مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی نوزدهم، شماره‌ی ۶، صفحه‌های ۴۰۹ ـ ۳۹۹ (بهمن ـ اسفند ۱۳۹۶)

مقاله‌ی پژوهشی

ارزیابی آثار محافظتی رزوواستاتین از طریق ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو بافت کبد در موش‌های صحرایی دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین

سمیرا یزدانی‌مهر[۱]، دکتر محمدتقی محمدی[۲]

۱) مرکز تحقیقات بیماری‌های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران، ۲) گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، تهران، ایران، **نشانی مکاتبه با نویسنده‌ی مسئول:** تهران، خیابان ملاصدرا، خیابان شیخ بهایی جنوبی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دکتر محمد تقی محمدی؛
e-mail: Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

چکیده

مقدمه: توانایی ضعیف آنتی‌اکسیدانی کبد و آسیب اکسیداتیو نقش اساسی در ایجاد آسیب به سلول‌های کبدی در شرایط دیابت دارد. بر طبق ماهیت آنتی‌اکسیدانی رزوواستاتین، هدف مطالعه‌ی حاضر بررسی اثر بهبودی رزوواستاتین بر ظرفیت آنتی-اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو بافت کبدی در دیابت بود. مواد و روش‌ها: بیست و چهار سر موش صحرایی به طور تصادفی در چهار گروه تقسیم شدند (n=۶): نرمال، نرمال درمان شده، دیابتی و دیابتی درمان شده. موش‌ها با یک تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین به بیماری دیابت مبتلا شدند (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم). حیوانات درمان شده، رزوواستاتین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) را به طور روزانه توسط لوله‌ی گاواژ برای شصت روز دریافت کردند. در پایان، نمونه‌ی خونی جهت ارزیابی میزان گلوکز و بافت کبدی برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدهید، گلوتاتیون و NOx (نیترات و نیتریت) و هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسایددیسموتاز جمع‌آوری شدند. یافته‌ها: القای دیابت (گلوکز خون>۳۰۰ میلی‌گرم در یک صد میلی‌لیتر) باعث افزایش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدهید (۴/۰۰±۰/۴۴ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه نرمال (۰/۳۹±۰/۰۸ میکرومول در لیتر) شد، در حالی‌که رزوواستاتین بدون تاثیر بر گلوکز خون به طور معنی‌داری (۲/۴۲±۰/۵۶ میکرومول در لیتر) آن را کاهش داد. دیابت میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسایددیسموتاز را به ترتیب ۸۱ درصد و ۵۴ درصد کاهش داد. درمان با رزوواستاتین باعث افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز (۹۰ درصد) و مقدار گلوتاتیون (۶۵ درصد) در موش-های دیابتی شد. هم‌چنین، دیابت به طور معنی‌داری مقدار NOx (۱±۱۵ میکرومول در لیتر) را در مقایسه با گروه نرمال (۱۵±۳۴ میکرومول در لیتر) کاهش داد، در حالی‌که رزوواستاتین به طور معنی‌داری آن را افزایش داد (۱۶±۶۱ میکرومول در لیتر). نتیجه‌گیری: نتایج ما نشان می‌دهد رزوواستاتین قادر است توانایی آنتی‌اکسیدانی کبد دیابتی را افزایش دهد. بنابراین، درمان با رزوواستاتین ممکن است آسیب‌های بافتی و اکسیداتیو کبد را در شرایط دیابتی بهبود بخشد.

واژگان کلیدی: رزوواستاتین، دیابت شیرین، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آسیب اکسیداتیو، هیپرگلایسمی
دریافت مقاله: ۹۶/۵/۱ـ دریافت اصلاحیه: ۹۶/۱۰/۱۳ ـ پذیرش مقاله: ۹۶/۱۱/٤

مقدمه

در دیابت شیرین، تولید انواع رادیکال‌های آزاد، همانند گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)،[i] به صورت گسترده در بافت‌های مختلف بدن از جمله بافت کبد افزایش می‌یابد.[۱،۲] این رادیکال‌های فعال به دلیل واکنش‌پذیری بسیار بالا با ماکرومولکول‌های مهم و حیاتی سلول، از جمله اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها و لیپیدها، باعث اختلال در عملکرد حیاتی سلول‌ها می‌شوند.[۳،٤] کبد هم مانند سایر اعضای بدن تحت

i -Reactive oxygen species

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

تاثیر دیابت قرار گرفته و دچار بیماری کبد چرب غیرالکلی (NAFLD)[i] می‌شود که با برخی تغییرات عملکردی در بافت کبد همراه است.[۵] بر پایه‌ی شواهد، افزایش تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت کبد در ایجاد این نوع بیماری کبدی طی دیابت نقش کلیدی دارد.[۶،۷] هم‌چنین، بروز آسیب‌های کبدی و در نهایت ایجاد سیروز، یکی از عواقب دیابت مزمن و کنترل نشده است که بروز آسیب اکسیداتیو به همراه التهاب در پیشبرد آن نقش اساسی دارد.[۶] نتایج تحقیقات نشان می‌دهند طی دیابت، اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد و فرآیند پراکسیداسیون لیپیدها به دلیل تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت کبد افزایش می‌یابد و منجر به تغییرات ساختاری و عملکردی در هپاتوسیت‌های کبدی می‌شود.[۸] در طی دیابت، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت کبد، که در شرایط طبیعی مسئولیت حذف و جلوگیری از تجمع این رادیکال‌ها را بر عهده دارد، به شدت تضعیف می‌شود.[۷] در این میان می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم‌های مرتبط، همچون سوپراکساید دیسموتاز و کاتالاز اشاره کرد که باعث آسیب اکسیداتیو در این بافت می‌شود.[۱۰۶]

استاتین‌ها جزء مهارکننده‌های رقابتی آنزیم ۳-هیدروکسی-۳- متیل گلوتاریل کوآنزیم- آ ردوکتاز[ii] هستند که از طریق مهار کبدی این آنزیم سبب کاهش کلسترول خون می‌شوند. مطالعات اخیر اثرات بسیار سودمندی از این داروها در برخی شرایط پاتولوژیک مستقل از اثرات کاهندگی کلسترول خون گزارش کرده‌اند.[۹-۱۱] این داروها علاوه بر خاصیت پایین آورندگی کلسترول و تری‌گلیسیرید خون، دارای اثرات ضدالتهابی، گشادکنندگی عروقی، آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌آپوپتوزی هستند.[۹،۱۰] در این بین، اثرات مفید رزوواستاتین بر روی کبد در برخی از اختلالات پاتولوژیک گزارش شده است.[۱۲،۱۳] بررسی‌های انجام شده در بیمارانی که دچار سندرم متابولیک بودند، نشان می‌دهد رزوواستاتین از آسیب کبدی و بروز NAFLD جلوگیری می‌کند و خطر بروز بیماری‌های قلبی-عروقی را در این بیماران کاهش می‌دهد.[۱۴،۱۵] در مطالعه‌ای دیگر، کارکیوتیس[iii] و همکارانش اثرات ممانعت‌کننده‌ی رزوواستاتین در مقابل التهاب کبدی و آسیب به هپاتوسیت‌ها را در افرد دارای کلسترول خون بالا و اختلالات لیپیدی گزارش کردند.[۱۴] هم‌چنین در تحقیقی دیگر مشخص شد رزوواستاتین از کارسینومای سلول‌های کبدی در موش‌های صحرایی مبتلا به NAFLD جلوگیری می‌کند که این شرایط بیشتر در افراد چاق دیابتی و یا بیماری سندرم متابولیک رخ می‌دهد.[۱۳]

