، سریعاً توزین شده و سپس بافت‌ها جداگانه به همراه بافر تریس به مدت ۲ دقیقه با دستگاه هموژنایزر با دور ۵۰۰۰ دور در دقیقه هموژنیزه گردیدند و محلول هموژنیزه‌شده، سانتریفوژ شد. برای جلوگیری از تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها، تمامی مراحل گفته شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد (سانتریفوژ یخچال‌دار) انجام شد. پس از انجام سانتریفوژ، محلول رویی شفاف از بقیه محلول جدا شده، بخش زیرین رسوب‌کرده دور ریخته شد و از محلول شفاف رویی، برای سنجش استفاده شد. اندازه‌گیری سطح مالون دی‌آلدئید MDA بر اساس واکنش تیوباربیتریک اسید و دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) و تطبیق دادن نتایج بر روی منحنی استاندارد انجام شد.

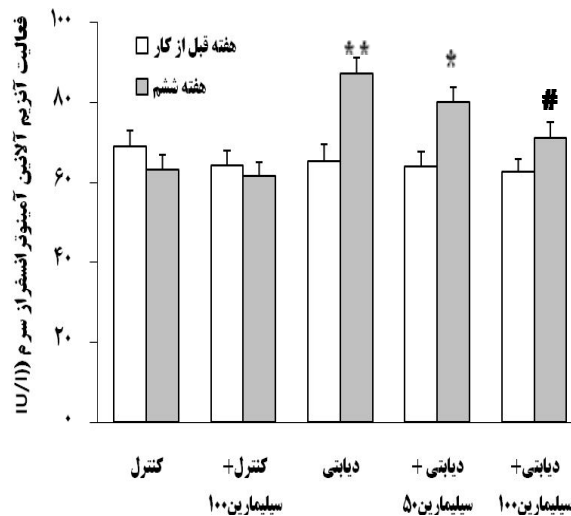
سنجش پروتئین

سنجش پروتئین به روش برادفورد و بر اساس دستورالعمل کیت (سیگما، آمریکا) انجام شد (۱۷).

آنالیز آماری

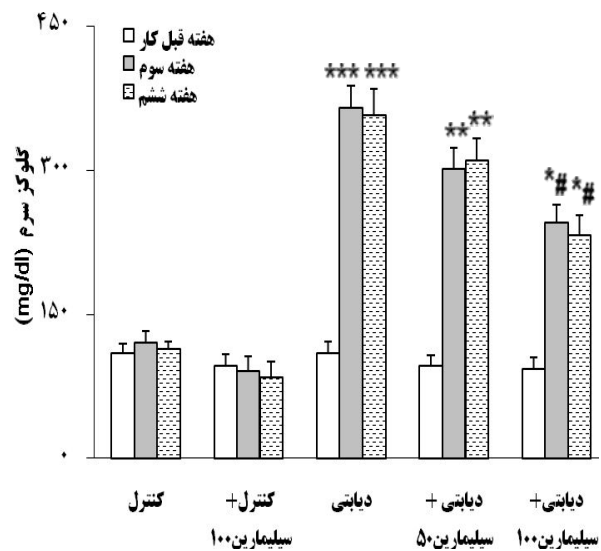
از نظر آماری، تمامی نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. پس از مشخص شدن توزیع پارامتریک داده‌ها (با انجام تست کالموگروو اسمیرنوف)، برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی، از آزمون آنالیز واریانس دوطرفه و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از پرپیوندهای زمانی، از آزمون واریانس یکطرفه و تعقیبی توکی و جهت مقایسه نتایج قبل و بعد در مورد هر گروه، از آزمون تی‌تست زوجی استفاده گردید. به‌علاوه سطح معنی‌دار، $P<0/05$ برای تمامی آنالیزها در نظر گرفته شد. برای انجام آنالیز آماری از نرم‌افزار سیگما استات (نسخه ۳/۵، ۲۰۰۶) استفاده شد.

