مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی هفدهم، شماره‌ی ۲، صفحه‌های ۱۳۷ ـ ۱۲۹ (خرداد ـ تیر ۱۳۹۴)

مقاله‌ی پژوهشی

تاثیر تجویز خوراکی نیترات بر آسیب قلبی در موش‌های صحرایی با دیابت نوع ۲

سجاد جدی[۱]، سعیده خلیفی[۲]، جلال زمان[۱]، محبوبه قنبری[۱]، دکتر اصغر قاسمی[۱]

۱) مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، ۲) گروه بیوشیمی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** تهران، ولنجک، خیابان یمن، خیابان پروانه، مرکز تحقیقات فیزیولوژی غدد، پژوهشکده علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم، دکتر اصغر قاسمی؛
e-mail: Ghasemi@endocrine.ac.ir

چکیده

مقدمه: بیماری‌های قلبی ـ عروقی از مهم‌ترین عوارض دیابت هستند که در نهایت موجب مرگ و میر بیش از ۵۰ درصد افراد مبتلا می‌شوند. نیترات اثرات حفاظتی در بیماران قلبی دارد، ولی تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر درمان با نیترات در آسیب قلبی ناشی از دیابت گزارش نشده است. هدف این مطالعه بررسی اثر درمان با نیترات بر آسیب قلبی موش صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۲ بود. مواد و روش‌ها: ۳۲ سر موش صحرایی ویستار به ۴ گروه ۸ تایی، شامل کنترل، کنترل+ نیترات، دیابت و دیابت + نیترات تقسیم شدند. دیابت با تزریق نیکوتین آمید (۹۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۱۵ دقیقه قبل از تزریق استرپتوزوسین (۶۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) ایجاد شد. نیترات سدیم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲ ماه) در گروه‌های کنترل+ نیترات و دیابت+نیترات به آب آشامیدنی اضافه شد. متابولیت‌های اکسید نیتریک یعنی نیترات + نیتریت (NOX)، CK-MB و LDH در سرم در شروع و انتهای آزمایش و مالونیل دی آلدئید (MDA) در قلب موش‌های صحرایی در انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد. یافته‌ها: درمان با نیترات در موش‌های دیابتی موجب افزایش NOX سرم (۱/۴±۳۱/۳ در مقابل ۰/۹±۴۲/۲ میکرومول در لیتر، P<۰/۰۵)، کاهش MDA قلب (۰/۸±۹/۸ در مقابل ۰/۵±۶/۴ میکرومول در لیتر، P<۰/۰۵) و کاهش سطح سرمی CK-MB (۲۹/۷±۴۷۱/۰ در مقابل ۱۰/۳±۲۸۴/۹ واحد در لیتر P<۰/۰۵) و LDH (۲۱/۹±۷۹۱/۶ در مقابل ۱۳/۱±۴۹۷/۸ واحد در لیتر، P<۰/۰۵) گردید. نتیجه‌گیری: درمان با نیترات از طریق افزایش اکسید نیتریک و کاهش استرس اکسیداتیو موجب حفاظت از قلب در برابر آسیب‌های ناشی از دیابت نوع ۲ در موش صحرایی می‌گردد.

واژگان کلیدی: نیترات، آسیب قلبی، دیابت، کراتین کیناز، لاکتات دهیدروژناز، موش صحرایی
دریافت مقاله: ۹۳/۹/۴ـ دریافت اصلاحیه: ۹۴/۲/۲۷ ـ پذیرش مقاله: ۹۴/۲/۲۹

مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های غدد درون‌ریز است که شیوع آن از ۱۵۰ میلیون نفر در سال ۲۰۰۲ به ۵۹۲ میلیون نفر در سال ۲۰۳۵ خواهد رسید.[۱،۲] در ایران، حدود ۲۴ درصد از افراد بالای ۴۰ سال دچار بیماری دیابت هستند.[۳] دیابت بر بسیاری از اعضای بدن اثر سوء دارد و منجر به ایجاد عوارض قلبی ـ عروقی می‌شود که مسئول بیش از ۵۰ درصد از مرگ و میر ناشی از دیابت هستند.[۴،۵]

آنزیم‌های سیتوزولی مانند لاکتات دهیدروژناز (LDH)[i] و و کراتین کیناز (CK)[ii] به دنبال آسیب غشای سلول از بافت بافت آسیب‌دیده به خون نشت می‌کنند و به عنوان شاخص‌های تشخیصی در آسیب سلولی مورد استفاده قرار می‌گیرند.[۴،۶،۷] دیابت موجب افزایش استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب غشای سلول می‌گردد. آنزیم‌های آزاد شده از سلول‌های قلبی یعنی CK-MB و LDH در

i- Lactate dehydrogenase
ii- Creatine kinase

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

سرم مبتلایان به دیابت افزایش پیدا می‌کنند و به عنوان شاخص نکروز قلبی و انفارکتوس میوکارد مورد استفاده قرار می‌گیرند.[۶-۸]

در دیابت، در دسترس بودن اکسید نیتریک (NO)[i] سرمی سرمی کاهش می‌یابد که ممکن است از علل ایجادکننده‌ی عوارض قلبی در افراد دیابتی باشد.[۹،۱۰] در سال ۱۹۹۴، لاندبرگ[ii] و همکارانش گزارش کردند که NO علاوه بر مسیر کلاسیک که از ال-آرژینین تولید می‌شود، در مسیری جدید از نیترات و نیتریت هم تولید می‌شود. این گزارش باعث ایجاد تردید در ایده‌ی قدیمی مبنی بر مضر بودن نیترات و نیتریت شد و اکنون مشخص شده است که این مواد به عنوان سیستم پشتیبان برای تولید موثر NO در بدن به خصوص در زمان‌های کاهش NO عمل می‌کنند.[۱۱-۱۵] اگرچه گزارش-هایی در مورد بروز هایپرگلایسمی و دیابت نوع ۱ در دوزهای بالای مصرف نیترات وجود دارد،[۱۶،۱۷] اما نقش مفید درمان با نیترات و نیتریت در کاهش فشار خون، کاهش استرس اکسیداتیو، کاهش مصرف اکسیژن در زمان ورزش و کاهش چربی خون در موش‌هایی که فاقد ژن eNOS[iii] بودند، نشان داده شده است.[۱۳،۱۸] درمان با نیترات سدیم با دوز کم (۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر) موجب جلوگیری از افزایش گلوکز خون و فشار خون، بهبود تحمل گلوکز و بهبود اختلال لیپیدی در مدل حیوانی مبتلا به هایپرگلایسمی می‌شود.[۱۹] هدف این مطالعه، بررسی نقش درمانی نیترات سدیم بر سطح سرمی NOX، CK-MB و LDH و سطح قلبی MDA[iv] (شاخص لیپید پراکسیداسیون) در موش‌های صحرایی با دیابت نوع ۲ بود.

مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی نر از نژاد ویستار[v] در حیوان‌خانه‌ی پژوهشکده‌ی علوم غدد درون‌ریز و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی در دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی روشنایی ـ تاریکی ۱۲ ساعته نگه‌داری شدند. استانداردهای لازم اخلاقی در مورد روش کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

i- Nitric oxide
ii -Lundberg
iii- Endothelial nitric oxide synthase
iv- Malonyldialdehyde
v -Wistar

گروه‌بندی حیوانات

حیوانات به ۴ گروه ۸ تایی تقسیم شدند: ۱) گروه کنترل که آب آشامیدنی معمولی دریافت کردند، ۲) گروه دیابت نوع ۲ که آب آشامیدنی معمولی دریافت کردند، ۳) گروه کنترل+نیترات که آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سدیم به مدت ۲ ماه دریافت کردند و ۴) گروه دیابت+ نیترات که آب آشامیدنی حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر نیترات سدیم به مدت ۲ ماه دریافت کردند.

روش دیابتی کردن

دیابت نوع ۲ براساس مدل Masiello و همکارانش با تزریق داخل صفاقی نیکوتین آمید[vi] (۹۵ میلی‌گرم به ازای هر هر کیلوگرم وزن بدن)، ۱۵ دقیقه قبل از تزریق داخل صفاقی استرپتوزوسین[vii] (۶۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) القاء شد.[۲۰،۲۱] در نمودار ۱، نمای کلی از مراحل اجرای کار نشان داده شده است. در روز صفر، حیوانات به طور تصادفی به ۲ گروه کنترل و دیابتی تقسیم شدند و القای دیابت در گروه‌های دیابتی صورت گرفت. در روز ۱۰ برای تایید القاء دیابت، قند خون موش‌های صحرایی اندازه‌گیری شد و گلوکز بالای ۱۸۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر معیار ابتلا دیابت در نظر گرفته شد.[۲۱] گروهای دیابتی به ۲ گروه دیابت و دیابت+ نیترات و گروه‌های کنترل به ۲ گروه کنترل و کنترل+ نیترات تقسیم شدند. از روز ۱۰، درمان با نیترات سدیم در ۲ گروه کنترل+نیترات و دیابت+ نیترات شروع شد و به مدت ۲ ماه ادامه پیدا کرد. خون‌گیری در روزهای صفر (قبل از دیابتی کردن حیوانات)، ۱۰ و ۷۰ برای اندازه‌گیری گلوکز خون و در روز صفر و ۷۰ برای اندازه‌گیری NOX، CK-MB و LDH از دم حیوانات انجام شد. نمونه‌ی بافت قلبی در روز ۷۰ برای اندازه‌گیری MDA گرفته شد. وزن حیوانات در روزهای صفر، ۱۰ و ۷۰ اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری NOX

برای اندازه‌گیری NOX از روش رنگ‌سنجی گریس استفاده شد.[۲۲] برای پروتئین‌زدایی، سولفات روی[viii] (۱۵ گرم در میلی‌لیتر) به نمونه‌های سرمی اضافه شد و پس از مخلوط کردن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه

vi- Nicotinamide
vii -Streptozotocin
viii- zinc sulfate

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

سانتریفوژ شدند. سپس به ۱۰۰ میکرولیتر از محلول بالایی، ۱۰۰ میکرولیتر وانادیوم کلرید III [i] (۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد تا نیترات را به نیتریت احیا کند. سپس، محلول گریس شامل ۵۰ میکرولیتر سولفانیل آمید[ii] (۲ درصد) و ۵۰ میکرولیتر اتیلین دی آمید دی هیدروکلرید[iii] (۰/۱ درصد) اضافه گردید و ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شد. رنگ به دست آمده در طول موج ۵۴۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد (۰ تا ۱۰۰ میکرومولار نیترات سدیم)، غلظت نمونه‌ها محاسبه شد. همه‌ی اندازه‌گیری‌ها در یک مرحله انجام شد و ضریب تغییرات درون آزمونی ۳/۷ درصد بود.

اندازه‌گیری سطح سرمی CK-MB و LDH

برای اندازه‌گیری سطح سرمی CK-MB و LDH در روز صفر و ۷۰، نمونه‌ی خون از حیوانات گرفته شد. CK-MB سرم با روش رنگ‌سنجی شیمیایی اندازه‌گیری شد و برحسب واحد در لیتر بیان شد؛ حساسیت این روش ۱ واحد در لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی ۲/۳ درصد بود (کیت رنگ‌سنجی CK-MB، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران). LDH سرم با روش رنگ‌سنجی آنزیمی اندازه‌گیری شد و برحسب واحد در لیتر بیان شد؛ حساسیت این روش ۵ واحد در لیتر و ضریب تغییرات درون آزمونی ۳/۱ درصد بود (کیت رنگ‌سنجی LDH، شرکت پارس آزمون، تهران، ایران).