با توجه به این نکته که بر اساس جستجوهای انجام شده، تحقیقی درباره تاثیر داروی رزوواستاتین بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کبد در زمان دیابت، یافت نشد و هم‌چنین با در نظر گرفتن اثرات مفید رزووستاتین،[۹،۱۶] در مطالعه‌ی حاضر تأثیر رزوواستاتین بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، آسیب اکسیداتیو و در نهایت میزان تولید نیتریک اکساید در بافت کبد در موشهای صحرایی نر بالغ دیابتی شده با استرپتوزوتوسین مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات و نحوه‌ی نگه‌داری: در این تحقیق که یک مطالعه مداخله‌ای ـ تجربی بود، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تهیه شده از مرکز پژوهشی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله در محدوده‌ی وزنی ۲۲۰-۱۹ گرم استفاده شد. در تمامی آزمایش‌ها شرایط کار با حیوانات آزمایشگاهی تعیین شده، توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله رعایت شد. کد کمیته‌ی اخلاق برای مطالعه‌ی حاضر IR.BMSU.REC.1396.169 بود. حیوانات بدون داشتن محدودیتی از نظر مصرف آب و غذا در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و تاریکی با درجه حرارت ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد) در طی آزمایش نگه‌داری شدند.

نحوه‌ی القای دیابت شیرین: برای ایجاد دیابت شیرین نوع اول از استرپتوزوتوسین (سیگما، USA) استفاده شد. حیوانات توسط داروی ترکیبی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و دیازپام (۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند. سپس از محلول از پیش تهیه شده استرپتوزوتوسین (به میزان ۴۰ میلی‌گرم به‌ازای یک کیلوگرم وزن بدن) از راه ورید جانبی دم به حیوان تزریق شد.[۱۷،۱۸] ۷۲ ساعت بعد از تزریق استرپتوزوتوسین، میزان قند خون اندازه‌گیری شد و حیواناتی که گلوکز سرمی بالای ۳۰۰ میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر داشتند به عنوان حیوان دیابتی انتخاب و وارد دوره‌ی آزمایش شدند.

گروه‌بندی حیوانات: در این مطالعه، موش‌های صحرایی به صورت تصادفی به ۴ گروه ۶ تایی تقسیم شدند (N=۲۴): گروه نرمال، گروه نرمال دریافت‌کننده‌ی رزوواستاتین

i -Nom-alcoholic fatty liver disease
ii -3-Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase
iii -Karqiotis

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

(نرمال و رزوواستاتین)، گروه دیابتی، گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی رزوواستاتین (دیابتی و رزوواستاتین). گروه نرمال شامل موش‌های صحرایی سالمی بودند که در طول آزمایش هیچ دارویی مصرف نکرده و روزانه یک میلی‌لیتر آب مقطر به صورت دهانی و به مدت ۲ ماه دریافت کردند. در گروه نرمال و رزوواستاتین، تمامی پروتکل‌های آزمایش شبیه گروه نرمال بوده با این تفاوت که حیوانات این گروه به مدت ۲ ماه داروی رزوواستاتین (AstraZeneca, UK) به مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت روزانه از طریق دهانی توسط لوله گاواژ دریافت کردند. حیوانات گروه دیابتی ۳ روز پس از ثابت شدن علائم دیابت (پرنوشی، پرادراری و گلوکز خون بالا) و اطمینان از حصول دیابت به عنوان گروه کنترل دیابتی در نظر گرفته شدند. حیوانات این گروه در طول آزمایش، هیچ دارویی مصرف نکردند و تنها یک میلی‌لیتر آب مقطر روزانه و به مدت ۲ ماه از طریق دهانی دریافت کردند. در حیوانات گروه دیابتی و رزوواستاتین تمامی انجام مراحل آزمایش از جمله القای دیابت شبیه گروه دیابتی بود، با این تفاوت که در طی دوره آزمایش با داروی رزوواستاتین (به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت روزانه از طریق دهانی تیمار شدند.

در انتهای آزمایش، حیوانات تحت بیهوشی عمیق قرار گرفتند و پس از خون‌گیری، بافت کبد جدا و به سرعت به داخل نیتروژن مایع و سپس به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال یافت. سرم خون به وسیله دستگاه سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) جدا شد. از سرم‌های جداشده میزان گلوکز خون به وسیله دستورالعمل شرکت پارس آزمون به شرح زیر مورد سنجش قرار گرفت.

اندازه‌گیری غلظت گلوکزخون: جهت اندازه‌گیری گلوکز خون از کیت تشخیص کمی گلوکز خون به روش نورسنجی (پارس آزمون، ایران) استفاده شد. در این روش، آب اکسیژنه‌ی آزاد شده از گلوکز در مجاورت آنزیم گلوکز اکسیداز با فنول و ٤-امینو آنتی پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز تشکیل کینونیمین می‌دهد. میزان کینونیمین تشکیل شده که با روش نورسنجی قابل اندازه‌گیری است، با مقدار گلوکز رابطه کاملا مستقیم دارد. بدین‌منظور با استفاده از سمپلر، ۱۰ میکرولیتر از نمونه (سرم تهیه شده) یا محلول استاندارد را با ۱۰۰۰ میکرولیتر از معرف کیت تشخیص گلوکز مخلوط نموده و پس از ۲۰ دقیقه انکوبه کردن در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد جذب نوری در طول موج ٥٤٦ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL-2501, England) قرائت شد و غلظت گلوکز خون (میلی‌گرم در دسی لیتر) از فرمول زیر محاسبه شد:

گلوکز خون (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر) = [جذب نوری نمونه ÷ جذب نوری استاندارد] × غلظت محلول استاندارد (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)

اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدها: برای تعیین میزان مالون‌دی‌آلدئید بافت کبد، ابتدا بافت منجمد شده به دقت توزین و به نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنیزه شده و پس از آن نمونه‌ها در g ۱٤۰۰۰ و ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. در ادامه، به ۵۰۰ میکرولیتر بافت هموژنه، ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۱۰ درصد اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد، سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی را برداشته و ۲ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک ۰/٦۷٪ به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوش قرار گرفت؛ سپس ۲ میلی‌لیتر ۱- بوتانل به محلول اضافه و بعد از ورتکس شدید، به مدت ۱۵ دقیقه در ٤۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. جذب محلول رویی صورتی رنگ به وسیله دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. غلظت مالون‌دی‌آلدئید، با استفاده از ۱، ۱، ۳ و ۳ تترا اتوکسی‌پروپان به عنوان استاندارد، بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین شد. محلول استاندارد مالون‌دی‌آلدئید در غلظت‌های ۲۰-۰/۲ میکرومولار در اسیدسولفوریک ۱۰٪ تهیه گردید. در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدئید برحسب میکرومول در لیتر ارائه شد.[۱۹]

بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد: در روز آزمایش، بافت‌های منجمد شده به دقت توزین و به نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنیزه شده و پس از آن نمونه‌ها در g ۱٤۰۰۰ و ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. از محلول رویی جهت سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکساید دیسموتاز و هم‌چنین مقدار گلوتاتیون استفاده شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، ۰/۲ میلی‌لیتر EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۱/۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر بافت هموژنیزه (یا بافر برای کنترل) به یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۰/۰۵

