مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دهم، شماره‌ی ۱، صفحه‌های ۷۴ ـ ۶۷ (اردیبهشت ۱۳۸۷)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر محافظتی ویتامین E بر آپوپتوز ناشی از دیابت و وضعیت استرس اکسیداتیو در قلب موش صحرایی دیابتی

علیرضا شیرپور، سیامک سلامی، محمدحسن خادم انصاری، فیروز قادری پاکدل، کمال خادم وطنی، رامین سعادتیان، مجتبی کریمی‌پور

دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی ارومیه، **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** ارومیه، جاده‌ی نازلو، دانشکده‌ی پزشکی ارومیه، بخش فیزیولوژی، علیرضا شیرپور e-mail:ashirpoor@yahoo.com

چکیده

مقدمه: القای آپوپتوز ناشی از استرس اکسیداتیو یکی از مکانیسم‌هایی است که به عنوان علت بروز عوارض قلبی ـ عروقی گزارش شده است. در این مطالعه تأثیر ویتامین E بر آپوپتوز سلول‌های قلبی و وضعیت استرس اکسیداتیو در رت‌های دیابتی بررسی شد. مواد و روش‌ها: ۱۶ موش صحرایی نر نژاد وستار با تزریق استروپتوزوتوسین (STZ) دیابتی شدند. ۸ موش صحرایی با سن و وزن مشابه به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. رت‌های دیابتی به دو گروه دیابتی درمان نشده و دیابتی درمان شده با ویتامین E به میزان ۳۰۰ میلی‌گرم در شبانه روز تقسیم شدند. یافته‌ها: رت‌های دیابتی درمان نشده آپوپتوز شدید در سلول‌های قلبی نشان دادند هم‌چنین در این گروه میزان ۸ ایزوپروستان به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی، پروتئین کربونیل به عنوان شاخص اکسیداسیون پروتئین و سوپراکسید دیسموتاز(SOD) افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد نشان داد. هموگلوبین گلیکوزیله و فاصله‌ی QT در گروه دیابتی درمان نشده نسبت به گروه شاهد افزایش و میزان کاتالاز کاهش نشان داد. در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین میزان آپوپتوز، لیپید پراکسیداسیون، پروتئین اکسیداسیون، HbA1c و QT نسبت به گروه درمان نشده کاهش معنی‌داری نشان داد. نتیجه‌گیری: یافته‌های این مطالعه نشان داد که ویتامین E با کاهش آپوپتوز و بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو القا شده به دلیل دیابت تأثیر محافظتی نشان می‌دهد.

واژگان کلیدی: دیابت، موش صحرایی، آپوپتوز، استرس اکسیداتیو، ویتامین E
دریافت مقاله: ۸۶/۳/۲۹ـ دریافت اصلاحیه: ۸۶/۶/۵ ـ پذیرش مقاله: ۸۶/۶/۱۲

مقدمه

بیماری‌های قلبی ـ عروقی یکی از مهم‌ترین عوارض ناشی از دیابت ملیتوس می‌باشد. مطالعه‌ها نشان می‌دهند که آترواسکلروز کرونری و کاردیومیوپاتی در اثر متابولیسم غیرطبیعی وابسته به دیابت به وجود می‌آید.[۱] کاردیومیوپاتی دیابتی را به عنوان بیماری ویژه‌ی عضله‌ی قلب بدون وجود هیچ آسیب عروقی در مدل‌های حیوانی و بالینی دیابت نشان داده‌اند.[۲] در این عارضه هرگونه افزایش غیر عادی گلوکز پلاسما، سلول‌های عضله‌ی قلبی را مستعد مرگ سلولی به طریق آپوپتوز می‌کند و در نهایت موجب تغییر انقباضی عضلانی می‌شود.[۳] با توجه به این که در دیابت ملیتوس انتقال و اکسیداسیون گلوکز دچار نقص است و سلول‌های عضله‌ی قلب انرژی مورد نیاز خود را منحصراً از اسیدهای چرب به دست می‌آورند، محصولات ناشی از اکسیداسیون چربی در سلول‌های قلبی افزایش می‌یابد.[۴] مرگ سلولی ناشی از متابولیسم غیرطبیعی میوکارد، به عنوان علت اصلی کاردیومیوپاتی‌ها در نظر گرفته می‌شود.[۵] در این حالت

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

سلول‌های عضله‌ی قلب با هیپرتروفی و فیبروز جبرانی به مقابله با کاهش بافت انقباضی ناشی از دیابت می‌پردازند.[۶] مرگ سلولی القا شده به وسیله‌ی دیابت در اندام‌های مختلف در حالت محیط طبیعی و در سلول‌های آندوتلیال در حالت محیط مصنوعی مشاهده شده است.[۷،۸] مطالعه‌های اخیر نشان‌دهنده‌ی افزایش شیوع آپوپتوز در قلب بیماران دیابتی و دیابت القا شده به وسیله‌ی استرپتوزوتوسین (STZ) در مدل حیوانی هستند.[۹،۱۰] با این حال چگونگی ارتباط مرگ آپوپتوزی سلول‌های قلب با هیپرگلیسمی هنوز به خوبی شناخته نشده است.[۱۱] استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله‌ی دیابت ممکن است نقش مهمی در ایجاد آپوپتوز در شرایط هیپرگلیسمی داشته باشد. در اثر عدم تعادل بین تولید شکل‌های باز فعال اکسیژن (ROS) و عوامل آنتی اکسیدان که سبب حذف ROS می‌شود، استرس اکسیداتیو به وجود می‌آید. در قلب یک فرد دیابتی تجمع ROS می‌تواند در اثر نقص میتوکندریایی، اتواکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون پروتئینی و افزایش فعالیت زانتین اکسیداز تقویت شود.[۱۱] صرف نظر از منشای آن، شکل‌های باز فعال اکسیژن مانند هیدروژن پراکسید (H_2O_2) می‌توانند سبب مرگ سلولی از طریق مکانیسم‌هایی مانند پراکسیداسیون لیپیدی، تغییر پروتئین‌های سلولی و شروع راه‌های گوناگون ایجاد پیام‌های استرس شوند.[۱۲] بنابراین ممکن است تجمع شکل‌های باز فعال اکسیژن در میوکارد فرد دیابتی روی دهد و آپوپتوز ناشی از آن منجر به کاردیومیوپاتی شود. آنتی‌اکسیدان‌ها به ویژه ویتامین E با مکانیسم‌های مختلفی سبب کاهش شدت واکنش‌های استرس اکسیداتیو و تأثیر مولکولی آنها بر ماکرومولکول‌هایی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و DNA می‌شود و اثر سلولی و در نهایت مشکلات بالینی ناشی از آن‌ها را کاهش می‌دهد.[۱۳] از این رو هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدان بر آپوپتوز کاردیومیوسیت و وضعیت استرس اکسیداتیو در بافت قلب است.