اندازه‌گیری MDA قلب

سطح MDA، به عنوان شاخص آسیب سلولی و منعکس‌کننده‌ی پراکسیـــداسیون لیپیدی، توسط روش Oshawa در قلب موش‌های صحرایی در انتهای آزمایش اندازه‌گیری شد.[۲۳] به طور خلاصه، نمونه‌های قلبی از موش‌های صحرایی گرفته شد و بافت‌ها در قطعات کوچک برش داده شده و دربافر پرفیوژن (بافر فسفات سالین PBS[iv]) با نسبت وزنی ـ حجمی ۵ به ۱ هوموژن شدند. هوموژن بافتی به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد و از محلول بالایی برای اندازه‌گیری MDA استفاده شد. ابتدا، ۲/۵ میلی‌لیتر از اسید تری‌کلرواستیک (TCA)[v] (۲۰ درصد) به ۰/۵ میلی‌لیتر از نمونه اضافه شد، سپس ۱ میلی‌لیتر محلول اسید تری‌باربیتوریک (TBA)[vi] (۶۷ درصد) اضافه شد. محلول حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از سرد شدن محلول، ۴ میلی‌لیتر ان-بوتانول[vii] به آن اضافه شد و پس از تکان دادن شدید به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. جذب لایه‌ی بالایی در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت نمونه‌ها محاسبه شد. ضریب تغییرات درون آزمونی ۴/۳ درصد بود.

تحلیل آماری

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزارSPSS ویرایش ۲۰ انجام شد. داده‌های کمی به صورت میانگین± انحراف معیار بیان شده‌اند. به منظور مقایسه‌ی NOX، CK-MB و LDH سرمی در روز صفر و ۷۰ و MDA قلبی در روز ۷۰ بین گروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. به منظور مقایسه‌ی NOX، CK-MB و LDH سرمی بین روزهای صفر و ۷۰ در گروه‌های مختلف از آزمون تی زوج استفاده شد. p کمتر از۰/۰۵ معیار معنی‌دار بودن تفاوت‌ها تلقی گردید.

یافته‌ها

وزن حیوانات و قند خون در روز صفر تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نداشت. همان‌گونه که در جدول ۱ مشاهده می‌شود در مقایسه با گروه کنترل، موش‌های صحرایی دیابتی افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در گلوکز خون و کاهش معنی‌داری (P<۰/۰۵) در وزن را در انتهای مطالعه نشان دادند.

در روز صفر، سطح سرمی NOX تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نداشت (نمودار ۲). در روز ۷۰، سطح سرمی NOX گروه دیابتی به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود (P<۰/۰۵). مصرف ۲ ماه نیترات سدیم در گروه دیابت+ نیترات، مانع کاهش سطح سرمی NOX شد. نتایج مشابهی در سطح سرمی CK-MB و LDH مشاهده شد، به طوری‌که در روز صفر، سطح سرمی CK-MB و LDH تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها نداشت (نمودار ۳ و ۴) و در روز ۷۰، در گروه دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل بالاتر بود (P<۰/۰۵). مصرف ۲ ماه نیترات سدیم در گروه

i -vanadium (III) chloride
ii -sulfanilamide
iii -N-1-(naphthyl) ethylenediamine
iv -Phosphate buffered saline
v -Trichloroacetic
vi -Thiobarbituric acid
vii- n-butanol

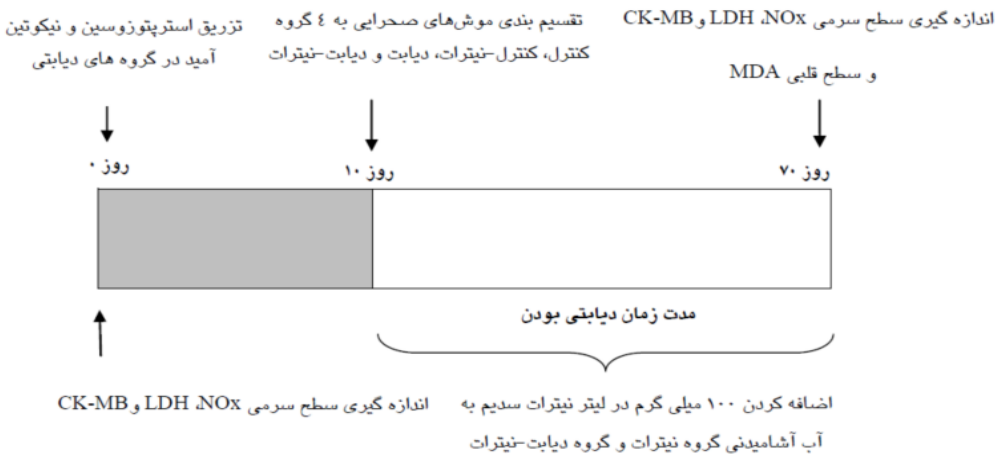
[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

دیابت+نیترات، سطح سرمی CK-MB و LDH را به صورت معنی‌داری نسبت به گروه دیابت کاهش داد (P<۰/۰۵).

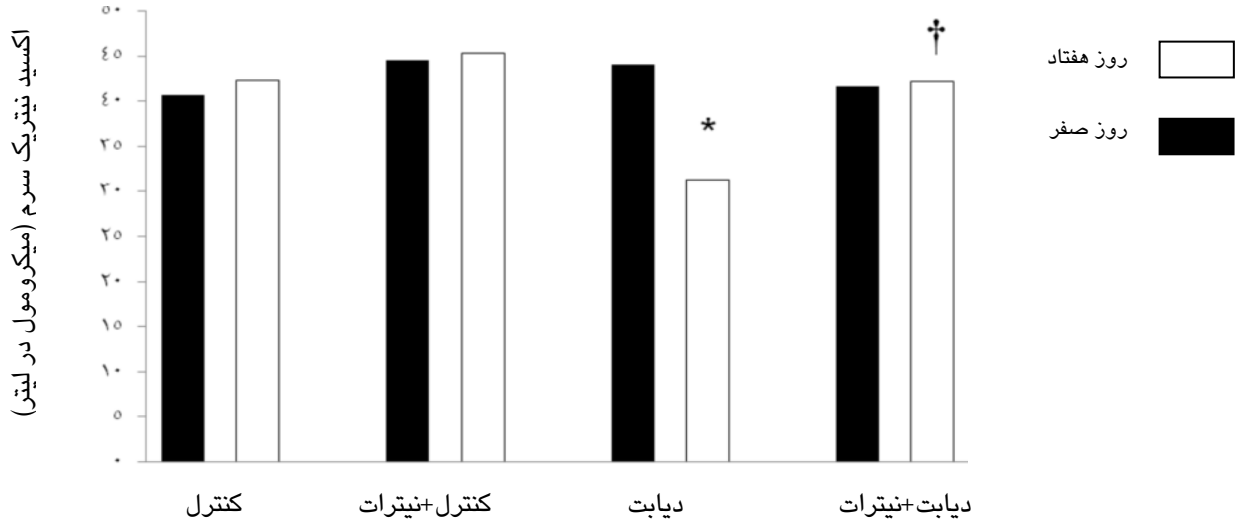
جدول ۱- میانگین (± انحراف معیار) وزن و قند خون در گروه‌های مختلف (تعداد= ۸ در هر گروه) در روز ۱۰ و ۷۰