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

میلی‌لیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۶۷ مولار pH= ۷/۸ اضافه و به مدت ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس جذب در طی ۵ دقیقه در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز مقدار آنزیم مورد نیاز است تا ۵۰ درصد از سرعت احیاء NBT مهار شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.[۲۰]

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به حجم معینی از عصاره بافتی، اتانول مطلق (۰/۰۱ میلی‌لیتر در میلی‌لیتر) اضافه شد و مدت ۳۰ دقیقه در یخ اینکوبه گردید. سپس تریتون X–100 ده درصد با غلظت نهایی یک درصد اضافه شد. این محلول جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم به کار برده شد. واکنش با اضافه کردن ۰/۰۵ میلی‌لیتر H_2O_2 ۳۰ میلی‌مولار به نمونه بافتی در بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار pH=۷ شروع شد. سپس جذب در طی ۳ دقیقه در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت شد. یک واحد فعالیت کاتالاز، مقدار یک میکرومول از H_2O_2 است که در یک دقیقه تجزیه می‌شود. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌لیتر محاسبه شد.[۲۱]

برای سنجش میزان گلوتاتیون غلظت مناسبی از نمونه هموژنه با ۱۰ میکرولیتر اسید سولفوسالسیلیک ۵ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور g ۲۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی برداشته به ۸۱۰ میکرولیتر دی سدیم فسفات ۰/۳ مولار اضافه شد. سپس با اضافه کردن ۹۰ میکرولیتر معرف دی تیو-بیس- نیتروبنزوئیک اسید (DTNB) ۰/٤ درصد محلول در سیترات سدیم ۱ درصد واکنش شروع گردید. تغییرات جذب در طول موج ٤۱۲ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوتاتیون ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر منحنی استاندارد گلوتاتیون رسم گردیده و غلظت گلوتاتیون بر حسب میکرومول در لیتر محاسبه گردید. محلول استاندارد گلوتاتیون در غلظت‌های ۲۰۰ – ۲۵ میکرو مولار تهیه شد.[۲۱]

اندازه‌گیری سطح NOx (مجموع نیترات و نیتریت) بافت کبد: ابتدا بافت کبد منجمد شده به دقت توزین و به نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنیزه شده و پس از آن نمونه‌ها در g ۱٤۰۰۰ و ٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند. از محلول رویی جهت سنجش NOx استفاده شد. سپس با استفاده از سولفات روی، پروتئین زدایی نمونه‌ها انجام شده و ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید وانادیوم III (۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) اضافه شد تا نیترات را به نیتریت احیا کند. سپس محلول گریس شامل ۵۰ میکرو لیتر سولفانیل آمید (۲٪) و ۵۰ میکرولیتر اتیلین دی آمید دی هیدروکلرید (۱٪) اضافه گردیده و۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. سپس رنگ به دست آمده در طول موج ۵٤۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شده و جذب نمونه‌ها با جذب استاندارد (۵، ۱۰، ۲۰، ٤۰، ۶۰ ، ۸۰ و ۱۰۰ میکرو مولار نیتریت) مقایسه و غلظت نمونه‌ها محاسبه گردید. در نهایت غلظت NOx برحسب میکرومول در لیتر بیان شد.[۱۹]

به منظور ارزیابی دقت روش اندازه‌گیری‌های مربوط به تست‌های بیوشیمیایی، از آزمون‌های درون سنجش و برون سنجش نمونه‌هایی با غلظت متوسط و تکرار شش گانه برای پارامترهای مورد نظر استفاده شد. درصد تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب برابر با ۷/٤ درصد و ۸/۱ درصد برای مالون‌دی‌آلدهید، ۲/۲ درصد و ۲/۷ درصد برای گلوتاتیون و ۵/۳ درصد و ۷/۱ درصد برای NOx به دست آمد. هم‌چنین درصد تغییرات درون آزمونی و برون آزمونی به ترتیب برابر با ۱۰/۲ درصد و ۱۰/۶ درصد برای آنزیم کاتالاز و ٤/۱ درصد و ۵/۵ درصد برای آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بود.

بررسی‌های آسیب‌شناختی بافت کبد: بدین‌منظور، در پایان آزمایش، حیوانات تحت بیهوشی عمیق کشته شدند و بافت کبد بعد از خارج شدن جهت تثبیت به مدت دو هفته در فرمالین ۱۰ درصد قرار گرفت. به دنبال آن مراحل آماده سازی بافت، قالب‌گیری با پارافین مطابق روش های روتین انجام گرفته و برش‌گیری توسط دستگاه میکروتوم با ضخامت ۵ میکرومتر انجام شد. مقاطع تهیه شده در محل مورد نظر، پس از انتقال بر روی لام با روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت مراحل آب‌گیری، شفاف-سازی و فرآیند مانت کردن صورت پذیرفت. لام‌های حاصل توسط میکروسکوپ نوری (Nikon) مورد ارزیابی قرار گرفتند و به کمک دوربین مخصوص میکروسکوپ متصل به کامپیوتر (CMEX)، از نقاط مورد نظر تصاویر تهیه شد و شاخص‌های نکروز سلولی (حاوی هسته‌های پیکنوته، متراکم و چروکیده) و تخریب بافتی (واکوئولیزاسیون) مورد ارزیابی قرار گرفتند.

آنالیز آماری: نتایج آماری به صورت میانگین±خطای استاندارد میانگین (Mean±SEM) ارائه شده است. داده‌ها با

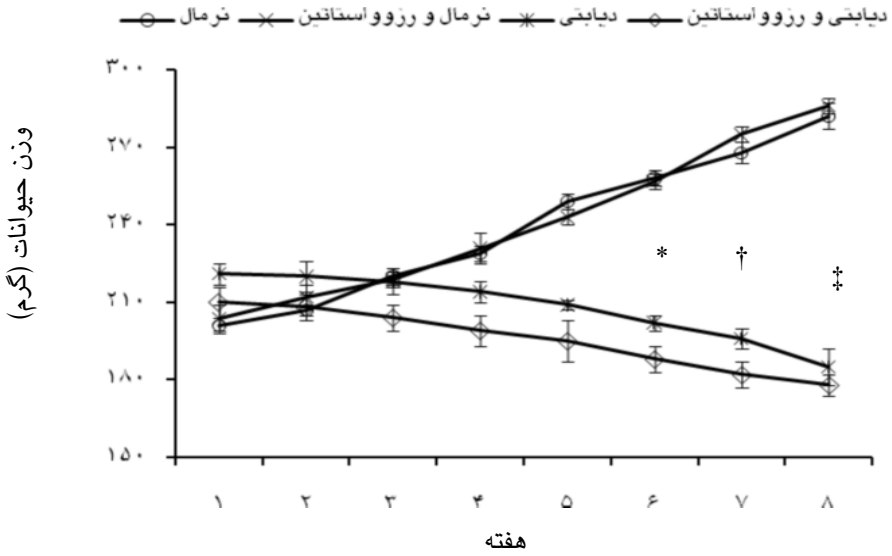
[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ تحلیل شدند و از آزمون کولموگروف ـ اسمیرنوف[i] برای نشان دادن توزیع نرمال داده‌ها استفاده شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برای تحلیل داده‌های گلوکز خون، مقدار مالون‌دی‌آلدهید، فعالیت آنزیم کاتالاز و مقدار گلوتاتیون و از آزمون تعقیبی LSD برای داده‌های فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز و مقدار NOx استفاده شد. سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. هم‌چنین در تمامی موارد حدود اطمینان ۹۵ درصد بود.

