

تأثیر ویتامین E بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما، پراکسیداسیون لیپیدی و نفروپاتی ناشی از دیابت در رت

علیرضا شیرپور، دکتر علی تقی‌زاده افشاری، دکتر امیر عباس فرشید، دکتر عبدالامیر علامه، یوسف رسمی، دکتر حسین مغانچی‌زاده، دکتر مجتبی کریمی‌پور، رامین سعادتیان، ابوالفضل دادخواه تهرانی

چکیده

مقدمه: در این مطالعه تأثیر ویتامین E بر نفروپاتی ناشی از دیابت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما و پراکسیداسیون لیپیدها مورد بررسی قرار گرفت. مواد و روش‌ها: ۲۴ رأس رت نر نژاد وستار با میانگین وزنی 250 ± 20 گرم انتخاب شدند. ۱۶ قطعه از رت‌ها با تزریق استرپتوزوتوسین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) دیابتی شدند. رت‌ها به سه گروه ۸ تایی شامل گروه غیردیابتی، دیابتی درمان نشده و دیابتی درمان شده با روزانه ۳۰۰ میلی‌گرم ویتامین E تقسیم شدند. بعد از ۸ هفته تمام رت‌ها با هیدرات کلرال بیهوش شدند. پس از خونگیری کلیه‌ها برداشته شدند و در فرمالین بافری ۱۰٪ قرار گرفتند. پلاسما و گلبول‌های قرمز نمونه‌های خونی از هم جدا شدند. ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما به روش FRAP و میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسیون چربی‌ها مورد سنجش قرار گرفتند. نمونه‌های کلیوی از نظر تغییرات ساختمان گلوامرولی و توبولی و پرولیفراسیون سلول‌های فوکال مورد مطالعه قرار گرفتند. یافته‌ها: در موش‌های سالم، دیابتی و دیابتی درمان شده با ویتامین E میزان MDA به ترتیب $126/14 \pm 6/6$ ، $245/2 \pm 17$ و $170/8 \pm 9$ نانومول بر گرم هموگلوبین بود. در گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E کاهش معنی‌دار میزان MDA نسبت به گروه دیابتی درمان نشده نشان‌گر کاهش پراکسیداسیون لیپیدها در این گروه است ($P < 0/01$). ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی نیز در سه گروه ذکر شده به ترتیب $582/7 \pm 23/33$ ، $586/2 \pm 23/79$ و $808/7 \pm 30/82$ میلی‌مولار در لیتر بود. ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما در گروه درمان شده با ویتامین E نسبت به دو گروه اول افزایش معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). در موش‌های دیابتی درمان نشده پرولیفراسیون منتشر گلوامرولی و تورم سلولی منتشر و تغییرات هیالینه مشاهده شد. هم‌چنین دیواره عروق ضخیم می‌باشند. این تغییرات در رت‌های تحت درمان با ویتامین E تخفیف محسوس نشان دادند. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت سبب کاهش اثرات استرس اکسیداتیو و بهبود نفروپاتی ناشی از دیابت می‌شود.

واژگان کلیدی: دیابت، نفروپاتی، استرس اکسیداتیو، ویتامین E، آنتی‌اکسیدانت

دریافت مقاله: ۸۴/۶/۱۲ - دریافت اصلاحیه: ۸۴/۸/۲۵ - پذیرش مقاله: ۸۴/۸/۲۸

مقدمه

کننده‌ی ناهنجاری‌ها در حالت عام - و در دیابت به طور خاص - به شمار می‌روند. در سال‌های اخیر معلوم شده است که در سندروم دیابت پراکسیداسیون لیپیدی بالا رفته و

امروزه رادیکال‌های آزاد به عنوان یک عامل مهم ایجاد

این افزایش در آسیب بافتی تحت شرایط دیابتی شرکت می‌کند.^{۱-۲} همچنین نشان داده شده است که در حالت دیابتی، استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد به طور معنی‌داری، سبب کاهش مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانتی می‌شود و طبق تئوری سریل^۱ هیپرگلیسمی یک فاکتور اساسی برای استرس اکسیداتیو است.^۴ در سمیت گلوکز به عنوان یک مونوساکارید، اتو اکسیداسیون ممکن است یکی از منابع تولید شکل‌های فعال اکسیژن (ROS) باشد،^۵ همچنین مطالعه‌ها نشان دادند که انواع فعال نیتروژن (RNS) نیز در دیابت افزایش و دفاع آنتی‌اکسیدانتی کاهش یافته، در نهایت در حالت دیابت کنترل نشده سبب سوء عملکرد آندوتلیال عروقی و اعصاب عروقی می‌شود.^{۶،۷} رادیکال‌های آزاد در شرایط معمولی نیز در بدن به طور اجتناب‌ناپذیر در اثر واکنش‌های خود به خود مانند اکسیداسیون آدرنالین، دوپامین و غیره تولید می‌شود.^۸ در مقابل این مواد تخریب‌گر، ارگانیک‌های زنده یک شبکه مرکب آنتی‌اکسیدانتی بر علیه رادیکال‌های آزاد تولید می‌کنند.