	روز	کنترل	دیابت	کنترل+نیترات	دیابت+نیترات
وزن (گرم)	۱۰	۲۱۲/۷±۴/۲	۲۰۲/۹±۷/۸	۲۱۰/۳±۲/۹	۲۰۰/۳±۵/۲
	۷۰	۳۳۱/۷±۱۳/۷	۲۹۳/۷±۱۲/۳*	۳۲۷/۰±۴/۹	۲۵۷/۷±۱۵/۴
قند خون ناشتا (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۱۰	۸۲/۶±۴/۵	۱۹۶/۸±۴/۳*	۷۹/۲±۰/۸	۲۲۰/۲±۳۸/۳
	۷۰	۸۳/۳±۶/۱	۳۲۱/۱±۳۱/۷*	۷۸/۳±۴/۸	۲۵۱/۶±۲۸/۱

* تفاوت با گروه کنترل، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.



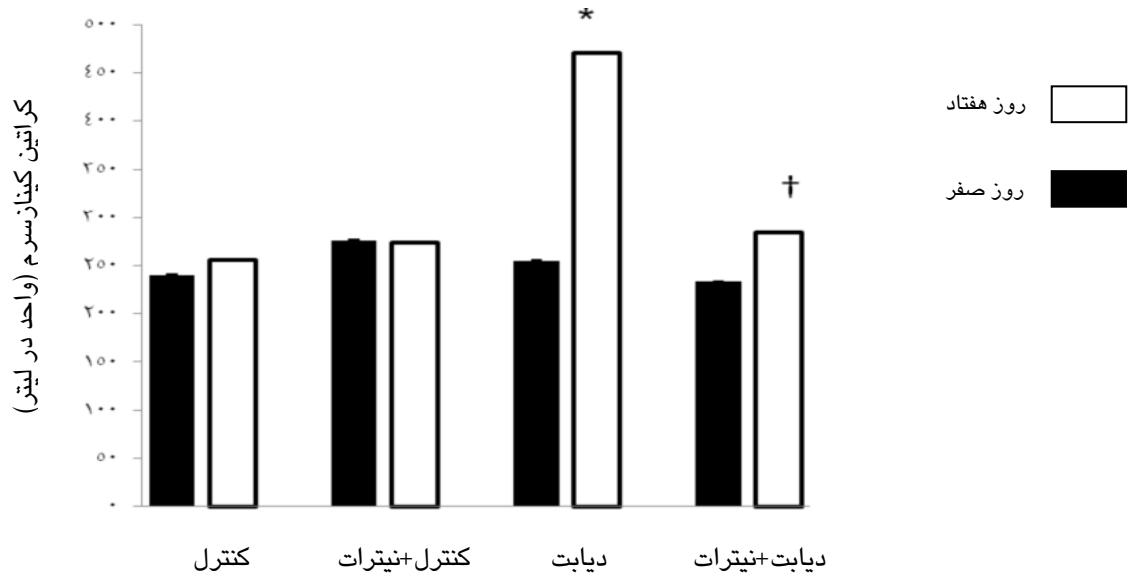
نمودار ۱- نمای کلی از مراحل اجرای کار



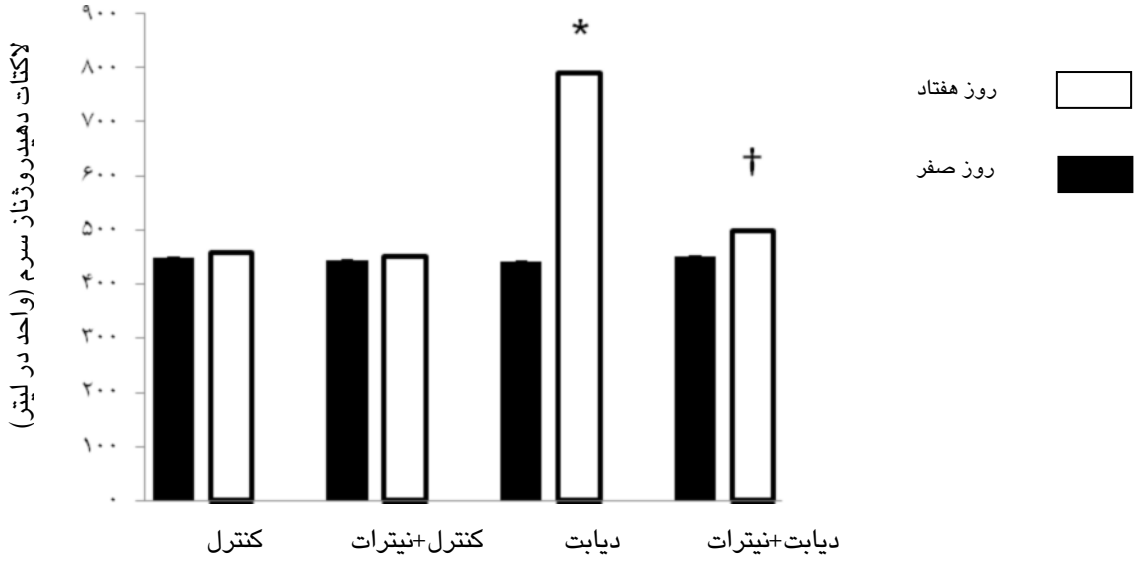
نمودار ۲- مقادیر اکسید نیتریک سرم در گروه‌های مختلف قبل (روز صفر) و بعد از درمان (روز هفتاد) با نیترات سدیم. به منظور مقایسه‌ی سرمی در روز صفر و ۷۰ بین گروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. به منظور مقایسه‌ی NOX سرمی بین روزهای صفر و ۷۰ در گروه‌های مختلف از آزمون از تی زوج

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

استفاده شد. تعداد رت در هر گروه ۸ عدد بود. نمودار سیاه روز صفر و نمودار سفید روز ۷۰ مطالعه را نشان می‌دهد. * تفاوت با گروه کنترل، † تفاوت با گروه دیابت، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.