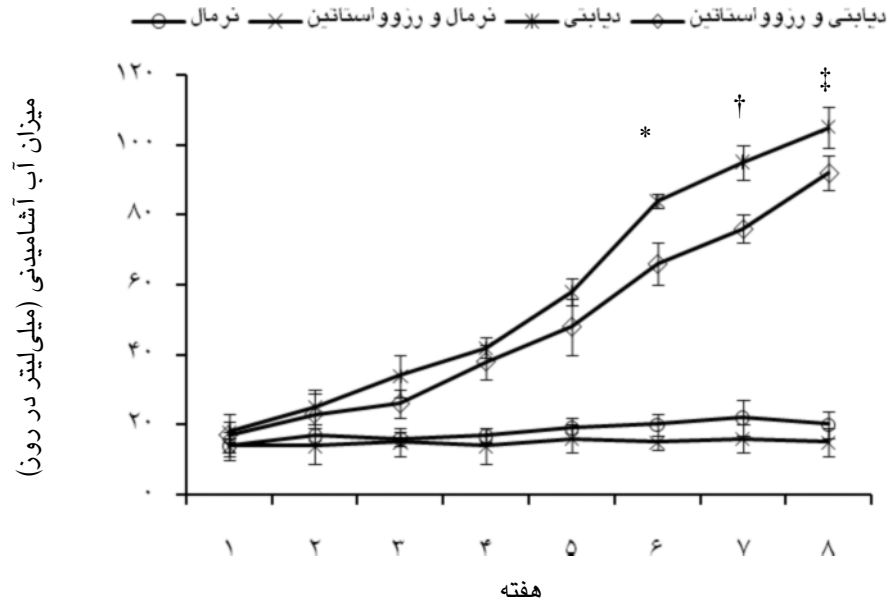
یافته‌ها

تغییرات وزن حیوانات و میزان مصرف آب آشامیدنی: نتایج مربوط به تغییرات وزن حیوانات و میزان مصرف آب آشامیدنی آن‌ها به ترتیب در نمودارهای ۱ و ۲ نشان داده شده است.



نمودار ۱- تغییرات وزن حیوانات (گرم) در گروه‌های مورد مطالعه در طول دوره آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

* و † و ‡ به ترتیب نشان‌گر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه نرمال در همان روز



نمودار ۲- تغییرات میزان مصرف آب آشامیدنی حیوانات (میلی‌لیتر در روز) در گروه‌های مورد مطالعه در طول دوره آزمایش. داده‌ها به صورت میانگین±انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

* و † و ‡ به ترتیب نشان‌گر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰۵ و P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه نرمال در همان روز

i- Kolmogorov–Smirnov

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

میزان وزن حیوانات نرمال در طول آزمایش در حال افزایش بود. در حالی که میزان وزن در حیوانات دیابتی در طول آزمایش در حال کاهش بود. تیمار با رزوواستاتین بر میزان تغییرات وزن حیوانات نرمال و دیابتی تاثیری نداشت. هم‌چنین، میزان مصرف آب آشامیدنی در حیوانات گروه نرمال در طول آزمایش بدون تغییر بود، اما در حیوانات گروه دیابتی در طول دوره آزمایش افزایش یافت. تیمار با رزوواستاتین بر میزان مصرف آب آشامیدنی همچون وزن حیوانات در هر دو گروه نرمال و دیابتی بی‌تاثیر بود.

نتایج گلوکز خون: میزان گلوکز خون حیوانات مورد مطالعه در پایان آزمایش در تمامی گروه‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- تغییرات غلظت گلوکز خون (میلی‌گرم بر یک صد میلی‌لیتر)، سطوح غلظت‌های مالون دی آلدهید (میکرومول بر لیتر)، گلوتاتیون (میکرومول بر لیتر) و NOx (میکرومول بر لیتر) بافت کبد و هم‌چنین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (واحد بر میلی‌لیتر) و سوپراکساید دیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر) بافت کبد در گروه‌های مورد مطالعه.

گروه‌ها / متغیرها	نرمال	نرمال و رزوواستاتین	دیابتی	نرمال و رزوواستاتین
گلوکز خون (میلی‌گرم بر یک صد میلی‌لیتر)	۱۰±۱٤٤	۸±۱۳۱	۳۳±۳۳٥†	٤۱±۳٤۸†
مالون‌دی آلدهید (میکرومول بر لیتر)	۰/۳۹±۱/۰۸	۰/٥٦±۲/٤۲	۰/٤٤±٤/۰۰†	۰/۷٤±۱/۲۲§
کاتالاز (واحد بر میلی‌لیتر)	۰/۰۲±۰/۱۱	۰/۰۱±۰/۰٥	۰/۰۲±۰/۰۲*	۰/۰۷±۰/۲۲¶
سوپراکساید دیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر)	۱٤±٦۲	۱۸±۳٦	۳±۲۸	۱۱±۳۸
گلوتاتیون (میکرومول بر لیتر)	۱۰±۲۸٤	۱۸±۳۷٤	۱٦±۳٤۱	٦۸±۹۹۰‡¶
NOx (میکرومول بر لیتر)	۱٥±٤۳	۷±٥۲	۱٥±۱*	۱٦±٦۱

داده‌ها به صورت Mean±SEM نشان داده شده‌اند. * و † و ‡ به ترتیب نشان‌گر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰٥ و P<۰/۰۱ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه نرمال، § و ¶ به ترتیب نشان‌گر تفاوت معنی‌دار با P<۰/۰٥ و P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه دیابتی

میزان گلوکز خون حیوانات گروه نرمال و نرمال دریافت‌کننده رزوواستاتین در پایان آزمایش به ترتیب برابر با ۱۰±۱٤٤ و ۸±۱۳۱ میلی‌گرم در یک صد میلی‌لیتر بود که مقایسه آماری بین آن‌ها تغییر معنی‌داری را نشان نمی‌داد. القای دیابت، میزان گلوکز خون را در حیوانات گروه دیابتی در مقایسه با گروه نرمال به طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰۰۲)، که میزان آن در پایان آزمایش برابر ۳۳±۳۳٥ میلی‌گرم در یک صد میلی‌لیتر بود. هم‌چنین القای دیابت، میزان گلوکز خون را در حیوانات گروه دیابتی درمان شده با رزوواستاتین در مقایسه با گروه نرمال به طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰۰۱)، که مقدار آن در پایان آزمایش برابر ٤۱±۳٤۸ میلی‌گرم در یک صد میلی‌لیتر بود. نهایتا، در مقایسه آماری، گلوکز خون حیوانات گروه کنترل دیابتی و دیابتی درمان شده با رزوواستاتین تفاوت معنی‌داری وجود نداشت.

نتایج مربوط به تغییرات مالون‌دی‌آلدهید: تغییرات میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت کبد بر حسب میکرومول در لیتر در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت کبد در حیوانات گروه کنترل دیابتی (۰/٤٤±٤/۰۰ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه نرمال (۰/۳۹±۱/۰۸ میکرومول در لیتر) به طور معنی‌داری افزایش یافت (P=۰/۰۰۲). تیمار با رزوواستاتین، میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت کبد گروه دیابتی درمان شده (۰/۷٤±۱/٥۲ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی را به طور معنی‌داری کاهش داد (P=۰/۰۱۱). در حالی که تیمار با رزوواستاتین، تأثیر معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت کبد در گروه نرمال درمان شده (۰/٥٦±۲/٤۲ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه کنترل نرمال ایجاد نکرد.