مواد و روش‌ها

تمام اعمال انجام شده حیوانات مطابق دستورالعمل کمیته‌ی اخلاق کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه مستخرج از دستورالعمل هلسینکی بود. ۲۴ قطعه موش صحرایی نر نژاد ویستار با سن ۶ ماه و وزن بدن ۳۰± ۲۵۰ g گرم تهیه شده از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده پزشکی ارومیه، برای انجام آزمایشات استفاده شد. حیوانات به ۳ گروه ۸ تایی شامل گروه شاهد (C)، دیابتی درمان نشده (NTD)[i] و دیابتی درمان شده با ویتامین (VETD) تقسیم شدند. ۱۶ قطعه از رت‌ها با تزریق تک دوز STZ به مقدار ۵۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن ـ تهیه شده در بافر سیترات سدیم با pH =۷/۴ ـ به صورت زیر صفاقی دیابتی شدند.[۱۳] رت‌های گروه شاهد به همان میزان بافر دریافت کردند. ۴۸ ساعت بعد از تزریق STZ هیپرگلیسمی به وسیله‌ی سنجش قند خون به روش گلوکز اکسیداز با کیت بیوسیستم (Biosystem Ltd. – اسپانیا) تأیید شد. به این ترتیب، رت‌هایی که گلوکز سرم آن‌ها از mg/dL ۳۰۰ بالاتر بود به عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. رت‌های گروه درمان شده با ویتامین E روزانه ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E (Merck ـ آلمان) همراه آب آشامیدنی دریافت کردند. بعد از ۶ هفته، تمام رت‌ها با تزریق زیرصفاقی هیدرات کلرال ۱۰٪ به میزان ۵ میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. برای مطالعه‌ی فاصله‌ی QT از تمام رت‌ها الکتروکاردیوگرافی گرفته شد. به دلیل آن که طول دوره‌ی QT به تعداد ضربان قلب بستگی دارد برای واقعی کردن آنالیز فاصله‌ی QT، از فرم تصحیح شده‌ی QT یا QTC طبق فرمول بازت[ii] استفاده شد. پس از باز کردن قفسه سینه، نمونه‌های خون مستقیم از قلب گرفته و میزان هموگلوبین گلیکوزیله یا HbA1c با استفاده از دستگاه HPLC مدل D-10 (Bio rad Inc. –آمریکا) اندازه‌گیری شد. بعد از خونگیری، قلب جدا و وزن شد. قسمت راسی یا آپیکال قلب برای بررسی آپوپتوز جدا و در محلول بافری فرمالین ۱۰٪ قرار گرفت.

قسمت باقی مانده‌ی قلب بعد از شستشو با محلول یخی سرم فیزیولوژی برای بررسی عوامل بیوشیمیایی مورد استفاده قرار گرفت. به این ترتیب که بافت قلب به نسبت ۱۰٪ (W/V) با بافر فسفات (۵۰ mM, pH =۷/۶) هموژنیزه شد و سپس به وسیله‌ی سانتریفوژ یخچال‌دار در دمای ۴° c به مدت ۱۵ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ ×g سانتریفوژ شد. مایع رویی برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، ۸ ایزوپروستان، پروتئین تام و میزان پروتئین کربونیل مورد استفاده قرار گرفت. میزان پروتئین

i- Non Treeted Diabetic
ii- [QTc=Qt(inms)/√R-Rinterval(s)]

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

کربونیل با استفاده از کیت تجاری (Cayman, USA) اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، ۲ و ۴ دی نیتروفیل هیدرازین (DNPH) با پروتئین کربونیل واکنش داده، باز شیف تشکیل می‌دهند. نتیجه به روش اسپکتروفتومتری و جذب نوری ۵۴۰ نانومتر آنالیز قرار شد. فعالیت کاتالاز با استفاده از کیت تجاری (Cayman, USA) به شکلی که توضیح داده می‌شود سنجیده شد. آنزیم کاتالاز با متانول در حضور غلظت ماکزیمم H_2O_2 واکنش داده، فرمالدئید تشکیل شد. فرمالدئید تشکیل شده با ۴ آمینو ۳ هیدرازین ۵ مرکاپتو ۱،۲،۴ تری‌آزول به عنوان کروماژن تولید رنگ می‌کند که به روش اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۴۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. فعالیت SOD بافت به وسیله‌ی کیت تجاری(Randox lab, UK) سنجیده شد. در این کیت از سنجش رادیکال‌های سوپراکسید حاصل از واکنش هیپوزانتین با زانتین اکسیداز و تشکیل ماده‌ی رنگی فورمازان از نمک تترازولیوم استفاده می‌شود. میزان SOD به وسیله‌ی درجه‌ی مهار واکنش با استفاده از روش اسپکتروفتومتری با جذب نوری ۵۴۰ نانومتر تعیین می‌شود. فعالیت ۸- ایزوپروستان بر اساس رقابت بین ۸- ایزوپروستان و ۸- ایزوپروستان استیل‌کولین‌استراز (AchE) با آنتی سرم ویژه‌ی خرگوش اندازه‌گیری شده و معرف اِلمن[i] اضافه می‌شود. محصول نهایی با رنگ زرد واضح به طریق اسپکتروفتومتری در جذب نوری ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. پروتئین تام با روش برادفورد اندازه‌گیری شد که از آلبومین سرم گاوی به عنوان استاندارد استفاده شد.[۱۴] تعیین میزان آپوپتوز به روش TUNEL[ii] انجام شد.