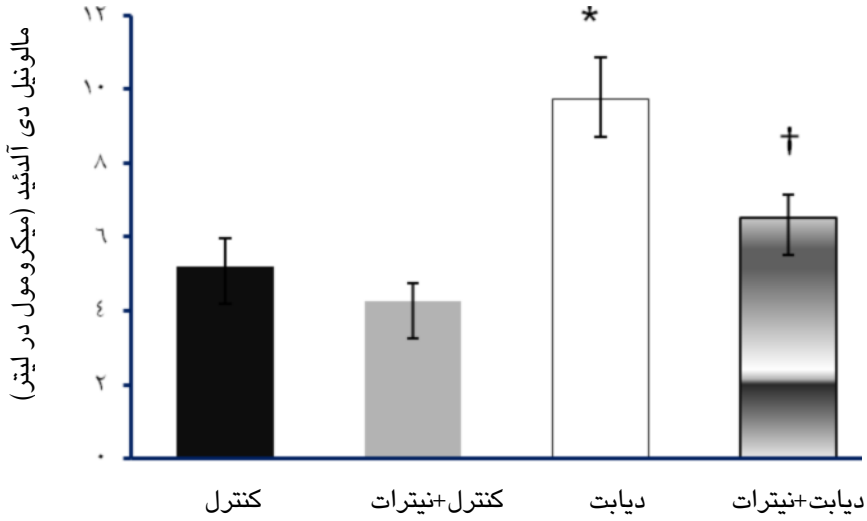
نمودار ۳ – مقادیر کراتین کیناز سرمی در گروه‌های مختلف قبل و بعد از درمان با نیترات سدیم. به منظور مقایسه‌ی کراتین کیناز سرمی در روز صفر و ۷۰ بین گروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. به منظور مقایسه‌ی کراتین کیناز سرمی بین روزهای صفر و ۷۰ در گروه‌های مختلف از آزمون از تی زوج استفاده شد. تعداد رت در هر گروه ۸ عدد بود. نمودار سیاه روز صفر و نمودار سفید روز ۷۰ مطالعه را نشان می‌دهد. * تفاوت با گروه کنترل، † تفاوت با گروه دیابت، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.



نمودار ۴- مقادیر لاکتات دهیدروزناژ سرمی در گروه‌های مختلف قبل و بعد از درمان با نیترات. به منظور مقایسه‌ی کراتین کیناز سرمی در روز صفر و ۷۰ بین گروه‌های مختلف از تحلیل واریانس یک طرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد. به منظور مقایسه‌ی کراتین کیناز سرمی بین روزهای صفر و ۷۰ در گروه‌های مختلف از آزمون از تی زوج استفاده شد.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

تعداد رت در هر گروه ۸ عدد بود. نمودار سیاه روز صفر و نمودار سفید روز ۷۰ مطالعه را نشان می‌دهد. * تفاوت با گروه کنترل، † تفاوت با گروه دیابت، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.



نمودار ۵- مقادیر قلبی مالونیل دی آلدئید در گروه‌های مختلف در انتهای مطالعه. تعداد= ۸ در هر گروه، * تفاوت با گروه کنترل، † تفاوت با گروه دیابت، P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی‌دار است.

سطح قلبی MDA در روز ۷۰، در گروه دیابتی به طور معنی‌داری (P<۰/۰۵) نسبت به گروه کنترل بیشتر بود که با مصرف نیترات سدیم در گروه دیابت+ نیترات به حد طبیعی بازگشت (نمودار ۵).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که در دیابت نوع ۲، سطح سرمی NOx کاهش و سطح سرمی CK-MB و LDH و نیز سطح قلبی MDA افزایش می‌یابد. به دنبال ۲ ماه مصرف نیترات سدیم، سطح سرمی NOx، CK-MB، LDH و سطح قلبی MDA در گروه دیابت+ نیترات به مقدار طبیعی نزدیک گردید.

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که سطح سرمی NOx در گروه دیابتی کاهش می‌یابد. مشابه با این یافته، زو[i] و همکارانش نشان دادند که در دیابت، سطح سرمی و قلبی NOx کاهش می‌یابد.[۲۴] در دیابت، تولید NO توسط ایزوفرم القایی نیتریک اکساید سنتتاز (iNOS)[ii] افزایش می‌یابد، ولی افزایش هم‌زمان رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)[iii] موجب واکنش NO تولیدی با ROS و کاهش فراهمی زیستی NO[iv] در خون و قلب افراد دیابتی می‌گردد.[۲۵-۲۷] استوکلازر- فاربر[v] فاربر[v] و همکارانش در مطالعه‌ی مشابهی گزارش کردند که دیابت کمتر از ۴۸ هفته نمی‌تواند به طور دایمی موجب تخریب سلول‌های اندوتلیال و کاهش تولید NO گردد و علت اصلی کاهشNO به طور عمده ناشی از افزایش واکنش NO با ROS است.[۲۸]