نتایج فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کبد: تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کبد بر حسب واحد بر میلی‌لیتر در جدول ۱ نشان داده شده است. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بافت کبدی در حیوانات گروه‌های نرمال و نرمال تیمار شده با رزوواستاتین به ترتیب برابر با ۰/۰۲±۰/۱۱ و ۰/۰۱±۰/۰٥ واحد بر میلی‌لیتر بود که از لحاظ آماری، تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد. القای دیابت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در بافت کبد را در حیوانات گروه کنترل دیابتی

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

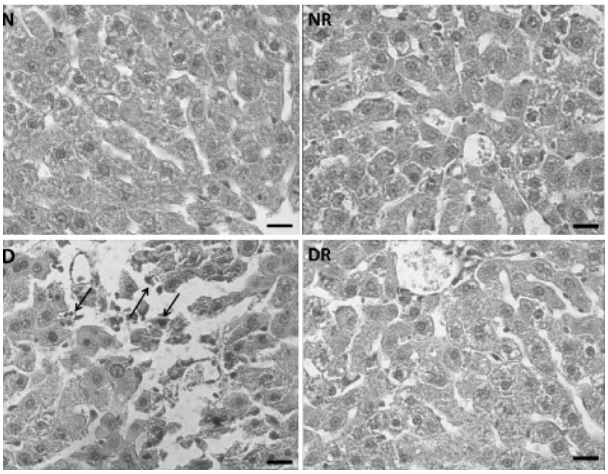
(۰/۰۲±۰/۰۲ واحد بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه نرمال به‌طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد. در حالی که، تیمار با رزوواستاتین میزان فعالیت این آنزیم در حیوانات گروه دیابتی درمان شده (۰/۲۲±۰/۰۷ واحد بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی را به طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰٤).

نتایج مربوط به فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز: میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت کبد بر حسب واحد بر میلی‌لیتر در جدول ۱ نشان داده شده است. میانگین فعالیت این آنزیم در گروه‌های نرمال و نرمال تیمار شده با رزوواستاتین در طول دوره آزمایش به ترتیب برابر با ٦۲±۱٤ و ۳٦±۱۸ واحد بر میلی‌لیتر بود که از لحاظ آماری، تفاوت معنی‌داری بین این دو گروه مشاهده نشد. القای دیابت میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت کبدی را در حیوانات گروه کنترل دیابتی (۳±۲۸ واحد بر میلی‌لیتر) را در مقایسه با گروه نرمال کاهش داد، هر چند این کاهش از لحاظ آماری، معنی‌دار نبود (P=۰/۰۹۹). بین میزان فعالیت این آنزیم در حیوانات گروه دیابتی درمان شده (۱۱±۳۸ واحد بر میلی‌لیتر) با گروه کنترل دیابتی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت که علت آن احتمالا به دلیل تعداد کم نمونه در هر گروه با توجه به محدودیت انتخاب نمونه به دلیل شرایط آزمایش است.

نتایج تغییرات گلوتاتیون بافت کبد: جدول ۱ تغییرات میزان گلوتاتیون بافت کبد بر حسب میکرومول در لیتر را نشان می‌دهد. تیمار با رزوواستاتین در حیوانات گروه نرمال درمان شده (۱۸±۳۷٤ میکرومول در لیتر) و القا دیابت در حیوانات گروه کنترل دیابتی (۱٦±۳٤۱ میکرومول در لیتر) تأثیر معنی‌داری بر میزان گلوتاتیون بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل نرمال (۱۰±۲۸٤ میکرومول/لیتر) ایجاد نکرد. در حالی که تیمار با رزوواستاتین در طی دوره آزمایش سطح گلوتاتیون بافت کبدی در حیوانات گروه دیابتی درمان‌شده (٦۸±۹۹۰ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی را به طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰۰۱).

نتایج تغییرات NOx بافت کبد: تغییرات غلظت NOx (شاخص تولید نیتریک اکساید) بافت کبد بر حسب میکرومول در لیتر در جدول ۱ نشان داده شده است. القای دیابت، سطح NOx بافت کبد را در حیوانات گروه کنترل دیابتی (۰/۸±۱۵ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه نرمال (۱۵±٤۳ میکرومول در لیتر) به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد (P=۰/۰۸). تیمار با رزوواستاتین در طول دوره آزمایش تأثیر معنی‌داری بر میزان NOx بافت کبدی حیوانات گروه نرمال درمان شده (۷±۵۲ میکرومول در لیتر) در مقایسه با گروه کنترل نرمال ایجاد نکرد. در حالی که تیمار با رزوواستاتین در طی دوره آزمایش سطح NOx بافت کبدی در حیوانات گروه دیابتی درمان شده (۱٦±٦۱ میکرومول در لیتر) را در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به طور معنی‌داری افزایش داد (P=۰/۰۰۹).

نتایج تغییرات آسیب‌شناختی بافت کبد: همان‌طور که تصاویر میکروسکوپی تهیه شده از بافت کبد (شکل ۱) نشان می‌دهد، در حیوانات گروه نرمال و نرمال درمان شده با رزوواستاتین، بافت کبد و هپاتوسیت‌های کبدی سالم به نظر می‌رسند. در حیوانات گروه دیابتی، تخریب در بافت کبدی به همراه سلول‌های پیکنوته و نکروز شده (هسته‌های متراکم و چروکیده) به وضوح قابل مشاهده است. میزان این صدمات در بافت کبد حیوانات دیابتی درمان شده با رزوواستاتین به مقدار زیادی کاهش یافته است.



شکل ۱- مقاطع عرضی بافت کبد با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین در گروه‌های نرمال (N)، نرمال درمان شده با رزوواستاتین (NR)، دیابتی (D) و دیابتی درمان شده با رزوواستاتین (DR). در گروه دیابتی تخریب بافت کبد به همراه سلول‌های نکروز شده و پیکنوته به وضوح مشاهده می‌شود (Scale bars: 20 μm، 400X).

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

بحث

ایجاد دیابت در مطالعه‌ی حاضر، باعث تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت کبد شد، به طوری که میزان فعالیت آنزیم‌های این سیستم هم‌چون کاتالاز و سوپراکساید دیسموتاز در بافت کبد حیوانات دیابتی کاهش یافت. بر این اساس، میزان مالون‌دی‌آلدهید به عنوان شاخص تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و بروز آسیب اکسیداتیو در بافت کبد حیوانات دیابتی به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش پیدا کرد. رزوواستاتین در حیوانات دیابتی درمان شده، از طریق تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد (افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکساید دیسموتاز و هم‌چنین افزایش میزان گلوتاتیون)، تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و بروز آسیب اکسیداتیو (کاهش میزان مالون‌دی‌آلدهید) بافت کبدی را کاهش داد. هم‌چنین نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد، رزوواستاتین میزان NOx (شاخص تولید نیتریک‌اکساید) در بافت کبد حیوانات دیابتی که در طی دیابت کاهش پیدا کرده بود، را افزایش می‌دهد.