آنتی اکسیدانت‌هایی مانند آلبومین، گلاتاتین احیا شده (GSH)، آسکوربیک اسید، آلفا توکوفرول، β کاروتن، اوریک اسید، بیلی‌روبین و فلاونوئیدها^۹ از اشکال (aspect) اساسی این شبکه هستند.^۹ این مواد رادیکال‌های آزاد را حذف و از اثر تخریبی آنها جلوگیری می‌کنند. در شرایط تندرستی تعادلی میان رادیکال‌های آزاد و دفاع آنتی‌اکسیدانتی وجود دارد. استرس اکسیداتیو وقتی روی می‌دهد که این تعادل به نفع رادیکال‌های آزاد به هم بخورد.^{۱۰} در اصل استرس اکسیداتیو در اثر افزایش ROS/RNS و کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانتی روی می‌دهد که هر دو در اثر هیپرگلیسمی به وجود می‌آیند.^{۱۱} همچنین روند گلیکاسیون غیر آنزیماتیک پروتئین‌ها و مسیر پلی‌یول^{۱۲} نیز منشأی رادیکال‌های آزاد در مرحله‌ی هیپرگلیسمی است.^۵ روند متابولیسم گلوکز در مسیر پلی‌یول یک محرک اساسی است که نسبت NADH/NAD⁺ را افزایش می‌دهد و همچنین سبب افزایش درون سلولی پروتئین کیناز C (PKC) مؤثر بر دی‌آسیل گلیسرول می‌گردد. معلوم شده است که گلوامرول‌های کلیوی حساسیت ویژه‌ای به استرس اکسیداتیو ناشی از PKC دارند. با توجه به افزایش فعالیت PKC گلوامرولی در هیپرگلیسمی،

پیشنهاد شده است که فعالیت PKC گلوامرولی ممکن است سبب تشدید پراکسیداسیون لیپیدی نیز شود.^۳ در این مطالعه ما درصدد آن هستیم تا تأثیر ویتامین E را به عنوان یک آنتی اکسیدانت بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما، پراکسیداسیون لیپیدی و نفروپاتی کلیوی در رت‌های دیابتی مورد مطالعه قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد مطالعه ۲۴ رأس رت نر نژاد وستار با میانگین وزنی 250 ± 20 گرم تهیه شده از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی پزشکی ارومیه بودند. ۱۶ رأس از رت‌ها با تزریق زیر صفاقی استرپتوزوتوسین (sigma) ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن دیابتی شدند.^{۱۳} به این ترتیب که ۴۸ ساعت بعد از تزریق STZ رت‌هایی که میزان گلوکز خون آنها از ۳۰۰ mg/dL بالاتر بود، به عنوان رت‌های دیابتی در نظر گرفته شدند. به ۸ رت نیز به همان مقدار محلول نرمال سالین تزریق شد. رت‌ها به ۳ گروه ۸ تایی شامل گروه شاهد غیر دیابتی (ND)، گروه دیابتی درمان نشده (DNT) و گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E به مقدار روزانه ۳۰۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن همراه با آب آشامیدنی (D+VE) تقسیم شدند. تمام حیوانات در شرایط دمایی 25 ± 2 درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌های روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری می‌شدند. بعد از ۸ هفته، رت‌ها با تزریق زیر صفاقی داروی بیهوشی هیدرات کلرال ۱۰٪، ۵ سی‌سی به ازای هر ۱۰۰ گرم وزن بدن بیهوش شدند. از قلب هر رت ۳ سی‌سی خون به وسیله‌ی سرنگ گرفته شد. نمونه‌های خونی با ماده‌ی ضد انعقاد EDTA مخلوط و با دور ۳۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. گلبول قرمز و همچنین ۲ نمونه ۰/۵ سی‌سی پلاسما جهت اندازه‌گیری مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما جدا شده، در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس محفظه شکم باز و کلیه‌ها برداشته شدند و پس از وزن کردن، کلیه‌ها به قطعات کوچک تقسیم و در محلول نرمال سالین شستشو و همچنین در محلول بافری فرمالین ۱۰٪ جهت آزمایش‌های پاتولوژی قرار گرفتند.