در این روش برای تعیین آپوپتوز، آنزیم TdT قادر به نشاندار ساختن 3′ –OHهایی است که با شکستن DNA در جریان آپوپتوز به فرم آزاد درآمده‌اند. این مکان‌ها با dUTP کنژوگه با فلورسین نشان‌دار شده، سپس مکان‌های حاوی فلورسین توسط آنتی‌بادی آنتی‌فلورسین متصل به POD شناسایی می‌شود. در صورت وجود شکست در DNA و اتصال فلورسین، آنتی‌بادی فلورسین در این مکان‌ها متصل شده و POD موجود در این آنتی‌بادی قادر به ایجاد رنگ قهوه‌ای در واکنش با سوبسترای دی‌آمینوبنزیمیدی (DAB) خواهد بود. در این روش هسته‌های آپوپتوزی رنگ قهوه‌ای به خود می‌گیرند. این روش در مطالعه‌ی حاضر با استفاده از کیت تجاری In situ cell death detection (Roche، آلمان) بررسی شد. به طور خلاصه لام‌هایی که به ضخامت ۵ میکرون از بافت‌های پارافینه‌ی قلب تهیه و مراحل آبدهی و حذف پارافین در آنها انجام شده بود ابتدا با فسفات بافر سالین شسته شد سپس به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷o c با پروتئیناز K (۳۰ mg/mL) تیمار شدند. به دنبال دو بار شستشو با PBS لام‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در ۳۷°C و محیط مرطوب با معرف TUNEL تیمار شدند. سپس مجدداً لام‌ها ۳ بار با PBS شسته و به مدت ۳۰ دقیقه با آنتی‌بادی فلورسین پوشانده می‌شدند. در مرحله‌ی آخر به دنبال شستشو با PBS، توسط سوبسترای DAB پوشانده شده و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. این لام‌ها بعد از شستشوی نهایی با PBS مونته شده و برای بررسی میکروسکوپی آماده شدند. در این روش هسته‌های آپوپتوزی به رنگ قهوه‌ای در آمدند و هر لام توسط دو پژوهشگر به صورت مستقل و بدون اطلاع از گروه‌های آزمایشی بررسی و یافته‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار گزارش شد.

برای آنالیز آماری فعالیت SOD، کاتالاز، پروتئین کروفبیل و ۸ ایزوپروستان از روش آماری آنالیز واریانس یک طرفه و برای آنالیز آپوپتوز از آزمون مجذور خی استفاده شد. P< ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

جدول ۱ تأثیر درمان با ویتامین E در رت‌های دیابتی بر تعدادی از متغیرها نشان می‌دهد. تغییرات وزن‌گیری بدن در رت‌های دیابتی درمان نشده در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵) اما اختلاف معنی‌داری بین گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E و شاهد وجود نداشت. همان‌طور که جدول ۱ نشان می‌دهد بین نسبت وزن قلب به وزن بدن در رت‌های دیابتی درمان نشده در مقایسه با شاهد افزایش معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۳). درمان با ویتامین E این اختلاف را به حالت طبیعی بازگرداند (P<۰/۴۵). هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c) در رت‌های درمان نشده افزایش معنی‌دار پیدا کرد (P<۰/۰۵) و درمان با ویتامین E سبب شد که میزان HbA1c به حالت طبیعی بازگردد

i- Elleman's reagent
ii-Terminal deoxynucleotide transferase-mediated dUTP nick end labeling