معنی‌دار ($P=0/008$) در مقایسه با هفته قبل از آزمایش نشان داد. در گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین در دوزهای پائین و بالا نیز میزان افزایش سطح این آنزیم در پایان هفته ششم در مقایسه با گروه دیابتی کمتر بود؛ به طوری که سطح آنزیم در گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کمتر از گروه دیابتی بود که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار بود ($P=0/034$).



نمودار ۳- سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با سیلی‌مارین. $P<0/05$ * و $P<0/01$ ** (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه)، $P<0/05$ # (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته).

بعلاوه، در گروه دیابتی تحت درمان با دوز بالای سیلی‌مارین، میزان گلوکز سرم در پایان هفته‌های سوم و ششم به طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ($P=0/007$). در ضمن، گروه کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین کاهش معنی‌دار این پارامتر را در مقایسه با گروه کنترل نشان نداد (نمودار ۲).

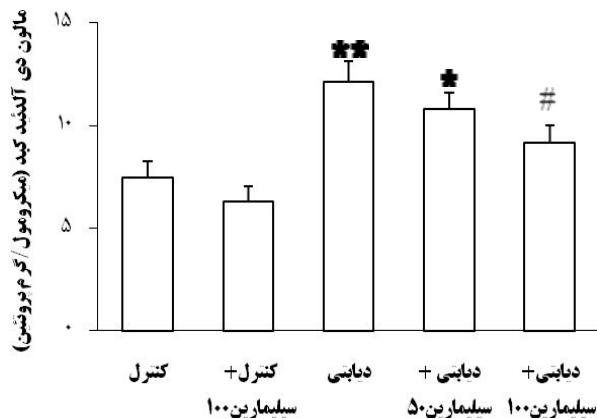


نمودار ۲- تغییرات گلوکز سرم در هفته‌های مختلف در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین. $P<0/01$ *، $P<0/05$ **، $P<0/005$ *** (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه)، $P<0/05$ # (در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته).

سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز (ALT)

با اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه‌های مختلف تحت بررسی در روز سوم قبل از آزمایش و پایان هفته ششم مشخص شد (نمودار ۳) که از نظر آماری در هفته قبل از آزمایش تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نمی‌شود؛ هر چند که سطح این آنزیم در دو گروه دیابتی و کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین، در حد مختصر پایین‌تر از گروه کنترل بود. با بررسی سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در پایان هفته ششم مشخص شد که یک کاهش کم و غیر معنی‌دار در گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی‌مارین وجود دارد. در گروه دیابتی نیز سطح این آنزیم در پایان هفته ششم یک افزایش نسبتاً قابل ملاحظه و معنی‌دار ($P=0/028$) در مقایسه با هفته قبل از کار، در همین

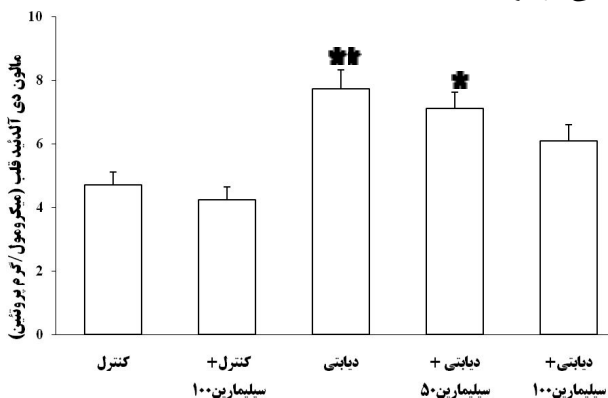
با اندازه‌گیری سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در گروه‌های مختلف تحت بررسی در روز سوم قبل از آزمایش و پایان هفته ششم مشخص شد (نمودار ۳) که از نظر آماری در هفته قبل از آزمایش تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها یافت نمی‌شود؛ هر چند که سطح این آنزیم در دو گروه دیابتی و کنترل تحت تیمار با سیلی‌مارین، در حد مختصر پایین‌تر از گروه کنترل بود. با بررسی سطح آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در پایان هفته ششم مشخص شد که یک افزایش کم و غیر معنی‌دار در گروه‌های کنترل و کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی‌مارین وجود دارد. در گروه‌های دیابتی نیز سطح این آنزیم در پایان هفته ششم یک افزایش نسبتاً قابل ملاحظه و



نمودار ۵- میزان مالون دی آلدئید بافت کبد در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با سیلی مارین $P < 0.05^*$ و $P < 0.01^{**}$ (در مقایسه با گروه کنترل)، #، $P < 0.05$ (در مقایسه با گروه دیابتی).