در مطالعه‌ی حاضر، افزایش سطح قلبی MDA و افزایش سطح سرمی CK-MB و LDH در گروه دیابتی، اثرات تخریبی دیابت بر سلول‌های قلبی را نشان می‌دهد. افزایش تولید ROS و برهم خوردن تعادل بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و اکسیدانی در دیابت موجب افزایش استرس اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب غشای سلولی می‌گردد که با افزایش آزاد شدن آنزیم‌های داخل سلولی CK-MB و LDH به خون همراه است. این افزایش در افراد دیابتی نشان‌دهنده‌ی نکروز قلبی و آزاد شدن این آنزیم‌ها به خون است.[۷،۲۹]

i - Xu
ii- Inducible nitric oxide synthase

iii -Reactive oxygen species
iv- Bioavailability
v - Stockklauser-Färber

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

همچنین در شرایط دیابتی در اثر واکنش NO با ROS، پراکسی‌نیتریت[i] تولید می‌شود که می‌تواند سبب القای آپوپتوز و پراکسیداسیون لیپیدی در سلول‌های قلبی گردد.[۳۰،۳۱] مطابق با یافته‌های ما، پژوهش‌های سلیک[ii] و همکارانش،[۸] هوانگ[iii] و همکارانش،[۶] زاپاکوستا[iv] و همکارانش،[۳۲] گلدبرگ[v] و همکارانش،[۳۳] آواجی[vi] و همکارانش،[۳۴] و نیکولوا[vii] و همکارانش[۳۵] نشان دادند که در دیابت، سطوح سرمی CK-MB و LDH افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل دارد. متفاوت با نتایج ما، الیور[viii] و همکارانش،[۳۶] تاناکا[ix] و همکارانش،[۳۷] و مارکیاویچن[x] و همکارانش گزارش کردند که تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی LDH بین ۲ گروه دیابت و کنترل وجود ندارد که می‌تواند ناشی از شدت دیابت و مدت زمان دیابت باشد.[۸،۳۸]

در این مطالعه، درمان با نیترات سدیم به مدت ۲ ماه و با دوز کم، مانع از افزایش سطح سرمی CK-MB و LDH و سطح قلبی MDA در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۲ و نیز مانع کاهش سطح سرمی NOx در گروه دیابتی شد که نشان‌دهنده‌ی اثرات حفاظتی نیترات در قلب است. گزارش شده است که نیترات غذایی در دوزی معادل با دوز موجود در سبزی‌جات موجب کاهش فشار خون و کاهش تجمع پلاکت‌ها در افراد سالم می‌شود.[۱۳،۳۹] هم‌چنین تجویز نیترات در مدل‌های حیوانی موجب حفاظت قلب در مقابل آسیب ناشی از ایسکمی می‌شود.[۱۲،۴۰،۴۱]

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که ۲ ماه درمان با نیترات در گروه کنترل تغییری در NOx سرم ایجاد نکرد که علی‌رغم جذب کامل نیترات است. نشان داده شده است که به طور معمول سطوح نیترات و نیتریت در گردش خون، پس از تجویز کوتاه‌مدت افزایش می‌یابد، اما تجویز طولانی‌مدت آن‌ها تغییری در سطح خونی ایجاد نمی‌کند.[۴۲] بنابراین، تغییر سطح در گردش خون نیترات و نیتریت تا حد زیادی وابسته مدت زمان تجویز آن است. اگرچه کاملاً مشخص نشده است، ولی احتمالا مکانیسمی وجود دارد که سطح در گردش خون NOx را علی‌رغم تغییر میزان دریافت نیترات و نیتریت ثابت نگه می‌دارد.[۱۹]

اثر حفاظتی مشاهده شده در این مطالعه می‌تواند ناشی از اثرات آنتی‌اکسیدانی نیترات باشد.[۴۲] بخشی از افزایش سطح سرمی NOx در گروه دیابتی بعد از درمان با نیترات، می‌تواند به علت کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش واکنش NO با ROS باشد که موجب حفظ غشای سلول با جلوگیری از لیپید پراکسیداسیون آن می‌شود[۴۴،۴۲] و آزاد شدن آنزیم‌های سیتوزولی به خون را نیز کاهش می‌دهد. کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و کاتالاز و افزایش استرس اکسیداتیو در مبتلایان به دیابت نوع ۲ و هم‌چنین در مدل‌های حیوانی دیابت نوع ۲ گزارش شده است. در مطالعه انجام شده توسط خلیفی و همکارانش نیز مشاهده شد که درمان با نیترات به مدت ۲ ماه هم در گروه کنترل و هم در گروه دیابت نوع ۲ موجب افزایش سطح کاتالاز و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌گردد که مشخص‌کننده‌ی نقش آنتی‌اکسیدانی نیترات است.[۱۹]

با وجود این که نیترات دارای اثرات مفید ذکر شده می‌باشد، ولی در برخی از مطالعات مشخص شده است که بین هایپرگلیسمی و غلظت‌های بالای نیترات آب ارتباط مستقیمی وجود دارد.[۴۳] در مطالعه‌ای که توسط رگاب[xi] و همکارانش صورت گرفت، مشخص شد که نیترات با کاهش مصرف گلوکز در بافت‌ها موجب افزایش هایپرگلایسمی می‌شود.[۴۴] اگرچه مطالعه دیگری نشان داد که افزایش NO در شرایط دیابتی موجب ایجاد مرگ سلولی در سلول‌های بتا و کاهش تولید انسولین می‌گردد. هم‌چنین گزارش شده است که نیترات از طریق ایجاد کم‌کاری تیروییدی هم موجب کاهش ترشح انسولین می‌گردد.[۱۶]

یکی از نقاط قوت این مطالعه استفاده از دوز کم نیترات است که در مطالعه‌ی دیگری[۱۸] هم که در موش‌های با نقص ژن اندوتلیال نیتریک اکساید سنتاز صورت گرفته است، مشخص شده است که برای کاهش برخی مشخصات سندروم متابولیک کافی است. اهمیت استفاده از دوز کم در آن است که این دوز به راحتی در میوه وسبزی‌جات یافت می‌شود. از محدودیت‌های این مطالعه، عدم ایجاد مقاومت به انسولین در مدل دیابت نوع ۲ و نیز عدم اندازه‌گیری سطح NOx قلبی است.

i- Peroxynitrite
ii - Celik
iii - Huang
iv - Zappacosta
v - Goldberg
vi - Awaji
vii - Nikolaeva
viii - Oliver
ix - Tanaka
x - Margiavichene
xi - Ragab

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

از یافته‌های این مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که درمان با نیترات از طریق افزایش اکسید نیتریک و کاهش استرس اکسیداتیو موجب حفاظت از قلب در برابر آسیب‌های ناشی از دیابت نوع ۲ در موش صحرایی می‌گردد.

References

1. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epid emiology of type 2 diabetes mellitus--present and future perspectives. Nat Rev Endocrinol 2012; 8: 228-36.
2. Tiengo A, Fadini GP, Avogaro A. The metabolic syn drome, diabetes and lung dysfunction. Diabetes Metab 2008; 34: 447-54.
3. Haghdoost AA, Rezazadeh-Kermani M, Sadghirad B, Baradaran HR. Prevalence of type 2 diabetes in the islamic republic of iran: Systematic review and meta-analysis. East Mediterr Health J 2009; 15: 591-9.
4. AbdElmonem Elbassuoni E. Incretin attenuates diabetes-induced damage in rat cardiac tissue. J Physiol Sci 2014; 64: 357-64.
5. Patel S, Santani D. Role of NF-kappa B in the patho genesis of diabetes and its associated complications. Pharmacol Rep 2009; 61: 595-603.
6. Huang EJ, Kuo WW, Chen YJ, Chen TH, Chang MH, Lu MC, et al. Homocysteine and other biochemical parameters in type 2 diabetes mellitus with different dia betic duration or diabetic retinopathy. Clin Chim Acta 2006; 366: 293-8.
7. Panda VS, Naik SR. Cardioprotective activity of Ginkgo biloba phytosomes in isoproterenol-induced myocardial necrosis in rats: A biochemical and histoarchitectural evaluation. Exp Toxicol Pathol 2008; 60: 397-404.
8. Celik, Ismail; Yegin, Esref; Odabasoglu, Fehmi. Effect of experimental diabetes mellitus on plasma lactate dehydrogenase and glutamic oxaloacetic transaminase levels in rabbits. Turkish Journal of Biology 2002; 29: 4-14.
9. Chatterjee A, Black SM, Catravas JD. Endothelial nitric oxide (NO) and its pathophysiologic regulation. Vascul Pharmacol 2008; 49: 134-40.
10. Avogaro A, Toffolo G, Kiwanuka E, de Kreutzenberg SV, Tessari P, Cobelli C. L-arginine-nitric oxide kine tics in normal and type 2 diabetic subjects: a stable-labelled 15n arginine approach. Diabetes 2003; 52: 795-802.
11. Lundberg JO, Weitzberg E. The biological role of nitrate and nitrite: The times they are a-changin'. Nitric Oxide 2012; 22: 61-3.
12. Lundberg JO, Feelisch M, Bjorne H, Jansson EA, Weitzberg E. Cardioprotective effects of vegetables: is nitrate the answer? Nitric Oxide 2006; 15: 359-62.
13. Larsen FJ, Ekblom B, Sahlin K, Lundberg JO, Weit zberg E. Effects of dietary nitrate on blood pressure in healthy volunteers. N Engl J Med 2006; 355: 2792-3.
14. Benjamin N, O'Driscoll F, Dougall H, Duncan C, Smith L, Golden M, et al. Stomach no synthesis. Nature 1994; 368: 502.
15. Lundberg JO, Weitzberg E, Lundberg JM, Alving K. Int ragastric nitric oxide production in humans: measur ements in expelled air. Gut 1994; 35: 1543-6.
16. El-Wakf AM, Hassan HA, Mahmoud AZ, Habza MN. Fenugreek potent activity against nitrate-induced diab etes in young and adult male rats. Cytotechnology 2014; 67: 437-47.
17. Benson VS, Vanleeuwen JA, Taylor J, Somers GS, McKinney PA, Van Til L Type 1 diabetes mellitus and components in drinking water and diet: a population-based, case-control study in Prince Edward Island, Ca nada. J Am Coll Nutr 2010; 29: 612-24.
18. Carlstrom M, Larsen FJ, Nystrom T, Hezel M, Born iquel S, Weitzberg E, et al. Dietary inorganic nitrate reverses features of metabolic syndrome in endothelial nitric oxide synthase-deficient mice. Proc Natl Acad Sci U S A 2010; 107: 17716-20.
19. Khalifi S, Rahimipour A, Jeddi S, Ganbari M, Kaze rouni F, Ghasemi A. Dietary nitrate improves glucose tolerance and lipid profile in an animal model of hyp erglycemia. Nitric Oxide 2014;
20. Masiello P, Broca C, Gross R, Roye M, Manteghetti M, Hillaire-Buys D, et al. Experimental NIDDM: Develo pment of a new model in adult rats administered strepto zotocin and nicotinamide. Diabetes 1998; 47: 224-9.
21. Ghasemi A, Jeddi S, Khalifi S. Streptozotocin-nicotin amide-induced rat model of type 2 diabetes (review). Acta Physiologica Hungarica 2014; 101: 408-20.
22. Ghasemi A, Zahediasl S. Preanalytical and analytical considerations for measuring nitric oxide metabolites in serum or plasma using the griess method. Clin Lab 2012; 58: 615-24.
23. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal Biochem 1979; 95: 351-8.
24. Xu X, Xiao H, Zhao J, Zhao T. Cardioprotective effect of sodium ferulate in diabetic rats. Int J Med Sci 2012; 9: 291-300.
25. Galinanes M, Fowler AG. Role of clinical pathologies in myocardial injury following ischaemia and reperfusion. Cardiovasc Res 2004; 61: 512-21.
26. Sobrevia L, Mann GE. Dysfunction of the endothelial nitric oxide signalling pathway in diabetes and hyperg lycaemia. Exp Physiol 1997; 82: 423-52.
27. Magenta A, Greco S, Capogrossi MC, Gaetano C, Mart elli F. Nitric oxide, oxidative stress, and P66shc inte rplay in diabetic endothelial dysfunction. Biomed Res Int 2014; 2014: 193095.
28. Stockklauser-Farber K, Ballhausen T, Laufer A, Rosen P. Influence of diabetes on cardiac nitric oxide synthase expression and activity. Biochim Biophys Acta 2000; 1535: 10-20.
29. Patel SS, Goyal RK. Prevention of diabetes-induced myocardial dysfunction in rats using the juice of the Emblica officinalis fruit. Exp Clin Cardiol 2011; 16: 87-91.
30. Di Filippo C, Cuzzocrea S, Rossi F, Marfella R, D'Amico M. Oxidative stress as the leading cause of acute myocardial infarction in diabetics. Cardiovasc Drug Rev 2006; 24: 77-87.
31. Cai L, Kang YJ. Oxidative stress and diabetic cardiomyopathy: a brief review. Cardiovasc Toxicol 2001; 1: 181-93.
32. Zappacosta B, De Sole P, Rossi C, Marra G, Ghirlanda G, Giardina B. Lactate dehydrogenase activity of platelets in diabetes mellitus. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1995; 33: 487-9.
33. Goldberg DM, Martin JV, Knight AH. Elevation of serum alkaline phosphatase activity and related enzymes in diabetes mellitus. Clin Biochem 1977; 10: 8-11.
34. Awaji Y, Hashimoto H, Matsui Y, Kawaguchi K, Okumura K, Ito T, et al. Isoenzyme profiles of creatine kinase, lactate dehydrogenase, and aspartate aminotransferase in the diabetic heart: Comparison with hereditary and catecholamine cardiomyopathies. Cardiovasc Res 1990; 24: 547-54.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

35. Nikolaeva LF, Azhmukhanbetova A, Titov VN, Perelygina AA. [Value of determining serum enzyme activity during the exercise test in evaluating the functional condition of patients with ischemic heart disease and concomitant diabetes mellitus]. Kardiologiia 1988; 28: 85-90.
36. Oliver RC, Tervonen T, Flynn DG, Keenan KM. Enzyme activity in crevicular fluid in relation to metabolic control of diabetes and other periodontal risk factors. J Periodontol 1993; 64: 358-62.
37. Tanaka K, Nanbara S, Tanaka T, Koide H, Hayashi T. Aminotransferase activity in the liver of diabetic mice. Diabetes Res Clin Pract 1988; 5: 71-5.
38. Margiavichene LE, Gribauskas PS, Norkus AV, Gribauskene RA, Masalskene VV. [Lipid metabolism and the activity of cardiospecific enzymes in diabetes mellitus]. Probl Endokrinol (Mosk) 1986; 32: 28-32.
39. Webb AJ, Patel N, Loukogeorgakis S, Okorie M, Aboud Z, Misra S, et al. A Acute blood pressure lowering, vasoprotective, and antiplatelet properties of dietary nitrate via bioconversion to nitrite. Hypertension 2008; 51: 784-90.
40. Lundberg JO. Cardiovascular prevention by dietary nitrate and nitrite. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2009; 296: H1221-3.
41. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. Nat Rev Drug Discov 2008; 7: 156-67.
42. Carlstrom M, Persson AE, Larsson E, Hezel M, Scheffer PG, et al. Dietary nitrate attenuates oxidative stress, prevents cardiac and renal injuries, and reduces blood pressure in salt-induced hypertension. Cardiovasc Res 2010; 89: 574-85.
43. van Maanen JM, Albering HJ, de Kok TM, van Breda SG, Curfs DM, Vermeer IT, et al. Does the risk of childhood diabetes mellitus require revision of the guideline values for nitrate in drinking water? Environ Health Perspect 2000; 108: 457-61.
44. Ragab EA, OM A. Lipid and carbohydrate metabolism in rats. Egypt J Rad Sci Appl 2004; 17: 457-61.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]

Original Article

Effect of Oral Nitrate Administration on Myocardial Injury in Type 2 Diabetic Rats

Jeddi S[1], Khalifi S[2], Zaman J[1], Ghanbari M[1], Ghasemi A[1]

[1]Endocrine Physiology Research Center, Research Institute for Endocrine Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, [2]Department of Medical Laboratory Sciences, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: Ghasemi@endocrine.ac.ir

Received: 25/11/2014 **Accepted**: 19/05/2015

Abstract

Introduction: Cardiovascular diseases are the most important complications of diabetes, representing the ultimate cause of death in more than half of all patients with the disease. Nitrate has been demonstrated to be an effective add-on therapy in patients with heart failure but no study has been yet addressed the effect of nitrate therapy on myocardial injury associated with diabetes. The aim of this study was therefore to assess the effect of nitrate therapy on myocardial injury in type 2 diabetic rats. Materials and Methods: Thirty-two adult male Wistar rats were divided into four groups (n=8): Control, control+nitrate, diabetes, and diabetes+nitrate. Type 2 diabetes was induced by injection of nicotinamide (95 mg/kg) 15 min before injection of streptozotocin (65 mg/kg). Nitrate in control+nitrate and diabetes+nitrate groups was added to the drinking water (100 mg/L for 2 months). Serum nitrate+nitrite (NOx), CK-MB, and LDH were measured before and at the end of the study and heart malonyldialdehyde (MDA) was measured at the end of the study. Results: Nitrate therapy in diabetic rats significantly increased serum NOx levels (29.2±5.6 vs. 42.8±9.8 µmol/L, P<0.05), decreased heart MDA levels (9.7±1.2 vs. 6.2±0.6 µmol/L, P<0.05), and decreased serum levels of both CK-MB (471.0±29.7 vs. 284.9±10.3 U/L, P<0.05) and LDH (791.6±21.9 vs. 497.8±13.1 U/L, P<0.05). Conclusions: Nitrate therapy provided cardioprotection by increasing NO levels and decreasing oxidative stress in type 2 diabetic rats.

Keywords: Nitrate, Myocardial injury, Diabetes, Creatine kinase, Lactate dehydrogenase, rat

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-08]