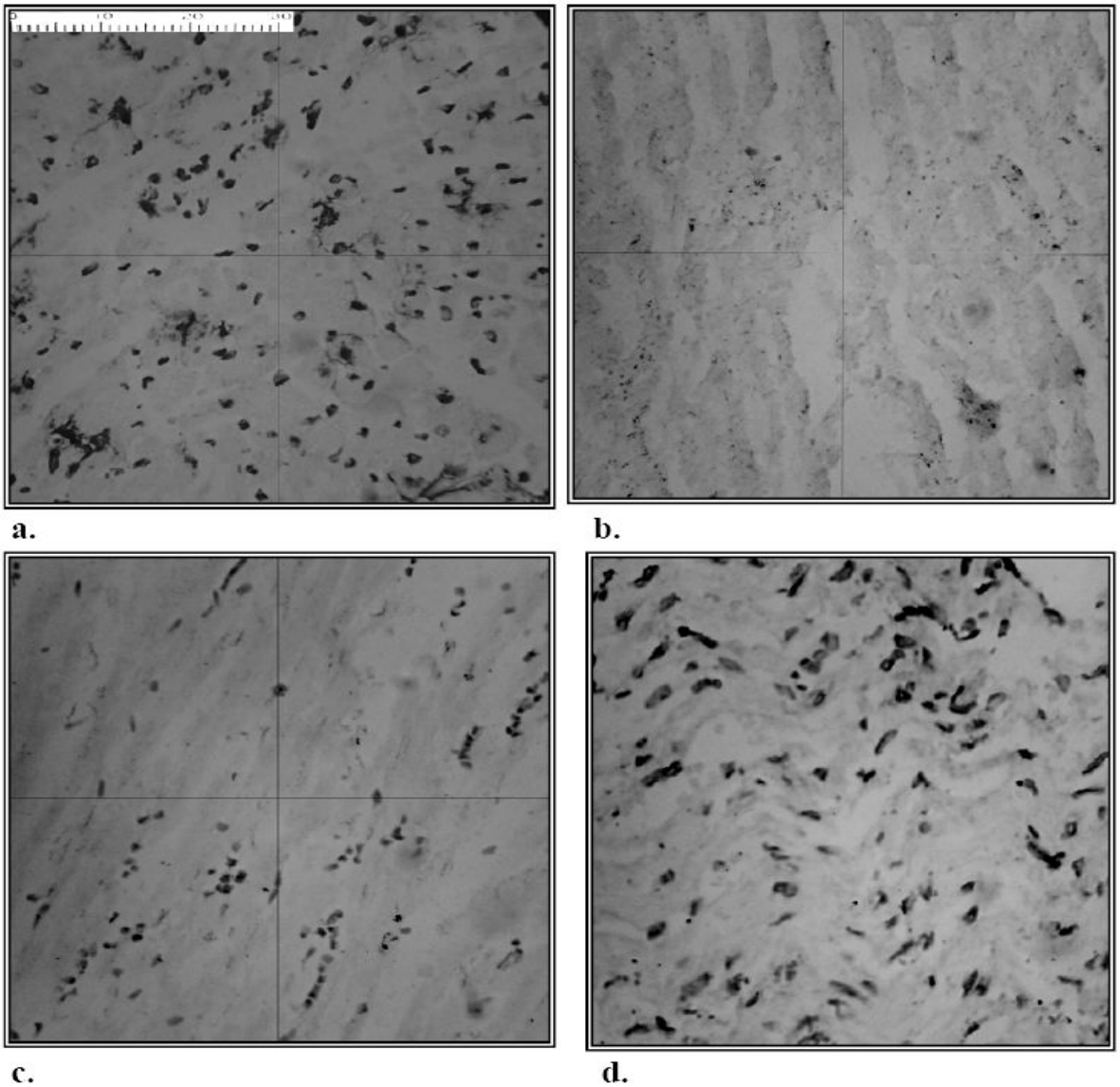
[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

جدول ۱- یافته‌های مربوط به تغییرات وزن‌گیری بدن، نسبت وزن قلب به وزن بدن، پروتئین تام، Hb A1C و QTc

	وزن‌گیری بدن (گرم)	وزن قلب/ وزن بدن (میلی‌گرم/ گرم)	پروتئین‌تام (میلی‌لیتر/ میلی‌گرم)	Hb A_{1C} (%)	QTc(mS)
	۳/۴۲±۰/۱۱	۹/۰۵±۰/۲۹	۴/۷±۰/۲۸	۰/۱۹±۰/۰۰۴	۷/۱۴±۲/۳
*	۳/۹۶±۰/۰۶ *	۸/۱±۰/۳۷	۳۰/۸±۱*	۰/۲۶±۰/۰۰۸*	-۷۵/۱۴±۱۱/۴۱*
†	۳/۵۴±۰/۱۶ †	۸/۶۸±۰/۲۱	۳/۲±۰/۴۱	۰/۱۹±۰/۰۰۹†	-۱۹/۴±۱۴/۴ †

* اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد؛ † اختلاف معنی‌دار در مقایسه با گروه غیردیابتی

شکل ۱- برش‌های رنگ‌آمیزی شده‌ی قلب موش صحرایی به روش تانل a. تعداد هسته‌های تانل مثبت مشاهده شده در رت‌های

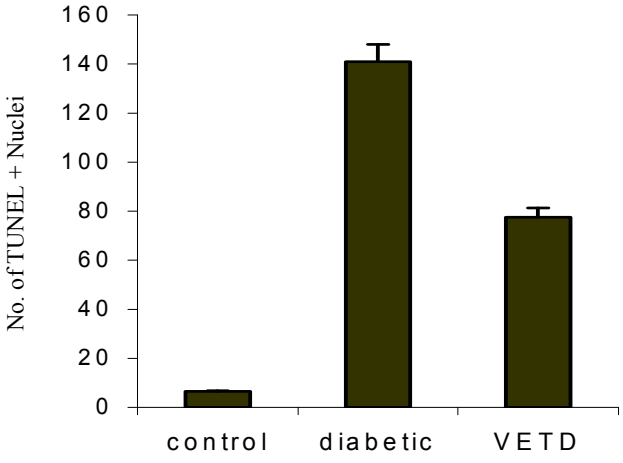


دیابتی درمان نشده b. رت‌های سالم c. تعداد سلول‌های آپوپتوزی در رت‌های دیابتی درمان شده با ویتامین E و d. کنترل مثبت درمان شده با DNase I.