گلوکز بالای خون (هیپرگلیسمی) در طی دیابت باعث صدمات مختلف ساختاری و عملکردی در بافت‌های مختلف بدن از جمله بافت کبد می‌شود.[۶،۸] تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت کبد در حین دیابت نقش کلیدی در ایجاد این آسیب‌ها در بافت کبد دارد و طبق گزارشات، در ایجاد بیماری کبد چرب غیرالکلی که در طی دیابت ایجاد شده، نقش دارد.[۶،۷] در مطالعه‌ی حاضر همچون سایر تحقیقات مرتبط، میزان تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و بروز آسیب اکسیداتیو (افزایش میزان مالون‌دی‌آلدهید) در بافت کبد حیوانات دیابتی افزایش پیدا کرد. تجمع این رادیکال‌ها در بافت کبد، باعث اکسیداسیون اسیدهای چرب و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شود.[۸] این تغییرات باعث صدمه به سلول‌ها و بافت کبد می‌شود که میزان و شدت این آسیب‌ها به وضوح در بررسی‌های آسیب شناختی قابل مشاهده بود. استرس اکسیداتیو مزمن در بافت کبد هم‌چنین باعث فعال شدن یا غیرفعال شدن برخی از سیگنال‌های مربوط به چرخه سلولی در سلول‌های کبدی شده که توان تکثیر و ترمیم این سلول‌ها را کاهش داده و فرآیند آپوپتوز و مرگ سلولی هپاتوسیت‌های کبدی را تسریع می‌کند.[۲۲] هم‌چنین استرس اکسیداتیو سبب تجمع سیتوکاین‌های پیش‌التهابی هم‌چون فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا (TNF-α) و اندوتوکسین‌های باکتریال در بافت کبد و در نهایت باعث سیروز کبدی و التهاب در این بافت می‌شود.[۲۳] دلایل متعددی وجود دارد که دیابت از طریق آن‌ها سبب تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت کبد و آسیب اکسیداتیو می‌شود. یافته‌های متعدد نشان می‌دهند، دیابت مزمن سبب تضعیف ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد می‌شود.[۶] یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نیز نشان‌دهنده تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت کبد در حیوانات دیابتی بود، چرا که میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (به طور معنی‌دار) و سوپراکساید دیسموتاز در بافت کبد حیوانات دیابتی کاهش یافت. هیپرگلیسمی هم‌چنین طی دیابت مستقیما از طریق فعال کردن چندین مسیر باعث افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود که می‌توان به مسیر پلی‌ال‌اول[i]، پروتئین کیناز-C و افزایش فعالیت و میزان برخی آنزیم‌های پرواکسیدان همچون گزانتین-اکسیداز و NADPH-اکسیداز اشاره کرد.[۷،۲۴]

در مطالعه‌ی حاضر، تیمار با رزوواستاتین بر میزان گلوکز خون تاثیری نداشت. در ارتباط با اثر رزوواستاتین بر میزان گلوکز خون نتایج متناقضی ارائه شده است. برخی مطالعات اثرات کاهندگی گلوکز خون را در برخی از مدل‌های دیابتی به ویژه نوع دوم گزارش کرده‌اند.[۲۵] در حالی که برخی دیگر اثرات دیابت‌زای این دسته از داروها را در برخی تحقیقات دیگر ارائه داده‌اند.[۲۶،۲۷] به هر حال توافق قابل قبولی از این دسته از داروها بر روی گلوکز خون وجود ندارد. آنچه از نتایج مطالعه حاضر به دست می‌آید این است که استفاده از رزوواستاتین بر گلوکز خون حیوانات دیابتی بی‌تاثیر است. این عدم تاثیر شاید به دلیل استفاده از دیابت نوع اول در مطالعه حاضر است که میزان انسولین به دلیل القای دیابت و تخریب سلول‌های بتای پانکراس کاهش پیدا کرده است. در مطالعه‌ی حاضر، استفاده از رزوواستاتین طی دیابت میزان مالون‌دی‌آلدهید (شاخص پراکسیداسیون لیپیدها و تجمع رادیکال‌های آزاد) بافت کبدی را به طور معنی‌داری کاهش داد. بر اساس این نتایج، رزوواستاتین می‌تواند آسیب اکسیداتیو و تجمع رادیکال‌های آزاد در بافت کبد دیابتی را کاهش دهد. این اثرات استاتین‌ها، از جمله رزوواستاتین، در برخی شرایط پاتولوژیک دیگر نیز در برخی بافت‌های بدن گزارش شده است.[۱۶،۲۸] بنابراین به نظر می‌رسد رزوواستاتین در مطالعه‌ی حاضر، مشابه سایر مطالعات، با خاصیت

i -Polyol pathway

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

روبشی رادیکال‌های آزاد سبب کاهش تجمع این رادیکال‌ها و آسیب اکسیداتیو در طی دیابت شده است. از طرفی در مطالعه حاضر استفاده از این دارو باعث تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد شد. زیرا رزوواستاتین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (به طور معنی‌دار)، میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز و مقدار گلوتاتیون بافت کبدی حیوانات دیابتی را (به طور معنی-دار)افزایش داد. آنزیم سوپراکساید دیسموتاز باعث تبدیل آنیون سوپراکساید به رادیکال پراکسید هیدروژن می‌شود و در نهایت پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز تبدیل به آب می‌شود.[۲۹] در این میان، گلوتاتیون هم یک کوفاکتور کلیدی برای عملکرد آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز به شمار می‌رود که در کبد حیوانات دیابتی درمان شده با رزوواستاتین افزایش پیدا کرده بود. این نتایج نشان‌دهنده‌ی تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد در حین دیابت توسط رزوواستاتین است که سبب کاهش میزان آسیب اکسیداتیو و تغییرات آسیب شناختی بافت کبد در حیوانات دیابتی درمان شده با رزوواستاتین شد.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر میزان NOx بافت کبد، که شاخصی از میزان تولید نیتریک اکساید است، طی دیابت کاهش پیدا کرد. دیابت کنترل نشده از طریق فعال‌سازی پروتئین کیناز -C، میزان نیتریک اکساید بافتی، که یک ماده گشادکننده عروقی است، را کاهش داده و باعث انقباض عروقی و کاهش جریان خون بافتی می‌شود.[۶،۷] گزارش شده است میزان پاسخ اتساعی عروق از طریق نیتریک اکساید در افراد دارای دیابت کنترل نشده، کاهش می‌یابد.[۳۰] دلایل متعدد دیگری نیز می‌توانند باعث کاهش تولید نیتریک اکساید در طی دیابت شوند که در این بین می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم نیتریک‌اکساید سنتاز اندوتلیالی به دلیل کاهش انسولین، افزایش میزان مهارکننده درون‌زاد نیتریک اکساید حین دیابت، و در نهایت کاهش فراهم‌زیستی نیتریک اکساید به دلیل واکنش با رادیکال‌های آزاد اکسیژن اشاره کرد.[۷،۳۱،۳۲] در طرف مقابل، نتایج برخی محققین نشان می‌دهد میزان تولید نیتریک اکساید در برخی از بافت‌های بدن از جمله بافت کبد افزایش پیدا می‌کند. در تحقیقی مشخص شد افزایش تولید نیتریک اکساید به دلیل هیپرگلیسمی ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین با میزان آسیب‌های ایجاد شده به بافت کبد مرتبط است.[۳۳] در تحقیقی دیگر، ایجاد دیابت با استرپتوزوتوسین باعث افزایش تولید نیتریک اکساید در برخی از بافت‌های بدن از جمله بافت کلیه و کبد شد، به طوری که استفاده از مهارکننده‌های آنزیم نیتریک اکساید سنتاز از افزایش تولید آن جلوگیری کرد.[۳۴] در نهایت مشخص شد دیابت از طریق افزایش میزان آنزیم نیتریک اکساید سنتاز نوع القایی که به دلیل فاکتور نسخه برداری-KappaB فعال می‌شود، می‌تواند میزان نیتریک اکساید بافت کبدی را افزایش دهد.[۳۵] گرچه این یافته‌ها با نتایج به دست آمده در مطالعه‌ی حاضر متفاوت است، اما به نظر می‌رسد مدل ایجاد دیابت، تغییرات میزان قند خون و طول دوره دیابت از طریق فعال کردن یا غیر فعال کردن نوع آنزیم نیتریک اکساید سنتاز (اندوتلیالی یا القایی) باعث ایجاد این نتایج متفاوت شده است که البته نیاز به مطالعات گسترده‌تری برای اثبات این حقیقت وجود دارد. از طرفی تیمار با رزوواستاتین طی دیابت میزان NOx بافت کبدی را در حیوانات دیابتی درمان شده افزایش داد. استفاده از داروهای گروه استاتین‌ها من‌جمله رزوواستاتین باعث بهبود عملکرد عروق از طریق افزایش میزان تولید نیتریک اکساید می‌شود.[۱۱] در تحقیقی، استفاده از رزوواستاتین از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید در بافت عصبی از نوروپاتی دیابتی و آسیب عروقی ناشی از هیپرگلیسمی در بافت عصبی جلوگیری کرد.[۳۶] همین‌طور در مطالعه هیانگ[i]، درمان ترکیبی مهارکننده پروتئین کیناز -C و رزوواستاتین از طریق فعال کردن برخی مسیرهای مربوط به آنژیوژنز و افزایش فعالیت آنزیم نیتریک‌اکساید سنتاز اندوتلیالی باعث بهبود ضایعه ناشی از ایسکمی قلبی شد.[۳۷] بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری کرد رزوواستاتین در طی دیابت می‌تواند از آسیب به بافت کبدی از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید و هم‌چنین افزایش فراهم‌زیستی آن به واسطه کاهش استرس اکسیداتیو جلوگیری کرده و باعث بهبود عملکرد عروقی و مانع آسیب بافتی شود.