نمونه‌های کلیوی حداقل بعد از ۴۸ ساعت قرار گرفتن در محلول فرمالین، پس از طی مراحل پردازش بافتی با روش

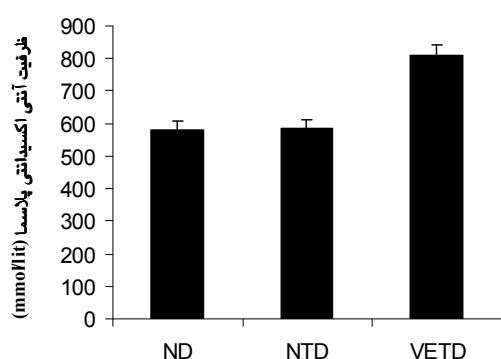
i- Ceriell

ii- Flavonoids

iii- Polyol Pathway

بود، در موش‌های دیابتی درمان نشده میزان MDA به $245/2 \pm 17$ نانومول بر گرم هموگلوبین رسید که در مقایسه با گروه اول افزایش معنی‌دار است ($p < 0/05$). در رت‌های درمان شده با ویتامین E میزان MDA کاهش نشان داد و به $170/8 \pm 9$ نانومول بر گرم هموگلوبین رسید. این مقدار در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده کاهش معنی‌دار دارد ($p < 0/05$).

ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما: ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در رت‌های غیردیابتی، دیابتی درمان نشده، و دیابتی درمان شده با ویتامین E به ترتیب $582/7 \pm 23/33$ ، $586/2 \pm 23/79$ و $808/7 \pm 30/82$ میلی‌مولار در لیتر بود. ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در رت‌های درمان شده با ویتامین E نسبت به دو گروه دیابتی درمان نشده و سالم افزایش معنی‌دار $p < 0/05$ نشان داد (نمودار ۲).



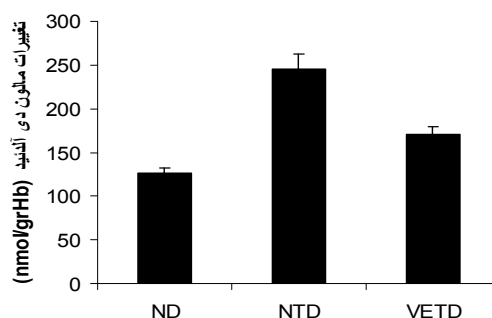
نمودار ۲- تغییرات ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما در گروه‌های مورد مطالعه (ND): رت‌های سالم (کنترل)، NTD: رت‌های دیابتی درمان نشده، VETD: رت‌های دیابتی درمان شده با ویتامین E

وزن بدن و وزن کلیه‌ها: جدول ۱ تغییرات وزن بدن و وزن کلیه‌ها را در گروه‌های مختلف مورد آزمایش نشان می‌دهد. همان‌طور که از جدول مشاهده می‌شود، وزن بدن در رت‌های دیابتی درمان نشده در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری را نشان داد. کاهش وزن در رت‌های دیابتی درمان شده با ویتامین E نیز با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار داشت ($p < 0/03$). در رت‌های دیابتی درمان نشده وزن کلیه‌ها در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان داد ($p < 0/03$). در رت‌های دیابتی درمان شده با ویتامین E وزن کلیه‌ها در مقایسه با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان

هماتوکسیلین - ائوزین (H&E) رنگ‌آمیزی شدند. لام‌های تهیه شده با میکروسکوپ نوری از نظر تغییرات ایجاد شده مورد بررسی قرار گرفتند.

میزان مالون دی‌آلدئید به روش اسپکتروفتومتری و بر اساس اندازه‌گیری غلظت ترکیب صورتی رنگ کروموژن صورت گرفت. وقتی که مالون دی‌آلدئید با اسید تیوباربیتوریک ترکیب شود، این ماده تشکیل می‌گردد. واحد اندازه‌گیری مالون دی‌آلدئید نانومول بر گرم هموگلوبین است.^{۱۳} (nmol/grHb)

ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسما به روش FRAP (قدرت آنتی اکسیدانی احیایی آهن) به شرح زیر اندازه‌گیری شد: مقدار ۳۰۰۰ میلی‌مولار از بافر استات با $pH=4$ ، مقدار ۱۰ میلی‌مولار از محلول ۲،۴،۶ تری پیریدیل S تری آزین (TPTA) در اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار و ۲۰ میلی‌مولار $FeCl_3$ به نسبت ۱۰ به ۱ به عنوان FRAP استفاده شد. هفتصد و پنجاه میکرولیتر از معرف FRAP با ۲۵ میکرولیتر پلاسما در یک لوله آزمایش مخلوط شد. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، جذب محلول‌ها در ۵۹۳ نانومتر اندازه‌گیری شدند.^{۱۴} تغییرات جذب مستقیماً به شدت احیا کنندگی کل الکترون‌دهی آنتی اکسیدان‌های موجود در مخلوط بستگی دارد. برای آنالیز آماری داده‌ها از برنامه آماری SPSS تحت ویندوز و آزمون آماری t استفاده شد و $p < 0/05$ به عنوان تغییرات معنی‌دار تلقی شد.