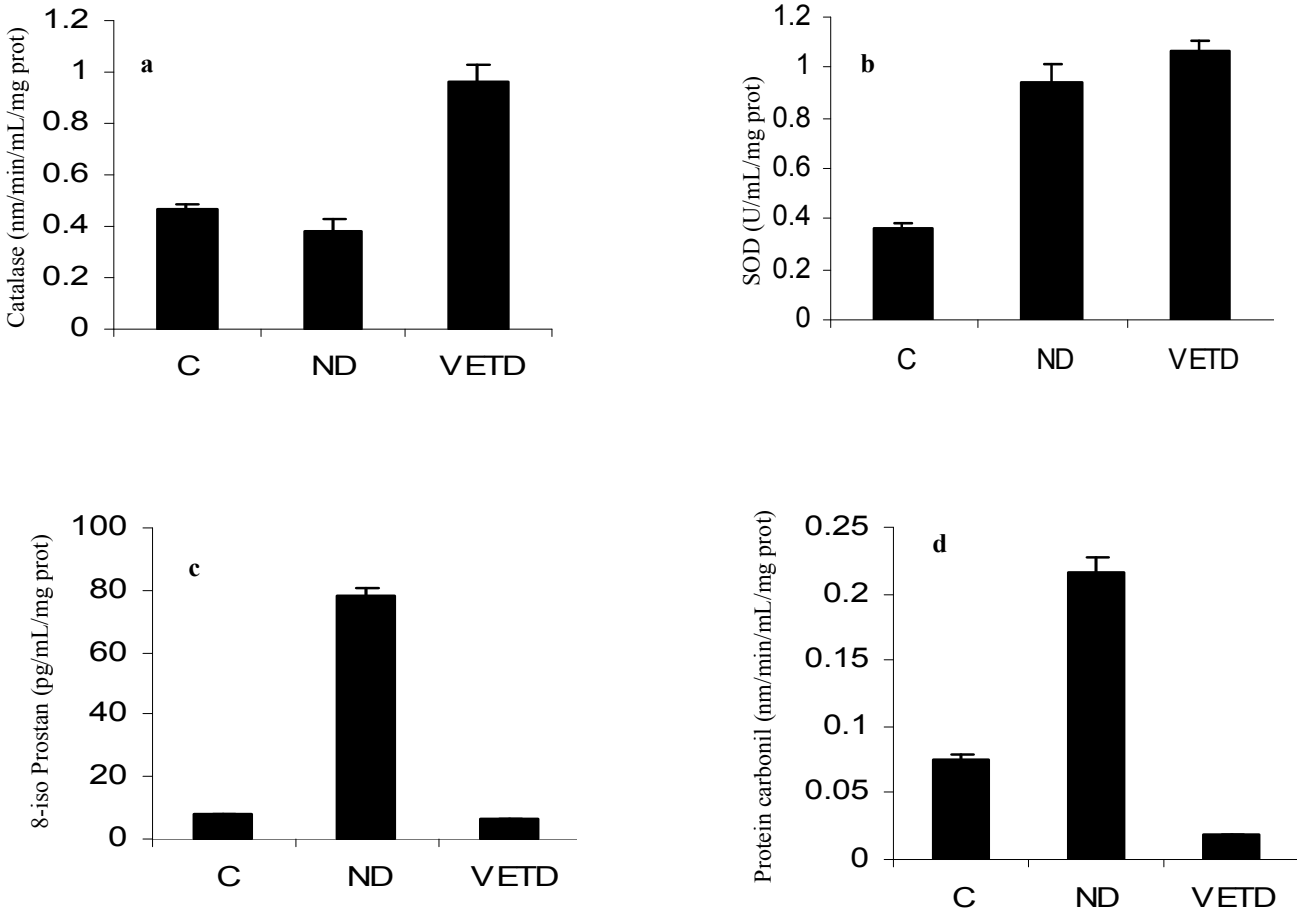
[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

(P<۰/۱۳). QTc در رت‌های دیابتی درمان نشده نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. رت‌های دیابتی درمان شده با گروه شاهد از نظر مقدار QTc اختلاف معنی‌دار نداشتند. میزان پروتئین تام در هر سه گروه با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت.

از هر حیوان ۵ مقطع بافتی از بخش آپیکال قلب تهیه و بررسی شد. یافته‌ها نشان داد که تعداد میوسیت‌های قلب آپوپتوزی در رت‌های دیابتی (۱۹/۲۵±۱۴۱) به شکل معنی‌داری نسبت به رت‌های سالم (۱/۲۵±۶/۵) افزایش یافته است (P<۰/۰۱) (شکل‌های ۱b و ۱a و نمودار ۱). تعداد این سلول‌ها در مقاطع بافت قلب حیوان‌های دیابتی که ویتامین E دریافت نموده بودند به شکل معنی‌داری کاهش یافته بود (۱۰/۳۵±۷۷/۵) (P<۰/۰۱) اما در مقایسه با مقاطع قلب گروه شاهد هنوز افزایش معنی‌داری داشت (P< ۰/۰۱).



نمودار ۱ـ وضعیت هسته‌های آپوپتوزی تانل مثبت در برش‌های قلب گروه‌های مختلف مورد آزمایش VETD حیوان دیابتی درمان شده با ویتامین E.



نمودار ۲- یافته‌های مارکرهای بیوشیمیایی که نشانگر وضعیت استرس اکسیداتیو و دفاع علیه آن است، C کنترل؛ ND، دیابتی درمان نشده؛ VETD، دیابتی درمان شده با ویتامین E.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

فعالیت کاتالاز در گروه دیابتی درمان نشده با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد (نمودار a- ۲) اما در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E، میزان کاتالاز در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده افزایش معنی‌دار نشان داد (P<۰/۰۵). همان‌طور که قسمت b نمودار ۲ نشان می‌دهد، میزان SOD در گروه دیابتی درمان نشده نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت. این افزایش در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E نیز وجود دارد (P<۰/۰۵). میزان ۸- ایزوپروستان در گروه دیابتی درمان نشده افزایش شدیدی نسبت به گروه شاهد داشت (P<۰/۰۵) درمان با ویتامین E سبب کاهش ۸- ایزوپروستان تا حد طبیعی شد (نمودار c - ۲). مقدار پروتئین کربونیل در گروه دیابتی درمان نشده نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار داشت (P<۰/۰۵). میزان پروتئین کربونیل بین گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E و گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان نداد (نمودار d - ۲).