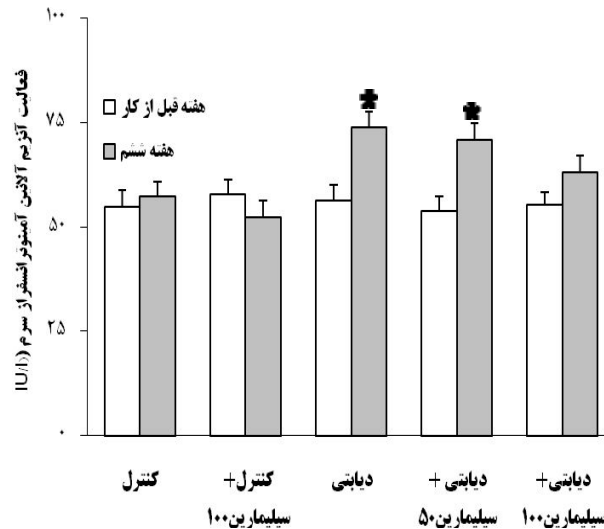
سطح قلبی مالون دی آلدئید (MDA)

با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید در بافت قلب مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین یک کاهش مختصر و غیر معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد (نمودار ۶). در گروه دیابتی در پایان هفته ششم، سطح مالون دی آلدئید یک افزایش قابل ملاحظه و معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P = 0.009$) و در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با دوزهای پائین و بالای سیلی مارین نیز میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به گروه دیابتی کمتر بود؛ هر چند این تفاوت به سطح معنی‌دار نرسید.



نمودار ۶- میزان مالون دی آلدئید بافت قلب در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با سیلی مارین $P < 0.05^*$ و $P < 0.01^{**}$ (در مقایسه با گروه کنترل).

گروه نشان داد و تجویز سیلی مارین به گروه دیابتی در هیچکدام از دوزها نتوانست سطح این آنزیم را در مقایسه با گروه دیابتی بطور معنی‌دار کاهش دهد.



نمودار ۴- سطح آنزیم آسپاراتات آمینو ترانسفراز سرم در موش‌های صحرایی کنترل و دیابتی تیمار شده با سیلی مارین. $P < 0.05^*$ (در مقایسه با هفته قبل کار در همان گروه).

سطح کبدی مالون دی آلدئید (MDA)

با اندازه‌گیری سطح مالون دی آلدئید در گروه‌های مختلف در پایان هفته ششم مشخص شد که این پارامتر در گروه کنترل تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین، یک کاهش مختصر و غیر معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. در گروه دیابتی در پایان هفته ششم، سطح مالون دی آلدئید یک افزایش قابل ملاحظه و معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان داد ($P = 0.008$) و در گروه‌های دیابتی تحت تیمار با دوزهای پائین و بالای سیلی مارین، میزان افزایش مالون دی آلدئید نسبت به گروه دیابتی کمتر بود؛ بعلاوه در گروه دیابتی تحت تیمار با دوز بالای سیلی مارین به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح مالون دی آلدئید در پایان هفته ششم به طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود (نمودار ۵) ($P = 0.026$).

بحث

نتایج این بررسی نشان داد که موش‌های دیابتی یک افزایش معنی‌دار در سطح سرمی آسپاراتات و آلانین آمینوترانسفراز دارند. درمان با سیلی‌مارین در دوز بالا تنها سطح سرمی آلانین آمینوترانسفراز را به صورت معناداری کاهش می‌دهد. دیابت باعث افزایش سطح مالون دی‌آلدئید در بافت قلب و کبد شد و درمان با سیلی‌مارین به صورت معناداری سطح مالون دی‌آلدئید را فقط در بافت کبد کاهش داد.