نمودار ۱- تغییرات میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) در گروه‌های مورد مطالعه (ND): رت‌های سالم (کنترل)، NTD: رت‌های دیابتی درمان نشده، VETD: رت‌های دیابتی درمان شده با ویتامین E

یافته‌ها

نمودار یک تغییرات میزان مالون دی‌آلدئید را در گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد. میزان مالون دی‌آلدئید در رت‌های سالم $126/14 \pm 6/6$ نانومول بر گرم هموگلوبین

جدول ۱- تغییرات وزن بدن و وزن کلیه در گروه‌های مورد مطالعه

گروه کنترل	گروه دیابتی درمان نشده	گروه دیابتی درمان شده با ویتامین E
وزن بدن (گرم)	۲۵۰±۲۰	۲۱۵±۷/۷*
وزن کلیه (میلی‌گرم)	۷۵۰±۳۲	۷۷۰±۲۰‡

اعداد نشان‌دهنده‌ی میانگین (±خطای معیار) است. * $p<0/003$; † $p<0/03$; ‡ $p<0/01$

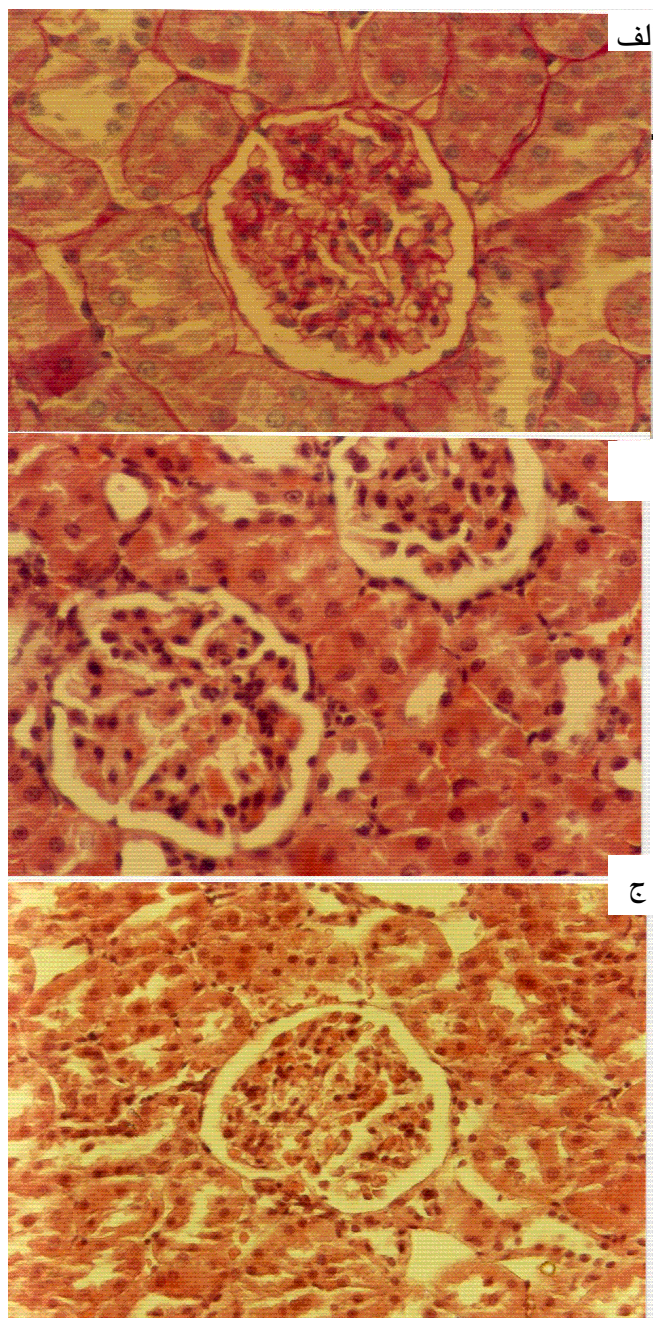
نداد ($p<0/3$) اما وزن کلیه‌ها در این گروه رت‌ها نسبت به دیابتی درمان نشده کاهش معنی‌دار نشان داد ($p<0/01$). تصویر ۱ تغییرات توبولی و گلومرولی ایجاد شده در گروه‌های مختلف را نشان می‌دهد. همان‌طور که قسمت «ب» تصویر نشان می‌دهد، در رت‌های دیابتی درمان نشده افزایش ماتریکس مزانژیال و پرولیفراسیون گلومرولی منتشر که موجب پر شدن فضای کپسول بومن و چسبندگی شبکه مویرگی به دیواره شده است، دیده می‌شود. تصویر بعضی از گلومرول‌ها نشان‌دهنده‌ی تغییرات دژنراس واکولار بیشتر در ناحیه دیستال بود. همچنین ضخیم شدن دیواره عروق نیز دیده شد که همراه با هیالینه شدن است. قسمت «ج» تصویر ۱ هیستولوژی کلیه رت دیابتی درمان شده با ویتامین E را نشان می‌دهد. تمام تغییرات ذکر شده در بالا در رت‌های دیابتی درمان شده کاهش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌داد.

بحث

مرور مجدد نتایج مطالعه‌ی ما نشان می‌دهد که ویتامین E به عنوان یک آنتی‌اکسیدانت سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی، افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی پلاسما و تخفیف نفروپاتی ناشی از دیابت می‌شود.

مطالعه‌ها چندی نشان‌دهنده‌ی حضور پراکسیداسیون لیپیدی و استرس اکسیداتیو در دیابت است.^{۱۵،۱۶} استرس اکسیداتیو حتی قبل از شروع علائم دیابت افزایش می‌یابد. در دیابت قندی به نظر می‌رسد که استرس اکسیداتیو هم به وسیله‌ی افزایش ROS و هم کاهش دفاع آنتی‌اکسیدانتی و تغییر در وضعیت احیایی سلولی حاصل می‌شود.^{۱۷}

هیپرگلیسمی در دیابت قندی نه تنها سبب افزایش ROS می‌شود، بلکه موجب تضعیف مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدانتی از



تصویر ۱- تغییرات توبولی و گلومرولی در گروه‌های مختلف مورد مطالعه. الف- رت سالم (کنترل)؛ ب- رت دیابتی درمان نشده؛ و ج- رت دیابتی درمان شده با ویتامین E

TGF- β_1 نیز سبب افزایش سنتز پروتئین در ماتریکس خارج سلولی و مکانیسم پرولیفراسیون سلولی می شود.^{۲۳-۲۶} و این نیز منجر به افزایش اندازه ی کلیه و وزن آن در رت های دیابتی می شود. مطالعه ها متعددی نشان داده اند که مصرف یک آنتی اکسیدانت مانند ویتامین C، تورین و N استیل - سیستئین^{iv} می تواند فعالیت TGF- β_1 و افزایش سنتز پروتئین های ماتریکس و هیپرتروفی کلیه را متوقف کند.^{۲۷-۲۹} در مطالعه ی ما نیز وزن کلیه ها در رت های درمان شده با ویتامین E در مقایسه با رت های دیابتی درمان نشده کاهش معنی داری نشان داد. ویتامین E به علت حلالیت بسیار بالا در چربی، آنتی اکسیدانت اصلی غشای سلول و لیپوپروتئین ها عمل می کند. مطالعه ها متعدد نشان داده اند که مصرف ویتامین E با جلوگیری از اکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده ی غشای سلول، از آسیب غشا جلوگیری و با تثبیت غشا، آن را مستعد برای تداخل عمل با انسولین می کند.^{۳۰،۳۱} به عبارت دیگر ویتامین E در شرایط فیزیولوژیک به عنوان یک آنتی اکسیدانت مهم چربی دوست در غشای سلول و لیپوپروتئین های پلاسما عمل می کند و از پراکسیداسیون لیپیدی و تشکیل AGE^v جلوگیری می کند. علاوه بر این ویتامین E اثرات آنتی پرولیفراسیونی در سلول های مزانشیال کشت داده شده نیز نشان داده است.^{۳۲} معلوم شده است که ویتامین E توانایی مهار تشکیل TGF- β_1 در گلومرول های کلیوی از طرق کاهش فعالیت PKC می شود. با در نظر گرفتن این که در دیابت سیستم آنتی اکسیدانتی و ویتامین های E و C کاهش می یابد.^{۳۳} به نظر می رسد که این کاهش ویتامین و غلظت آنتی اکسیدانتی در پلاسمای موش های رت یک نقش اساسی را در پیشرفت استرس اکسیداتیو سیستمیک در دیابت و نفروپاتی دیابتی ناشی از رادیکال های آزاد می شود.^{۳۴} در مطالعه ی ما مصرف ویتامین E سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانتی شد. مطالعه ها دیگر نیز گزارش کردند که مصرف یک آنتی اکسیدانت در بیماران دیابتی و دیابت های تجربی اثرات مفید در متابولیسم گلوکز داشته، سبب کاهش گلیکاسیون پروتئینی و کاهش شدت استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد سلول های آندوتلیال می شود.^{۳۴،۳۵} مطالعه ها انجام شده به وسیله مولینوکس، و کراون و همکاران نیز

طریق گلیکاسیون آنزیم های رفتگرⁱ می گردد. ارتباط بین نفروپاتی دیابتی و استرس اکسیداتیو بر پایه ی مشاهدات زیر بنا گذاشته شده است:

- ۱- افزایش پراکسیداسیون لیپیدی و ۸- هیدروکسی داکسی گوانوزینⁱⁱ در تمامی رت های دیابتی دیده می شود.
- ۲- افزایش گلوکز به طور مستقیم سبب افزایش استرس اکسیداتیو در سلول های مزانشیال گلومرولی - که سلول های هدف در نفروپاتی کلیوی هستند - می شود.
- ۳- افزایش بیان ژن مربوط به TGF- β_1 و فیبرونکتین در اثر استرس اکسیداتیو در دیابت (ژن های دخیل در آسیب گلومرولی در دیابت) دیده می شوند.
- ۴- مهار استرس اکسیداتیو سبب بهبود تمامی ناهنجاری های مرتبط با نفروپاتی دیابتی می شوند.^{۳۸}

نتایج مطالعه ی ما تأییدی بر نتایج مطالعه ی ها و کیم می باشد،^۲ آنها مشاهده کردند که در دیابت قندی پراکسیداسیون لیپیدی در پلاسما افزایش می یابد. نویسندگان مشابه نیز نشان دادند که هیپرگلیسمی سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی می شود.^{۳۹} افزایش گلوکز سبب فعال شدن سیستم PKC می شود احتمال داده شده است که افزایش PKC سبب شروع استرس اکسیداتیو در گلومرول های کلیوی در مرحله ی آغازین دیابت می شود. در حالی که عوامل دیگر مانند اتواکسیداسیون گلوکز، مسیر پلی پول و گلیکاسیون نقش اصلی را در مراحل بعدی آسیب های پراکسیداسیون دارند.^{۴۰} افزایش پروتئین کنیاز C سبب بالا رفتن فعالیت آنزیم فسفولیپاز A₂ (PLA₂) می شود.^{۴۰،۴۱} فعالیت PLA₂ سبب تشکیل اسید آراشیدونیک شده، این منجر به افزایش پروستاگلاندین ها می شود. پروستاگلاندین ها منبع شناخته شده ای برای رادیکال های آزاد هستند. رادیکال های آزاد و PKC از طرق مختلف می توانند سبب آسیب کلیوی در دیابت شوند. اولاً رادیکال های آزاد با تخریب اسیدهای چرب غیر اشباع چند زنجیرهⁱⁱⁱ PUFA در بیوسنتز لیپیدها اختلال ایجاد می کنند که از مشخصه های ناهنجاری های دیابتی است.^{۴۲} ثانیاً پیامد لیپید پراکسیداسیون، افزایش رادیکال های آزاد سبب افزایش PKC می شود. افزایش PKC سبب افزایش TGF- β_1 شده و

i- Scavenger

ii- 8-hydroxy deoxy guanosine

iii- Poly unsaturated Fatty acids

iv- n-acetyl Cysteine

v- Advanced Glycation Endproduct

می‌یابد و همچنین سبب کاهش PKC می‌شود.^{۳۳} به نظر می‌رسد، کاهش نفروپاتی در اثر مصرف ویتامین E ناشی از همودینامیک مناسب کلیه در رت‌های درمان شده با ویتامین E باشد. با توجه به مطالب بالا به نظر می‌رسد که تولید رادیکال‌های آزاد به صورت یک مکانیسم مثبت به تدریج شیوع علائم مختلف دیابت از جمله نفروپاتی را سبب می‌شود. گرچه رفع علت اصلی بروز چنین ناهنجاری‌های یعنی علت بروز دیابت راه چاره اصلی است ولی تا حال هیچ روش مطمئن و صد در صد برای جایگزینی نقش اصلی انسولین توسط عوامل سنتتیک و یا درمان قطعی عوارض و ناهنجاری‌های دیابتی ارایه نشده است. استفاده از ترکیبات غذایی و تغییر رژیم غذایی برای جلوگیری از بروز برخی علائم مورد توجه قانونی مطالعه‌ها است. اگرچه پاتولوژی ایجاد تغییرات کلیوی در دیابت مختلف و متفاوت است ولی برای کاهش اثرات آنها استفاده از رژیم‌های غذایی غنی شده از ویتامین E و دیگر آنتی‌اکسیدانت‌ها می‌تواند یکی از روش‌های محدود کننده‌ی اثرات دیابت باشد.

نشان داد که مصرف ویتامین E و ترولوکس (آنالوگ هیدروفیلیک آلفا توکوفرول) سبب کاهش ضخامت غشای پایه و آسیب بافتی ناشی از دیابت و همچنین سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود.^{۳۶،۳۹}

گروهی نیز کاهش جریان خون کلیوی را در دیابت علت نفروپاتی کلیوی می‌دانند. مکانیسم این اثر احتمالاً از طریق افزایش فعالیت آنزیم PLA₂ می‌باشد. این آنزیم که در اثر بالا رفتن فعالیت PKC تولید می‌شود^{۳۰،۳۱} باعث تشکیل پروستاگلندین I₂ (PGI₂) و ترومبوکسان A₂ (TXA₂) می‌گردد. PGI₂ گشاد کننده‌ی عروقی و TXA₂ منقبض کننده عروقی است و تعادل بین آنها در شرایط طبیعی موجب حفظ حالت طبیعی در تون عروقی می‌شود. مشخص شده است که در دیابت میزان TXA₂ افزایش و میزان PGI₂ کاهش می‌یابد،^{۳۷} به هم خوردن تعادل بین TXA₂ و PGI₂ منجر به کاهش جریان خون می‌شود و در بعضی از اندام‌ها از جمله کلیه متعاقب کاهش جریان خون بروز نفروپاتی افزایش می‌یابد.^{۳۷} با توجه به اینکه در اثر مصرف ویتامین E ظرفیت آنتی‌اکسیدانتی بالا رفته و لیپید پراکسیداسیون کاهش

References

- Nourooz-Zadeh J, Rahimi A, Tajaddini-Sarmadi J, Tritschler H, Rosen P, Halliwell B, et al. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. *Diabetologia* 1997; 40: 647-53.
- Hunt JV, Wolff SP. Oxidative glycation and free radical production: a causal mechanism of diabetic complications. *Free Radic Res Commun* 1991; 12-13 Pt 1:115-23.
- Ha H, Kim KH. Role of oxidative stress in the development of diabetic nephropathy. *Kidney Int Suppl* 1995; 51: S18-21.
- Ceriello A, Quattraro A, Giugliano D. Diabetes mellitus and hypertension: The possible role of hyperglycemia through oxidative stress. *Diabetologia* 1993; 36: 265-266.
- Wolf G, Thaiss F. Hyperglycaemia--pathophysiological aspects at the cellular level. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 1109-12.
- Jakus V. The role of free radicals, oxidative stress and antioxidant systems in diabetic vascular disease. *Bratisl Lek Listy* 2000; 101: 541-51.
- van Dam PS, Bravenboer B, van Asbeck BS, van Oirschot JF, Marx JJ, Gispen WH. Effects of insulin treatment on endoneurial and systemic oxidative stress in relation to nerve conduction in streptozotocin-diabetic rats. *Eur J Clin Invest* 1996; 26: 1143-9.
- Halliwell B. Vitamin E and the treatment and prevention of diabetes: a case for a controlled clinical trial. *Singapore Med J* 2002; 43: 479-84.
- Prior RL, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 1173-81.
- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol Rev* 1994; 74: 139-62.
- Uchimura K, Nagasaka A, Hayashi R, Makino M, Nagata M, Kakizawa H, et al. Changes in superoxide dismutase activities and concentrations and myeloperoxidase activities in leukocytes from patients with diabetes mellitus. *J Diabetes Complications* 1999; 13: 264-70.
- Melhem MF, Craven PA, Liachenko J, DeRubertis FR. Alpha-lipoic acid attenuates hyperglycemia and prevents glomerular mesangial matrix expansion in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 108-16.
- Stocks J, Offerman EL, Modell CB, Dorman TL. The susceptibility to autoxidation of human red cell lipids in health and disease. *Br J Haematol* 1972; 23: 713-24.
- Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-6.
- Keaney JF Jr, Loscalzo J. Diabetes, oxidative stress, and platelet activation. *Circulation* 1999; 99: 189-91.
- Haffner SM. Clinical relevance of the oxidative stress concept. *Metabolism* 2000; 49(2 Suppl 1): 30-4.
- West IC. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabet Med* 2000; 17: 171-80.
- Ha H, Kim KH. Pathogenesis of diabetic nephropathy: the role of oxidative stress and protein kinase C. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 45: 147-51.
- Ha H, Yoon SJ, Kim KH. High glucose can induce lipid peroxidation in the isolated rat glomeruli. *Kidney Int* 1994; 46: 1620-6.

20. Derubertis FR, Craven PA. Activation of protein kinase C in glomerular cells in diabetes. Mechanisms and potential links to the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Diabetes* 1994;43:1-8.
21. DeRubertis FR, Craven PA. Eicosanoids in the pathogenesis of the functional and structural alterations of the kidney in diabetes. *Am J Kidney Dis* 1993; 22: 727-35.
22. Torres MD, Canal JR, Perez C. Oxidative stress in normal and diabetic rats. *Physiol Res* 1999; 48: 203-8.
23. Border WA, Yamamoto T, Noble NA. Transforming growth factor beta in diabetic nephropathy. *Diabetes Metab Rev* 1996; 12: 309-39.
24. Sharma K, Ziyadeh FN. Hyperglycemia and diabetic kidney disease. The case for transforming growth factor-beta as a key mediator. *Diabetes* 1995; 44: 1139-46.
25. Border WA, Noble NA. Evidence that TGF-beta should be a therapeutic target in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1998; 54: 1390-1.
26. Wolf G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 1999; 56: 393-405.
27. Trachtman H. Vitamin E prevents glucose-induced lipid peroxidation and increased collagen production in cultured rat mesangial cells. *Microvasc Res* 1994; 47: 232-9.
28. Studer RK, Craven PA, DeRubertis FR. Antioxidant inhibition of protein kinase C-signaled increases in transforming growth factor-beta in mesangial cells. *Metabolism* 1997; 46: 918-25.
29. Craven PA, DeRubertis FR, Kagan VE, Melhem M, Studer RK. Effects of supplementation with vitamin C or E on albuminuria, glomerular TGF-beta, and glomerular size in diabetes. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1405-14.
30. Caballero B. Vitamin E improves the action of insulin. *Nutr Rev* 1993; 51: 339-40.
31. Skrha J, Sindelka G, Hilgertova J. The effect of fasting and vitamin E on insulin action in obese type 2 diabetes mellitus. *Ann N Y Acad Sci* 1997; 827: 556-60.
32. Kedziora-Kornatowska K, Szram S, Kornatowski T, Szadujkis-Szadurski L, Kedziora J, Bartosz G. Effect of vitamin E and vitamin C supplementation on antioxidative state and renal glomerular basement membrane thickness in diabetic kidney. *Nephron Exp Nephrol* 2003; 95: e134-43.
33. Paolisso G, Balbi V, Volpe C, Varricchio G, Gambardella A, Saccomanno F, Ammendola S, Varricchio M, D'Onofrio F. Metabolic benefits deriving from chronic vitamin C supplementation in aged non-insulin dependent diabetics. *J Am Coll Nutr* 1995; 14: 387-92.
34. Jain SK, Palmer M. The effect of oxygen radicals metabolites and vitamin E on glycosylation of proteins. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 593-6.
35. Molyneux CA, Glyn MC, Ward BJ. Oxidative stress and cardiac microvascular structure in ischemia and reperfusion: the protective effect of antioxidant vitamins. *Microvasc Res* 2002; 64: 265-77.
36. Shohat J, Boner G. Role of lipids in the progression of renal disease in chronic renal failure: evidence from animal studies and pathogenesis. *Isr J Med Sci* 1993; 29: 228-39.
37. Nievelstein PF, Sixma JJ, Ottenhof-Rovers M, Wynne HJ, De Groot PG, Banga JD. Platelet adhesion and aggregate formation in type I diabetes under flow conditions. *Diabetes* 1991; 40: 1410-7.

Original Article

The effect of vitamin E on diabetes induced antioxidant capacity, lipid peroxidation and nephropathy in rats

Shirpour AR, Tagizadeh Afshari A, Farslihid A, Alameh A, Rasmi F,
Mogandizadeh H, Saadatiyan R, Dadkhah Tehrani A.

Urmieh University of Medical Sciences, Urmieh, I.R.Iran

Introduction: In present study the effect of vitamin E on diabetes induced nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation was investigated. **Materials and Methods:** 24 male wistar rats with average body weight of 250 ± 20 gr were chosen. 16 rats, diabetized by STZ (60 mg/kg B.W, i.p) were divided into 3 groups (n=8) of non-diabetic, diabetic non-treated and diabetic treated with Vit.E (300 mg daily). After 8 weeks all rats were anaesthetized by hydrate chloral. After blood sampling, kidneys were removed and kept in 10% formalin buffer. Plasma and red blood cells of blood samples were separated. Plasma antioxidant capacity by FRAP method, and malondialdehyde (MDA) as lipid peroxidation indicator were measured. Also renal samples were studied for focal cell proliferation and glomerule and tubule structural changes. **Results:** MDA in non-diabetic, diabetic and diabetic treated with Vit.E rats was 126.14 ± 6.6 , 245.2 ± 17 and 170.8 ± 9 nmol/grHb respectively. Significant attenuation of MDA in diabetic treated with Vit. E rats showed decrease of lipid peroxidation in comparison to the diabetic non treated group ($P < 0.01$). Antioxidant capacity in the three groups mentioned was 582.7 ± 23.33 , 586.2 ± 23.79 and 808.7 ± 30.82 mmol/lit respectively. Plasma antioxidant capacity in Vit.E treated rats showed significant augmentation comparing to the first two groups ($P < 0.05$). In the non-treated rats, glomerule diffused proliferation, cell diffused inflammation and hyaline changes were seen; arteries walls also shows thickening. These changes were significantly reduction in rats treated with Vit. E. **Conclusion:** This study showed that Vit. E causes decrease the oxidative effects stress and improve diabetes induced nephropathy.

Key words: Diabetes, Nephropathy, Oxidative Stress, Vit.E