بحث

شکل‌های باز فعال اکسیژن یا ROS حاوی مولکول‌های ناپایدار اکسیژن هستند که قادر به تغییر ساختارهای مختلف مولکولی، در فرد دیابتی ROS به روش‌های مختلف مانند پراکسیداسیون لیپید، اتواکسیداسیون گلوکز و گلیکاسیون غیرآنزیماتیک پروتئین به دلیل هیپرگلیسمی تولید می‌شود.[۱۵] زمانی که تولید ROS از عوامل خنثی‌کننده‌ی آن یعنی آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر شود، استرس اکسیداتیو به وجود می‌آید که ممکن است منجر به مرگ سلولی شود.[۱۶،۱۷] مدل‌های دیابتی تجربی و بالینی نشان داده‌اند که استرس اکسیداتیو القا شده به وسیله‌ی ROS به عنوان یک عامل کلیدی در آسیب قلب شرکت می‌کند.[۱۸] یافته‌های این مطالعه نشان داد که دیابت سبب آسیب اکسیداتیو در سلول‌های قلب و افزایش شدید پراکسیداسیون لیپید می‌شود. هم‌چنین یافته‌های ما نشانگر آپوپتوز و افزایش فاصله‌ی QT است. در تأیید این یافته‌ها، القای آپوپتوز بر اثر دیابت مطالعه‌های قبلی نیز گزارش شده است.[۱۹-۲۲] با در نظر گرفتن مکانیسم‌های گزارش شده به وسیله دیگران و بر اساس یافته‌های حاصل از این مطالعه، فرض ما بر این است که استرس اکسیداتیو ممکن است نقش اصلی را در ایجاد و القا آپوپتوز داشته باشد.[۲۳،۲۴] با توجه به مطالعه‌ی حاضر به موازات افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو، آپوپتوز نیز دیده می‌شود. هم‌چنین درمان با ویتامین E سبب بهبود شاخص‌های استرس اکسیداتیو و وضعیت آپوپتوز می‌شود که نشانگر اثر محافظتی ویتامین E علیه آپوپتوز است. به نظر می‌رسد این اثر ویتامین E مربوط به خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن باشد که به دلیل جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد، از آپوپتوز ناشی از آنها جلوگیری می‌کند. علاوه بر این، فاصله‌ی QT که نشانگر دپلاریزاسیون و رپلاریزاسیون بطن‌ها است در رت‌های دیابتی درمان نشده افزایش معنی‌دار پیدا کرد که نشاندهنده‌ی کاهش فعالیت الکترونیکی قلب و پیامد مکانیکی آن است. در این مطالعه درمان با ویتامین E سبب بهبود وضعیت الکتریکی بطن‌ها و برگشت به حالت طبیعی شد. در مطالعه‌ی حاضر هم‌چنین ۸- ایزوپرستان به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید در رت‌های دیابتی درمان نشده نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد که این یافته مکانیسم ناشی از افزایش آسیب اکسیداتیو را در بروز کاردیومیوپاتی دیابتی تقویت می‌کند. مصرف ویتامین E سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی در مطالعه‌ی حاضر شد. مطالعه‌های قبلی نیز نشان داده‌اند که ویتامین E سبب کاهش پراکسیداسیون لیپید و آسیب پراکسیداتیو می‌شود.[۱۳،۲۵،۲۶] لیپید پراکسیداسیون می‌تواند به طور مستقیم به وسیله‌ی رادیکال‌های آزاد سبب تخریب آنزیم‌ها شده و یا از طریق تغییرات شیمیایی به وسیله‌ی محصولات نهایی حاصل مانند مالون‌دی‌آلدهید و ۴- نوننال عمل نماید.[۲۶] یافته‌های این مطالعه هم‌چنین نشانگر افزایش معنی‌دار پروتئین کربونیل به عنوان شاخص اکسیداسیون پروتئین‌ها در رت‌های دیابتی درمان نشده نسبت به گروه شاهد و کاهش آن در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E بود. حذف این دو منبع مهم تولید رادیکال‌های آزاد به وسیله‌ی ویتامین E می‌تواند سبب بهبود غشای سلول و باز گشت آن به حالت فیزیولوژیک شده و غشای سلول را برای اتصال انسولین به آن مساعد کند. در مطالعه‌ی حاضر هم‌چنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر مصرف ویتامین E بالا رفت. SOD یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن است. عمل اصلی SOD تجزیه‌ی رادیکال‌های آنیونی سوپراکسید (اولین محصول رادیکالی اکسیژن) به آب اکسیژنه است که از این

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

طریق سمّیت سوپراکسید از بین رفته و رادیکال‌های آزاد ثانویه‌ی ناشی از سوپراکسید به وجود نمی‌آیند.[۲۷] در مطالعه‌ی ما میزان SOD در رت‌های دیابتی درمان نشده بالا رفت. یافته‌های مشابه در آئورت، قلب، کبد و پانکراس رت‌های دیابتی گزارش شده است.[۳۰-۲۸] گزارش شده است که میزان SOD در آئورت موش صحرایی دیابتی در مراحل اولیه‌ی دیابت به تدریج افزایش می‌یابد و در هفته‌ی چهارم به اوج خود می‌رسد. سپس به تدریج کاهش می‌یابد اما در مراحل نهایی دیابتی باز هم بالاتر از گروه شاهد باقی می‌ماند. در این مطالعه مصرف ویتامین E سبب افزایش معنی‌دار SOD نسبت به دیابتی درمان نشده و گروه شاهد شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در مطالعه حاضر در گروه‌های شاهد و دیابتی درمان نشده اختلاف معنی‌داری نداشت اما در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E میزان کاتالاز نسبت به دو گروه ذکر شده افزایش معنی‌دار نشان داد. کاتالاز در سلول‌های تمام پستانداران وجود دارد و مسئول تبدیل آب اکسیژنه به آب و اکسیژن است. برخلاف یافته‌های این مطالعه، مطالعه‌های دیگر نشان داده‌اند که میزان فعالیت کاتالاز در قلب حیوانات دیابتی افزایش معنی‌دار پیدا می‌کند.[۳۳-۳۱] این اختلاف در یافته‌ها ممکن است ناشی از نوع حیوان، طول دوره‌ی آزمایش و شدت دیابت باشد.