کاهش کمتر وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با سیلی‌مارین در این بررسی را می‌توان به اثرات هیپوگلیسمیک و ضد دیابتی آن نسبت داد. در همین ارتباط، مطالعه سوتو و همکاران (۲۰۰۳) بر روی اثر سیلی‌مارین در رابطه با عملکرد پانکراس در حیوانات دیابتی نشان داد که این فلاونولیکتان در جهت محافظت بافت پانکراس در برابر عوامل آسیب‌رسان عمل نموده و از این طریق اثرات هیپوگلیسمیک خود را اعمال می‌کند (۱۰). احتمالاً در بررسی حاضر بخشی از اثرات سیلی‌مارین بر کاهش قند خون موش‌های دیابتی را می‌توان به این مورد نسبت داد؛ بعلاوه، فلاونوئیدهای نظیر سیلی‌مارین مشتق از گیاه ماریتیغال می‌توانند از طریق تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی مسؤول متابولیسم کربوهیدرات‌ها از جمله کاهش فعالیت آنزیم فسفریلاز کبدی و افزایش فعالیت گلوکوکیناز و گلیکوژن سنتاز در جهت کاهش قند خون و برگشت وزن به حد طبیعی عمل نمایند (۱۲). البته، با توجه به اینکه در بررسی حاضر، مدل دیابت قندی با استفاده از داروی سیتوتوکسیک استرپتوزوتوسین ایجاد گردید که موجب ایجاد دیابت نوع ۱ با عوارض بیوشیمیایی جدی‌تر می‌گردد و سطح انسولین در آن به علت فقدان سلول‌های مترشحه انسولین به حداقل می‌رسد (۱)؛ لذا اثرات سودمند سیلی‌مارین بر سطح گلوکز خون را می‌توان عمدتاً به اثرات خارج پانکراسی آن از جمله تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی در مسیرهای متابولیسم کربوهیدرات‌ها و لیپیدها و بهبود مصرف این مواد در دو بافت

چربی و عضلانی نسبت داد. بر اساس نتایج تحقیقات انجام شده، بخشی از عوارض بیماری‌های متابولیک نظیر دیابت قندی به علت تشدید استرس اکسیداتیو می‌باشد (۱۸۶). در این رابطه، به دنبال بروز دیابت قندی و با گذشت زمان، میزان استرس اکسیداتیو در نواحی بافتی افزایش می‌یابد که این موجب بالا رفتن سطح برخی مارکرها می‌شود که بهترین آنها، میزان مالون دی‌آلدئید بافتی می‌باشد (۶). با توجه به اینکه استرس اکسیداتیو به علت تشدید تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد، این موجب آسیب اجزاء شیمیایی سلول از جمله ساختارهای پروتئینی و لیپیدی می‌شود که این موجب آزاد شدن یکسری آنزیم‌ها به داخل خون می‌گردد که در این رابطه سطح برخی آنزیم‌های بافتی مربوط به کبد و قلب نظیر آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز در داخل خون افزایش می‌یابد (۱۹)؛ همچنین، مطالعات مختلف نشان داده‌اند که افزایش قند خون در دیابت یکی از علل اصلی افزایش استرس اکسیداتیو می‌باشد (۵). در بررسی حاضر نیز افزایش سطح این آنزیم‌ها در سرم موش‌های دیابتی و افزایش سطح بافتی مالون دی‌آلدئید مشاهده شد که این با گزارش‌های قبلی همخوانی دارد (۵، ۱۹).