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به تعداد کم نمونه‌ها در گروه‌هایی که آنزیم سوپراکساید دیسموتازشان اندازه‌گیری شده، اشاره کرد که ممکن است آزمون آماری توان کافی برای دسترسی به تفاوت را نداشته باشد.

به طور خلاصه، یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد رزوواستاتین از طریق تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت کبد باعث کاهش تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب

i- Huang

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

اکسیداتیو در بافت کبد در شرایط دیابت کنترل نشده می‌شود. هم‌چنین به نظر می‌رسد رزوواستاتین مانع آسیب در بافت کبد دیابتی از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید شود. بر این اساس، استفاده از رزوواستاتین ممکن است در طی دیابت بتواند از آسیب‌های اکسیداتیو و تغییرات آسیب-شناختی بافت کبد جلوگیری کند.

سپاسگزاری: نویسندگان مقاله از گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله که مقدمات لازم جهت انجام تحقیق حاضر را فراهم کردند، تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

1. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. Clin Chem Lab Med 2011; 49: 1773-82.
2. Kanikarla-Marie P, Jain SK. Role of Hyperketonemia in Inducing Oxidative Stress and Cellular Damage in Cultured Hepatocytes and Type 1 Diabetic Rat Liver. Cell Physiol Biochem 2015; 37: 2160-70.
3. Vadivelan R, Umasankar P, Mandal D, Shanish A, Dhanabal S, Elango K. Oxidative stress induced diabetic nephropathy. Research J Pharmacology and Pharmacodynamics 2010; 2: 321-3.
4. Kashihara N, Haruna Y, Kondeti V, Kanwar Y. Oxidative stress in diabetic nephropathy. Curr Med Chem 2010; 17: 4256.
5. Cusi K, Sanyal AJ, Zhang S, Hartman ML, Bue-Valleskey JM, Hoogwerf BJ, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) prevalence and its metabolic associations in patients with type 1 diabetes and type 2 diabetes. Diabetes Obes Metab 2017.
6. Lucchesi AN, Freitas NT, Cassettari LL, Marques SF, Spadella CT. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. Acta Cir Bras 2013; 28: 502-8.
7. Raza H, John A, Howarth FC. Increased oxidative stress and mitochondrial dysfunction in zucker diabetic rat liver and brain. Cell Physiol Biochem 2015;35:1241-51.
8. Liu X, Zhang J, Ming Y, Chen X, Zeng M, Mao Y. The aggravation of mitochondrial dysfunction in nonalcoholic fatty liver disease accompanied with type 2 diabetes mellitus. Scand J Gastroenterol 2015; 50: 1152-9.
9. Miersch S, Sliskovic I, Raturi A, Mutus B. Antioxidant and antiplatelet effects of rosuvastatin in a hamster model of prediabetes. Free Radical Bio Med 2007; 42: 270-9.
10. Mohammadi MT, Amini R, Jahanbakhsh Z, Shekarforoush S. Effects of atorvastatin on the hypertension-induced oxidative stress in the rat brain. Iran Biomed J 2013; 17: 152-7.
11. Roan JN, Fang SY, Chang SW, Hsu CH, Huang CC, Chiou MH, et al. Rosuvastatin improves vascular function of arteriovenous fistula in a diabetic rat model. J Vasc Surg 2012; 56: 1381-9 e1.
12. Ping F, Wang X, Yang J, Zhou MC, Li W, Xu LL, et al. Rationale and Design of RNAFH Study: Effect of Rosuvastatin (10 mg/d) on Nonalcoholic Fatty Liver in Metabolic Syndrome Patients without Overt Diabetes Evaluated by 1H-Magnetic Resonance Spectroscopy. Int J Endocrinol 2016; 2016: 8454751.
13. Yokohama K, Fukunishi S, Ii M, Nakamura K, Ohama H, Tsuchimoto Y, et al. Rosuvastatin as a potential preventive drug for the development of hepatocellular carcinoma associated with non-alcoholic fatty liver disease in mice. Int J Mol Med 2016; 38: 1499-506.
14. Kargiotis K, Katsiki N, Athyros VG, Giouleme O, Patsiaoura K, Katsiki E, et al. Effect of rosuvastatin on non-alcoholic steatohepatitis in patients with metabolic syndrome and hypercholesterolaemia: a preliminary report. Curr Vasc Pharmacol 2014; 12: 505-11.
15. Riche DM, Fleming JW, Malinowski SS, Black CA, Miller KH, Wofford MR. Resistant nonalcoholic fatty liver disease amelioration with rosuvastatin and pioglitazone combination therapy in a patient with metabolic syndrome. Ann Pharmacother 2014; 48: 137-41.
16. Fang SY, Roan JN, Lin Y, Hsu CH, Chang SW, Huang CC, et al. Rosuvastatin Suppresses the Oxidative Response in the Venous Limb of an Arteriovenous Fistula and Enhances the Fistula Blood Flow in Diabetic Rats. J Vasc Res 2014; 51: 81-9.
17. Mohammadi MT, Pirmoradi L, Mesbah F, Safaee A, Dehghani GA. Trophic actions of oral vanadium and improved glycemia on the pancreatic beta-cell ultrastructure of streptozotocin-induced diabetic rats. JOP 2014; 15: 591-6.
18. Pirmoradi L, Mohammadi MT, Safaei A, Mesbah F, Dehghani GA. Does the relief of glucose toxicity act as a mediator in proliferative actions of vanadium on pancreatic islet beta cells in streptozocin diabetic rats? Iran Biomed J 2014; 18: 173-80.
19. Darabi S, Mohammadi MT. Fullerenol nanoparticles decrease ischaemia-induced brain injury and oedema through inhibition of oxidative damage and aquaporin-1 expression in ischaemic stroke. Brain Inj 2017: 1-9.
20. Vani JR, Mohammadi MT, Foroshani MS, Jafari M. Polyhydroxylated fullerene nanoparticles attenuate brain infarction and oxidative stress in rat model of ischemic stroke. EXCLI J 2016; 15: 378-90.
21. Arjmand Abbassi Y, Mohammadi MT, Sarami Foroshani M, Raouf Sarshoori J. Captopril and Valsartan May Improve Cognitive Function Through Potentiation of the Brain Antioxidant Defense System and Attenuation of Oxidative/Nitrosative Damage in STZ-Induced Dementia in Rat. Adv Pharm Bull 2016; 6: 531-9.
22. Rees MD, Kennett EC, Whitelock JM, Davies MJ. Oxidative damage to extracellular matrix and its role in human pathologies. Free Radic Biol Med 2008; 44: 1973-2001.
23. Matough FA, Budin SB, Hamid ZA, Alwahaibi N, Mohamed J. The role of oxidative stress and antioxidants in diabetic complications. Sultan Qaboos Univ Med J 2012; 12: 5-18.
24. Sonoda N, Inoguchi T. Role of oxidative stress in pathogenesis of diabetic complications. Nihon Rinsho 2012; 70: 231-5.
25. Matsuda M, Tamura R, Kanno K, Segawa T, Kinoshita H, Nishimoto O, et al. Impact of dyslipidemic components of metabolic syndrome, adiponectin levels, and anti-diabetes medications on malondialdehyde-modified low-density lipoprotein levels in statin-treated diabetes

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

patients with coronary artery disease. Diabetol Metab Syndr 2013 6; 5: 77.
26. Cederberg H, Stancakova A, Yaluri N, Modi S, Kuusisto J, Laakso M. Increased risk of diabetes with statin treatment is associated with impaired insulin sensitivity and insulin secretion: a 6 year follow-up study of the METSIM cohort. Diabetologia 2015; 58: 1109-17.
27. Sattar NA, Ginsberg H, Ray K, Chapman MJ, Arca M, Averna M, et al. The use of statins in people at risk of developing diabetes mellitus: Evidence and guidance for clinical practice. Atherosclerosis Suppl 2014; 15: 1-15.
28. Heeba GH, Hamza AA. Rosuvastatin ameliorates diabetes-induced reproductive damage via suppression of oxidative stress, inflammatory and apoptotic pathways in male rats. Life Sci 2015; 141: 13-9.
29. Tanaka Y, Tran POT, Harmon J, Robertson RP. A role for glutathione peroxidase in protecting pancreatic β cells against oxidative stress in a model of glucose toxicity. Proc Natl Acad Sci U S A 2002; 99: 12363-8.
30. Williams SB, Cusco JA, Roddy M-A, Johnstone MT, Creager MA. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. J Am Coll Cardiol 1996; 27: 567-74.
31. Thum T, Fraccarollo D, Schultheiss M, Froese S, Galuppo P, Widder JD, et al. Endothelial nitric oxide synthase uncoupling impairs endothelial progenitor cell mobilization and function in diabetes. Diabetes 2007; 56: 666-74.
32. Chen N, Leng YP, Xu WJ, Luo JD, Chen MS, Xiong Y. Contribution of endogenous inhibitor of nitric oxide synthase to hepatic mitochondrial dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. Cell Physiol Biochem 2011; 27: 341-52.
33. Sokolovska J, Isajevs S, Rostoka E, Sjakste T, Trapina I, Osina K, et al. Changes in glucose transporter expression and nitric oxide production are associated with liver injury in diabetes. Cell Biochem Funct 2015; 33: 367-74.
34. Leonova E, Sokolovska J, Boucher JL, Isajevs S, Rostoka E, Baumane L, et al. New 1,4-Dihydropyridines Down-regulate Nitric Oxide in Animals with Streptozotocin-induced Diabetes Mellitus and Protect Deoxyribonucleic Acid against Peroxynitrite Action. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2016; 119: 19-31.
35. Ingaramo PI, Ronco MT, Frances DE, Monti JA, Pisani GB, Ceballos MP, et al. Tumor necrosis factor alpha pathways develops liver apoptosis in type 1 diabetes mellitus. Mol Immunol 2011; 48: 1397-407.
36. Ii M, Nishimura H, Kusano KF, Qin G, Yoon YS, Wecker A, et al. Neuronal nitric oxide synthase mediates statin-induced restoration of vasa nervorum and reversal of diabetic neuropathy. Circulation 2005; 112: 93-102.
37. Huang D, Wang FB, Guo M, Li S, Yan ML, Yu T, et al. Effect of combined treatment with rosuvastatin and protein kinase Cbeta2 inhibitor on angiogenesis following myocardial infarction in diabetic rats. Int J Mol Med 2015; 35: 829-38.

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]
[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]

Original Article

Evaluation of the Protective Effects of Rosuvastatin Through the Antioxidant Capacity and Oxidative Damage of Liver Tissue in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Yazdanimehr S[1], Mohammadi MT[2]

[1]Baqiyatallah Research Center for Gastroenterology and Liver Diseases (BRCGL), Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran, [2]Department of Physiology and Biophysics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran

e-mail: Mohammadi.mohammadt@yahoo.com

Received: 23/07/2017 **Accepted**: 24/01/2018

Abstract

Introduction: Weakening of the liver antioxidant capacity and oxidative damage play a crucial role in the genesis of hepatocellular damage during diabetic states. Considering to the antioxidant property of rosuvastatin, the aim of present study was to investigate whether rosuvastatin improves antioxidant capacity and oxidative damage of liver tissue in diabetes. Materials and Methods: Twenty-four rats were randomly divided into four groups (n=6 each), normal, treated normal, diabetic and treated diabetic groups. Diabetes was induced in rats by an intravenous injection of streptozotocin (40 mg/kg). Treated rats received rosuvastatin (10 mg/kg) daily by a gavage tube for sixty days. At the end, blood samples were collected for measuring blood glucose, and liver tissue was removed to determine malondialdehyde, glutathione and NOx (nitrate and nitrite) contents as well as catalase and superoxide dismutase activities. Results: Induction of diabetes (blood glucose >300 mg/dL) significantly increased the malondialdehyde content (4.00±0.44 µMol/L), compared with the normal group (1.08±0.39 µMol/L), whereas rosuvastatin significantly decreased it (2.42±0.56 µMol/L), without changing blood glucose levels. Diabetes decreased the activities of catalase and superoxide dismutase by 81 and 54%, respectively. Treatment with rosuvastatin increased the catalase activity (90%) and glutathione content (65%) in diabetic rats. Also, diabetes significantly decreased the NOx content (15±1 µMol/L), compared to the normal group (34±15 µMol/L), whereas rosuvastatin significantly increased it (61±16 µMol/L). Conclusion: Our results indicate that rosuvastatin can increase the antioxidant capacity of diabetic liver, and treatment with rosuvastatin may hence improve the tissue and oxidative damages of the liver during diabetic states.

Keywords: Rosuvastatin, Diabetes Mellitus, Antioxidant capacity, Oxidative damage, Hyperglycemia

[Downloaded from ijem.sbmu.ac.ir on 2026-11-04]

[DOR: 20.1001.1.16834844.1396.19.6.1.7]