ویتامین E علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، دارای اثرهای دیگری بر سلول است که از طریق مکانیسم‌های غیر آنتی‌اکسیدانی اعمال می‌شوند. به عنوان مثال ویتامین E اثر انسولین بر غشای سلول را با مهار فعالیت پروتئین کنیاز-C و به صورت غیرآنزیمی بهبود می‌بخشد.[۳۴]

ویتامین E هم‌چنین فعالیت دی‌آسیل‌گلیسرول‌کنیاز را تسریع می‌کند بنابراین سبب کاهش میزان دی‌آسیل‌گلیسرول فعال کننده‌ی آلوستریک پروتئین کنیاز- C می‌شود.[۳۵] افزایش فعالیت پروتئین کنیاز- C ظاهراً به وسیله‌ی فسفریله کردن باقیمانده‌های سرین و ترئونین گیرنده‌های انسولین سبب اختلال در عمل انسولین می‌شود.[۳۶] اخیراً نشان داده شده است که ممکن است ویتامین E می‌تواند فعالیت این آنزیم‌ها را با کاهش میزان انحنایی غشای سلول تحت تأثیر قرار دهد.[۳۷]

در نهایت، مطالعه‌ی حاضر نشان داد که عوارض قلبی در رت‌های دیابتی درمان نشده با افزایش شاخص‌های استرس اکسیداتیو و بروز آپوپتوز همراه است و ویتامین E با مهار پراکسیداسیون لیپیدی و اکسیداسیون پروتئینی به طور معنی‌داری سبب کاهش آپوپتوز دیابتی می‌شود. از این‌رو این ویتامین اثری محافظتی دارد که با بازیابی عملکرد الکتروفیزیولوژیک قلب به صورت بهبود فاصله‌ی غیرطبیعی QT ظاهر می‌شود. در واقع ویتامین E به عنوان رُفتگر[i] رادیکال‌های آزاد حاصل از افزایش گلوکز، سبب افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

i- Scavenger

References

1. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait A, Eckel RH, Howard BV, et al. Diabetes and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. Circulation 1999; 100: 1134-46.
2. Rodrigues B, Cam MC, McNeill JH.Myocardial substrate metabolism: implications for diabetic cardiomyopathy. J Mol Cell Cardiol 1995; 27: 169-79.
3. Shizukuda Y, Reyland ME, Buttrick PM. Protein kinase C-delta modulates apoptosis induced by hyperglycemia in adult ventricular myocytes. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; 282: H1625-34.
4. Rodrigues B, Cam MC, Jian K, Lim F, Sambandam N, Shepherd G. Differential effects of streptozotocin-induced diabetes on cardiac lipoprotein lipase activity. Diabetes 1997; 46: 1346-53.
5. Kang YJ. Molecular and cellular mechanisms of cardiotoxicity. Environ Health Perspect 2001; 109 Suppl 1:27-34.
6. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. Physiol Rev 1999; 79: 215-62.
7. Srinivasan S, Stevens M, Wiley JW. Diabetic peripheral neuropathy: evidence for apoptosis and associated mitochondrial dysfunction. Diabetes 2000; 49: 1932-8.
8. Baumgartner-Parzer SM, Wagner L, Pettermann M, Grillari J, Gessl A, et al. High-glucose--triggered apoptosis in cultured endothelial cells. Diabetes 1995; 44: 1323-7.
9. Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, Jakoniuk I, Leri A, Maseri A, et al. Myocardial cell death in human diabetes. Circ Res 2000; 87: 1123-32.
10. Fiordaliso F, Li B, Latini R, Sonnenblick EH, Anversa P, Leri A, et al. Myocyte Death in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats Is Angiotensin II- Dependent. Lab Inves 2000; 80: 531-37.
11. Bonnefont-Rousselot D. Glucose and reactive oxygen species. Curr Opin Clin Nutr Metab Care 2002; 5: 561-8.
12. Li Li S, Li X, Rozanski GJ. Regulation of glutathione in cardiac myocytes. J Mol Cell Cardiol 2003; 35: 1145-52.
13. Shirpoor A, Ilkhanizadeh B, Saadatian R, Darvari BS, Behtaj F, Karimipour M, et al. Effect of vitamin E on

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

diabetes-induced changes in small intestine and plasma antioxidant capacity in rat. J Physiol Biochem 2006; 62: 171-7.
14. Wolff SP, Dean RT. Glucose autoxidation and protein modification. The potential role of 'autoxidative glycosylation' in diabetes. Biochem J 1987; 245: 243-50.
15. Fiordaliso F, Bianchi R, Staszewsky L, Cuccovillo I, Doni M, Laragione T, et al. Antioxidant treatment attenuates hyperglycemia-induced cardiomyocyte death in rats. J Mol Cell Cardiol 2004; 37: 959-68.
16. Ghosh S, An D, Pulinilkunnil T, Qi D, Lau HC, Abrahani A, et al. Role of dietary fatty acids and acute hyperglycemia in modulating cardiac cell death. Nutrition 2004; 20: 916-23.
17. Cai L, Kang YJ.Cell death and diabetic cardiomyopathy. Cardiovasc Toxicol 2003; 3: 219-28.
18. Trost S, LeWinter M.Diabetic Cardiomyopathy. Curr Treat Options Cardiovasc Med 2001; 3: 481-492.
19. Depre C, Young ME, Ying J, Ahuja HS, Han Q, Garza N, et al. Streptozotocin-induced changes in cardiac gene expression in the absence of severe contractile dysfunction. J Mol Cell Cardiol 2000;32: 985-96.
20. Swynghedauw B. Molecular mechanisms of myocardial remodeling. Physiol Rev 1999; 79: 215-62.
21. Cai L, Kang YJ. Cell death and diabetic cardiomyopathy. Cardiovasc Toxicol 2003; 3: 219-28.
22. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol 2005; 4: 5.
23. Cai L, Wang Y, Zhou G, Chen T, Song Y, Li X, et al. Attenuation by metallothionein of early cardiac cell death via suppression of mitochondrial oxidative stress results in a prevention of diabetic cardiomyopathy. J Am Coll Cardiol 2006; 48: 1688-97.
24. Javouhey-Donzel A, Guenot L, Maupoil V, Rochette L, Rocquelin G. Rat vitamin E status and heart lipid peroxidation: effect of dietary alpha-linolenic acid and marine n-3 fatty acids. Lipids 1993; 28: 651-5.
25. Witting LA. The interrelationship of polyunsaturated fatty acids and antioxidants in vivo. Prog Chem Fats Lipids 1970; 9: 519-53.
26. Halliwell B, Gutteridge J. Free radicals in biology and medicine. 3th ed. Oxford: Clarendon Press 1999.
27. Hunt JV, Smith CC, Wolff SP. Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. Diabetes 1990; 39: 1420-4.
28. Kakkar R, Mantha SV, Kalra J, Prasad K. Time course study of oxidative stress in aorta and heart of diabetic rat. Clin Sci (Lond) 1996; 91: 441-8.
29. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Antioxidant defense system in diabetic kidney: a time course study. Life Sci 1997; 60: 667-79.
30. Kakkar R, Mantha SV, Radhi J, Prasad K, Kalra J. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. Clin Sci (Lond) 1998; 94: 623-32.
31. Tatsuki R, Satoh K, Yamamoto A, Hoshi K, Ichihara K. Lipid peroxidation in the pancreas and other organs in streptozotocin diabetic rats. Jpn J Pharmacol 1997; 75: 267-73.
32. Matkovics B, Sasvári M, Kotormán M, Varga IS, Hai DQ, Varga C. Further prove on oxidative stress in alloxan diabetic rat tissues. Acta Physiol Hung 1997-1998; 85: 183-92.
33. Stefek M, Sotnikova R, Okruhlicova L, Volkovova K, Kucharska J, Gajdosik A, et al. Effect of dietary supplementation with the pyridoindole antioxidant stobadine on antioxidant state and ultrastructure of diabetic rat myocardium. Acta Diabetol 2000; 37: 111-7.
34. Azzi A, Ricciarelli R, Zingg JM. Non-antioxidant molecular functions of alpha-tocopherol (vitamin E). FEBS Lett 2002; 519: 8-10.
35. Azzi A, Breyer I, Feher M, Pastori M, Ricciarelli R, Spycher S, et al.Specific cellular responses to alpha-tocopherol. J Nutr 2000; 130: 1649-52.
36. Griffin ME, Marcucci MJ, Cline GW, Bell K, Barucci N, Lee D, et al. Free fatty acid-induced insulin resistance is associated with activation of protein kinase C theta and alterations in the insulin signaling cascade. Diabetes 1999; 48: 1270-4.
37. Bradford A, Atkinson J, Fuller N, Rand RP. The effect of vitamin E on the structure of membrane lipid assemblies. J Lipid Res 2003; 44: 1940-5.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]

Original Article

Protective Effect of Vitamin E on Diabetes Induced Apoptosis and Oxidative Stress in Rat Heart Tissue

Shirpoor A, Salami S, Khadem Ansari MK, Ghaderi Pakdel F, Khadem Vatani K, Saadatian R, Karimipour M.
College of Medicine, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran
e-mail: ashirpoor@yahoo.com

Abstract

Introduction: The purpose of this study was to determine and to assess the protective effect of vitamin E on cardiomyocyte apoptosis and oxidative stress status in the heart under hyperglycemic conditions, in vivo. Materias and Methods: Wistar male rats (n=16) at 6 months of age were made hyperglycemic by STZ. Same age, normal wistar rats (n=8) were used for comparison (controls). Diabetic rats were divided into two groups, the nontreated and those treated with vitamin E (300mg/kg/daily). Results: Diabetic rats exhibited severe apoptosis in cardiomyocytes. Also significant increases in lipid peroxidation as measured by 8- isoprostan, protein oxidation as measured by protein carbonyl content and superoxide dismutase were observed after 6 weeks. Catalase activity was shown to increase in controls compared to nontreated rats. A distinct elevation in the HbA1C, QT interval and a decline in the activity of catalase were also observed. Vitamin E treated rats shown significant decline in apoptosis, lipid peroxidation, protein carbonyl and QT interval compared to nontreated rats. Conclusion: Vitamin E decreased the incidence of apoptosis in cardiomyocytes, lipid peroxidation and improve antioxidant enzyme in the diabetic hearts of rats. Further research to confirm the findings is recommended.

Key words: Diabetes, Vitamin E, Wistar rat, Cardiomyocyte, Apoptosis, Oxidative stress

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-09-05]