در این بررسی، تجویز سیلی‌مارین در دوز بالا به میزان ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش سطح استرس اکسیداتیو و کاهش سطح سرمی آنزیم آلانین آمینوترانسفراز در بافت کبد گردید. بخشی از اثرات سودمند سیلی‌مارین در تحقیق حاضر را می‌توان به اثرات کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو آن، به علت دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانتی و تقویت‌کنندگی سیستم حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن نسبت داد (۸-۱۰). در این خصوص نشان داده شده که برخی فلاونوئیدها نظیر سیلی‌مارین می‌توانند موجب افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها در بدن و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی گردند (۱۰) که بدین ترتیب می‌توانند کاهش پراکسیداسیون لیپیدی را به دنبال داشته باشند (۸) که این خود می‌تواند کاهش سطح مالون دی‌آلدئید در بافت کبد و

۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند سطح سرمی آنزیم آلانین آمینو ترانسفراز و همچنین سطح کبدی مالون دی‌آلدئید را کاهش دهد و بر سطح سرمی آنزیم آسپارات آمینو ترانسفراز و سطح قلبی مالون دی‌آلدئید در دوز بکار رفته تأثیر معنی‌دار ندارد. اندازه‌گیری سطح فعالیت آنزیم‌های دفاعی نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیس موتاز و سنجش سطح بافتی آنتی‌اکسیدانت‌های طبیعی نظیر گلوکوتایون در رابطه با اثرات سودمند سیلی‌مارین در حالت دیابت و همچنین اثر بخشی دوزهای بالاتر دارو در مطالعات آتی توصیه می‌شود.

تقدیر و تشکر

مقاله حاضر با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه شاهد انجام شده است و نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات اعلام می‌دارند.

سطح سرمی آلانین آمینو ترانسفراز در بررسی حاضر را نیز تا حدی توجیه نماید. بخش دیگر از اثر سودمند سیلی‌مارین در بررسی حاضر را می‌توان به اثر هیپوگلیسمیک آن نسبت داد که این از طریق کاهش دادن سطح محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون (*advanced glycosylation end-products*) موجب کاهش استرس اکسیداتیو و نشانه‌های آن از جمله مالون دی‌آلدئید در نواحی بافتی می‌گردد (۱۲). در این رابطه مشخص شده است که افزایش گلوکز خون در دراز مدت موجب تشدید روند پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های هدف می‌گردد که این منتهی به افزایش تولید محصولات آن نظیر مالون دی‌آلدئید می‌گردد (۱)؛ به همین خاطر ترکیبات با خاصیت هیپوگلیسمیک می‌توانند از شدت استرس اکسیداتیو در بافت‌های بدن بکاهند (۳).

نتیجه‌گیری

به طور خلاصه، درمان دراز مدت با سیلی‌مارین در دوز

منابع:

- 1- Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes Mellitus: Complications and therapeutics. *Med Sci Monit.* 2006; 12(7): RA130-47.
- 2- Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol.* 2003; 49(4): 635-9.
- 3- Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharm Assoc(Wash).* 2002; 42(2): 217-26.
- 4- Pitocco D, Zaccardi F, Di Stasio E, Romitelli F, Santini SA, Zuppi C, et al. Oxidative stress, nitric oxide, and diabetes. *Rev Diabet Stud.* 2010; 7(1): 15-25.
- 5- Descorbeth M, Anand-Srivastava MB. Role of oxidative stress in high-glucose- and diabetes-induced increased expression of Gq/11alpha proteins and associated signaling in vascular smooth muscle cells. *Free Radic Biol Med.* 2010; 49(9): 1395-405.
- 6- Chang YC, Chuang LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transl Res.* 2010; 2(3): 316-31.
- 7- Pazdro R, Burgess JR. The role of vitamin E and oxidative stress in diabetes complications. *Mech Ageing Dev.* 2010; 131(4): 276-86.
- 8- Hale Z, Tunalı T, Erkanlı G, Yüksel M, Ercan F, Şener G. Silymarin, the antioxidant component of *Silybum marianum*, protects against burn-induced oxidative skin injury. *Burns.* 2007; 33(7): 908-16.
- 9- Láng I, Deák G, Nékám K, Müzes G, González-Cabello R, Gergely P, et al. Hepatoprotective and immunomodulatory effects of antioxidant therapy. *Acta Med Hung.* 1988; 45(3-4): 287-95.
- 10- Soto C, Recoba R, Barrón H, Alvarez H, Favari L. Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. *Comp Biochem Physiol.* 2003; 136(3): 205-12.

- 11- Flora k, Hahn M, Rosen H, Benner K. Milk thistle (*Silybum marianum*) for the therapy of liver disease. *Am J Gastroenterol*. 1998; 93(2): 139-43.
- 12- Abascal K, Yarnell E. The many faces of *Silybum marimum*. *Alternat Complement Ther*. 2003; 9(4): 170-5.
- 13- Sharma DK, Hall IH. Hypolipidemic, anti-inflammatory and antineoplastic activity and cytotoxicity of flavonolignans isolated from *Hydnocarpus wightiana* seeds. *J Nat Prod*. 1991; 54(5): 1298-302.
- 14- Sobolová L, Škottová N, Večeřa R, Urbánek K. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. *Pharmacol Res*. 2006; 53(2): 104-12.
- 15- Sedaghat R, Roghani M, Ahmadi M, Ahmadi F. Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effect of *Rumex patientia* seed preparation in streptozotocin-diabetic rats. *Pathophysiology*. 2011; 18(2): 111-5.
- 16- Shaker ME, Shiha GE, Ibrahim TM. Comparison of early treatment with low doses of nilotinib, imatinib and a clinically relevant dose of silymarin in thioacetamide-induced liver fibrosis. *Eur J Pharmacol*. 2011; 670(2-3): 593- 600.
- 17- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976; 72: 248-54.
- 18- Yanardag R, Bolkent S, Ozsoy-Sacan O, Karabulut-Bulan O. The effect of chard (*Beta vulgaris* L. var. *cicla*) extract on the kidney tissue, serum urea, and creatinine levels of diabetic rats. *Phytother Res*. 2002; 16(8): 758-61.
- 19- Salmela PI, Sotaniemi EA, Niemi M, Maentausta O. Liver function tests in diabetic patient. *Diabetes care*. 1984; 7(3): 248-54.

The effect of chronic silymarin on serum level of some enzyme markers and tissue level of malondialdehyde in diabetic rats

M. Roghani¹, T. Baluchnejadmojarad², F. Roghani Dehkordi³

Background and Aim: Diabetes mellitus causes enhanced oxidative stress due to increased production of oxygen free radicals and decreased activity of antioxidant defense system. Flavonolignan Silymarin has an antidiabetic effect. This study was conducted to evaluate the effect of its chronic administration on serum levels of aspartate and alanine aminotransferase; and the heart and liver level of malondialdehyde.

Materials and Methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats were divided into 5 equal groups, i.e. control, Silymarin -treated control (100 mg/kg), diabetic, and two Silymarin- treated diabetic groups (50 and 100 mg/kg). Silymarin was daily administered (i.p.) to each of the group members ten days after streptozotocin injection for 4 weeks. Serum levels of aspartate and alanine aminotransferase were measured both before and at the end of the study. In addition, level of malondialdehyde (MDA) was measured in the liver and the heart tissues on the basis of the reaction of thiobarbituric acid.

Results: Serum glucose level in high dose Silymarin-treated diabetic group was significantly lower as compared to diabetics in the sixth week ($P=0.007$). Moreover, diabetic rats showed a significant increase in their aspartate serum level ($P=0.028$) and alanine aminotransferase ($P=0.008$) and Silymarin treatment only significantly reduced serum level of alanine aminotransferase ($P=0.034$). In addition, diabetes was followed by increased level of MDA in the liver ($P=0.008$) and the heart ($P=0.009$) tissues and high-dose Silymarin treatment significantly reduced MDA level only in the liver tissues ($P=0.026$).

Conclusion: Long-term treatment with silymarin at a dose of 100 mg/kg can attenuate serum level of alanine aminotransferase and hepatic MDA level and does not have any significant effects on serum level of aspartate aminotransferase and cardiac tissue level of MDA in the administered doses.

Key Words: Silymarin, Diabetes mellitus, Aminotransferase, Malondialdehyde, Oxidative stress

Journal of Birjand University of Medical Sciences. 2012; 19 (1):12-21

Received: Friday, September 23, 2011 Accepted: Tuesday, April 17, 2012

¹ Dept. Physiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran.

² Corresponding Author; Dept. Physiology, School of Medicine, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
tmojarad@yahoo.com

³ Dept. Cardiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran