ORIGINAL ARTICLE

Effect of Glutamine on Oxidative Stress, Inflammatory, and Glycation Markers, and the Activity of Glyoxalase System in Diabetic Rats with Atherosclerosis

Sina Mahdavifard[1],
Manochehr Nakhjavani[2]

[1] Assistant Professor, Department of Biochemistry, School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran
[2] Professor, Endocrinology and Metabolism Research Center, Imam Khomeini Hospital, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received June 26, 2018 ; Accepted September 17, 2018)

Abstract

Background and purpose: Vascular complications of diabetes are the most common causes of mortality in diabetic patients. Hyperglycemia, insulin resistance, dyslipidemia, glycation products, oxidative stress, and inflammation lead to atherosclerosis and diabetic nephropathy in diabetes. This research aimed at studying the effect of glutamine (Gln) on main causes of vascular complications in diabetic rats with atherosclerosis.

Materials and methods: In this experimental study, 40 male Wistar rats were divided into four groups, including a control group, diabetic atherosclerosis group, and two similar groups under Gln (0.1% in drinking water) treatment. The following items were measured in all groups: fasting blood sugar, insulin, insulin resistance index, lipid profile, the activity of glyoxalase system (GLO), markers of glycation (glycated albumin, glycated LDL, glyoxal, methylglyoxal, and advanced glycation end products), oxidative stress markers (malondialdehyde and advanced oxidation end products), inflammatory markers (interleukine-6 and tumor necrosis factor-α), serum creatinine, 24-hour urine protein excretion, and kidney weight index.

Results: In diabetic-atherosclerotic group Gln reduced fasting blood sugar, insulin resistance, triglyceride level, total cholesterol, atherogenic index, markers of glycation, oxidative stress, and inflammation. The levels of Cr, 24-hour urine protein excretion, and kidney weight index were lower in treated diabetic-atherosclerotic rats than the untreated group. Gln showed elevating effect on the activity of GLO system in diabetic-atherosclerotic group ($p< 0.001$).

Conclusion: Glutamine improved glucose and lipid metabolism, reduced glycation, oxidative stress, and inflammation and induced the activity of glyoxalase system. Therefore, it could have preventive effect on vascular complications of diabetes.

Keywords: diabetes, atherosclerosis, glutamine, glycated products, oxidative stress, inflammation, glyoxalase system

J Mazandaran Univ Med Sci 2019; 28 (170): 33-42 (Persian).

Corresponding Author: Sina Mahdavifard- School of Medicine, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran. (E-mail: s.mahdavifard@arums.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۷۰ اسفند سال ۱۳۹۷ (۴۲-۳۳)

اثر گلوتامین بر شاخص های استرس اکسیداتیو، التهابی گلیکه و همچنین فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز در موش های صحرایی دیابتی- آترواسکلروزی

سینا مهدوی فرد[1]

منوچهر نخجوانی[2]

چکیده

سابقه و هدف: اختلالات عروقی دیابت علت بیش‌ترین میزان مرگ در افراد دیابتی است. افزایش قند خون، مقاومت انسولین، اختلات لیپیدی، محصولات گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهاب، زمینه ساز آترواسکلروز و اختلالات کلیوی در دیابت هستند. این مطالعه با هدف بررسی اثر اسید آمینه گلوتامین بر عوامل زمینه ساز اصلی اختلالات عروقی در موش‌های صحرایی دیابتی-آترواسکلروزی، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۴۰ سر موش به چهار گروه شامل گروه شاهد، گروه دیابتی-آترواسکلروزی و دو گروه مشابه تحت تیمار با اسیدآمینه گلوتامین (۰/۱ درصد در آب خوری) به مدت سه ماه تقسیم شدند. از موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین تحت رژیم غذایی آتروژنی به عنوان مدل دیابتی- آترواسکلروزی استفاده شد. قندخون ناشتا، انسولین، شاخص مقاومت انسولین، پروفایل لیپیدی، فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز و شاخص‌های گلیکه شامل آلبومین و LDL گلیکه، گلی اوکسال و متیل گلی اوکسال و محصولات نهایی گلیکه پیشرفته، شاخص‌های استرس اکسیداتیو شامل مالون دی‌آلدئید و محصولات پیشرفته اکسیداسیون پروتئین‌ها، شاخص‌های التهابی شامل فاکتور نکروز موتور-آلفا و اینترلوکین-۶ و همچنین کراتینین سرم، دفع پروتئین ادرار ۲۴ ساعته و شاخص وزن کلیه در همه گروه‌ها اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: گلوتامین میزان قند ناشتای سرم، مقاومت انسولین، تری‌گلیسرید، کلسترول تام و شاخص آتروژنی، شاخص‌های گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهابی را در گروه دیابتی- آترواسکلروزی کاهش داد. مقادیر کراتینین سرم، دفع پروتئینی ادرار ۲۴ ساعته و شاخص وزن کلیه در موش‌های دیابتی- آترواسکلروزی تحت تیمار پایین‌تر از موش‌های دیابتی-آترواسکلروزی بدون تیمار بود. گلوتامین بر فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز در گروه دیابتی- آترواسکلروزی اثر افزاینده نشان داد ($p <$ ۰/۰۰۱).

استنتاج: گلوتامین با بهبود متابولیسم قند و لیپید، افزایش فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز و همچنین کاهش روندهای گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهابی می‌تواند اثر پیشگیرنده بر اختلالات عروقی دیابت داشته باشد.

واژه های کلیدی: دیابت، آترواسکلروز، گلوتامین، محصولات گلیکه، استرس اکسیداتیو، التهاب، سیستم گلی‌اوکسیلاز

مقدمه

اختلالات عروقی به ویژه آترواسکلروز و نارسایی کلیوی شایع‌ترین علت مرگ در بیماران دیابتی است و چرخه گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهاب زمینه ساز آغاز و پیشرفت اختلالات عروقی دیابت است(۲،۱).

مولف مسئول: سینا مهدوی فرد- اردبیل: دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، دانشکده پزشکی E-mail:fard635@gmail.com

۱. استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

۲. استاد، مرکز تحقیقات بیماری های متابولیک و غدد درون ریز، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت : ۱۳۹۷/۴/۵ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :۱۳۹۷/۴/۲۵ تاریخ تصویب : ۱۳۹۷/۶/۲۶

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

محصولات ابتدایی (آلبومین و LDL گلیکه)، میانی (ترکیبات دی-کربونیل مانند گلی اوکسال و متیل گلی اوکسال) ونهایی گلیکه با ایجاد وگسترش استرس اکسیداتیو و التهاب در نارسایی سلول‌های بتا- پانکراس، مقاومت انسولین و اختلالات دیابت نقش اساسی دارند(۳). مقاومت انسولین و افزایش تولید محصولات نهایی گلیکه پیشرفته، زمینه ساز اختلالات متابولیکی لیپیدها، استرس اکسیداتیو و اختلالات عملکردی سلول‌های اندوتلیال هستند. ترکیبات دی-کربونیل ۵۰۰۰۰-۲۰۰ برابر گلوکز قابلیت گلیکه کردن بیومولکول های زیستی را دارند و هم‌چنین این ترکیبات از طریق تولید محصولات نهایی گلیکه پیشرفته (AGEs)، افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در گیرنده‌های فاکتور رشد مشتق از پلاکت در ایجاد پدیده آترواسکلروز نقش مهمی را ایفا می‌نمایند(۴). ترکیبات دی‌کربونیل به ویژه متیل گلی اکسال، منجر به گلیکه شدن LDL شده و از این طریق قابلیت اکسید شوندگی آن را می‌افزایند. ویژگی پیش آتروژنی LDL اکسیده با گلیکه شدن آن افزایش می‌یابد(۵). مهم‌ترین عامل در کاهش میزان ترکیبات دی-کربونیل به ویژه متیل گلی اوکسال و محصولات پیشرفته نهایی گلیکه سیستم آنزیمی گلی‌اوکسیلاز است، ولی متاسفانه فعالیت این سیستم در دیابت کاهش می یابد(۷،۶،۲).

گلوتامین فراوان‌ترین اسید آمینه مایعات بیولوژیک و ضروری در وضعیت‌های آنابولیک و کاتابولیک است(۹،۸). شواهد نشان می‌دهد اسید آمینه گلوتامین در نگه‌داری و عملکرد بسیاری از بافت‌ها مانند کبد، کلیه، عصب و روده همچنین سلول‌های ایمنی و بتای پانکراس نقش دارد و احتمالاً کاهش میزان پلاسمایی این اسید آمینه منجر به اختلال در ترشح و عملکرد انسولین می‌گردد(۱۱،۱۰). اثر گلوتامین بر بهبود حساسیت انسولین و تحمل گلوکز در مدل‌های حیوانی، چاقی و بیماران دیابتی نوع یک گزارش شده است و همچنین اثر پیشگیرنده این اسید آمینه بر گسترش اختلالات قلبی و نفروپاتی در موش‌های صحرایی دیابتی و اثر محافظتی آن بر بافت کلیه در برابر سمیت کلیوی استامنیوفن نشان داده شده است(۱۴،۱۰-۱۲). با توجه به اهمیت استفاده از مواد طبیعی و سازگار با سلامت، در مطالعه قبلی ما اثرات اسیدآمینه‌های سیستئین و گلیسین در موش صحرایی دیابتی-آترواسکلروزی مورد بررسی قرار گرفت(۱۵،۲). این مطالعه با هدف بررسی اثر گلوتامین بر ایجاد محصولات گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهاب و همچنین فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز در موش‌های صحرایی دیابتی-آترواسکلروزی انجام گرفت.

مواد و روش ها

در این مطالعه تجربی، با تصویب کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی اردبیل با کد اخلاق IR.ARUMS.REC.1396.97 و با رعایت استانداردهای اصول کار با حیوانات آزمایشگاهی، موش‌های صحرایی نر (۸ هفته) از نژاد ویستار آلبینو با وزن ۲۰۰-۱۸۵ گرم از انستیتو پاستور ایران، کرج، خریداری، و تحت شرایط دمای کنترل شده، چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذا در خانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اردبیل نگهداری شدند. بعد از دو هفته سازگاری با شرایط، در نیمی از موش‌ها با تزریق استرپتوزوتوسین به میزان ۴۵ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن دیابت القا شد و به مابقی فقط سرم فیزیولوژی تزریق گردید. سه روز بعد از تزریق، قند خون در رت‌ها اندازه‌گیری شد و مواردی که قند بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر داشتند، به عنوان مدل دیابتی پذیرفته شدند. موش‌ها به طور تصادفی به ۴ گروه ۱۰ تایی، گروه کنترل و دیابتی و گروه کنترل و دیابتی دریافت کننده گلوتامین به ترتیب (کنترل + گلوتامین) و (دیابتی + گلوتامین) تقسیم شدند. موش‌های صحرایی کنترل (گروه‌های ۱ و ۲) تا پایان مطالعه با غذای استاندارد تغذیه شدند. به دو گروه دیابتی به منظور ایجاد آترواسکلروز، غذای آتروژن طبق مدل وسترن حاوی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

یک درصد کلسترول و نیم درصد اسید کولیک داده شد. براساس مطالعه قبلی و تجارب به دست آمده از تحقیقات در مطالعه حاضر، گروه‌های تحت تیمار به میزان ۰/۱ درصد گلوتامین در آب خوراکی به مدت سه ماه دریافت کردند(۱۶). براساس مطالعات قبلی ما قرار گرفتن موش‌های صحرایی دیابتی به مدت سه ماه تحت غذای آتروژن برای ایجاد پلاک‌های آترواسکلروزی کافی است(۷،۲).

جمع‌آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته، خون و بافت

برای جمع آوری نمونه ادرار ۲۴ ساعته یک هفته پیش از پایان مطالعه، موش‌ها به مدت ۲۴ ساعت در قفس متابولیک قرار داده شدند. موش‌های صحرایی پس از ۱۶ ساعت ناشتایی، به وسیله تزریق داخل صفاقی کتامین و زایلازین (به ترتیب ۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم) بیهوش شدند. نمونه خون از قلب آن‌ها جمع‌آوری شد و در لوله‌های دارای ضد انعقاد EDTA و بدون ضد انعقاد جمع‌آوری گردید. نمونه‌های سرم پس از سانتریفیوژ به مدت ۱۵ دقیقه و دور ۵۰۰۰، نیروی سانتریفیوژی آن‌ها جدا و تا زمان سنجش در فریزر در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. کلیه راست موش‌های صحرایی جدا و وزن شدند.

سنجش قند، پروفایل لیپیدی و شاخص های عملکرد کلیه

قند خون ناشتا، تری‌گلیسرید، کلسترول و HDL، کراتینین به روش آنزیمی با کیت‌های شرکت پارس آزمون سنجش شد. میزان LDL به وسیله معادله فریدوال و شاخص آتروژنی از طریق تقسیم میزان LDL بر HDL محاسبه گردید. انسولین سرم با کیت الیزا (Mercodia, Uppsala, Sweden) اندازه‌گیری شد و شاخص مقاومت انسولین، HOMA-IR (homeostasis model assessment of insulin resistance) براساس معادله ۱ تعیین گردید.

معادله ۱:
$$HOMA-IR=\frac{Glucose\ (mg/dl)\times Insulin\ (\mu U/ml)}{405}$$

میزان دفع ادراری پروتئین در ادرار ۲۴ ساعته با روش کدورت سنجی براساس خواندن جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. نحوه سنجش دفع پروتئین در مطالعه قبلی ما بیان شد(۷). شاخص وزن کلیه با تقسیم وزن کلیه راست موش‌های صحرایی بر وزن بدن آن‌ها تعیین گردید.

سنجش محصولات ابتدای، میانی و نهایی گلیکه

میزان محصولات اولیه گلیکه مانند آلبومین گلیکه و LDL گلیکه براساس روش نورسنجی اندازه‌گیری گردید. غلظت آلبومین گلیکه براساس احیا ماده نیتروبلوتترازولیوم و خواندن جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۴۰ سنجیده شد(۱۷). میزان LDL گلیکه به‌وسیله آزمون تیوباربیتوریک اسید براساس تشکیل ماده ۵- هیدوکسی‌متیل‌فورفورال با خواندن جذب نمونه‌ها در ۴۳۰ نانومتر تعیین گردید(۱۸). روش استخراج آلبومین و LDL از سرم و چگونگی سنجش میزان گلیکه آن‌ها در مطالعه قبلی ما بیان شده است(۲). محصولات میانی گلیکه مانند گلی اوکسال و متیل‌گلی اوکسال با روش HPLC فاز معکوس و قرائت جذب در طول موج ۳۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. فاز متحرک، بافر فسفات + استونیتریل + بوتانول (با نسبت ۸:۳۲:۶۰) و روش ایزو گرادیانت بود. جهت سنجش از دستگاه HPLC شرکت KNAUER (آلمان) استفاده گردید(۱۹). مقدار محصولات نهایی پیشرفته گلیکه (AGEs) براساس جذب فلورومتری، در طول موج تابشی ۴۴۰ نانومتر و طول موج تحریکی ۳۷۰ نانومتر سنجیده شد(۲۰). چگونگی سنجش محصولات نهایی گلیکه در تحقیقات قبلی ما ارائه شده است(۲۱،۷).

سنجش شاخص های استرس اکسیداتیو و التهابی

دیان کونژوگه از طریق خواندن جذب نمونه‌ها در ۲۳۴ نانومتر و محصولات فلورسنت حاصل از اکسیداسیون آپو B-۱۰۰ براساس جذب فلورسنت در طول موج تابشی و طول موج تحریکی به ترتیب ۴۳۰ و ۳۶۰ سنجیده

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

شد. دیان کونژوگه و محصولات فلورسنت به ترتیب نشانگر اکسیداسیون ابتدایی و نهایی LDL هستند(۲۲). سنجش محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده یا AOPP براساس روش اسپکتوفتومتری در طول موج ۳۴۰ نانومتر انجام شد(۲۳). غلظت مالون دی آلدئید با استفاده از تیوباربیتوریک اسید و خواندن جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر اندازه‌گیری گردید. چگونگی سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو در مقالات قبلی ما بیان شده است(۲۴،۲). فاکتورهای التهابی اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور نکروز تومور –آلفا (TNF-α) با کیت‌های الیزا (France، Immunotech) اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم‌های سیستم گلی‌اوکسیلاز (گلی‌اوکسیلاز ۱ و۲)

فعالیت آنزیم‌های گلی‌اوکسلاز ۱ و ۲ گلبول‌های قرمز براساس تشکیل و تجزیه لاکتوئیل گلوتاتیون و خواندن میزان جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد(۲۵). نحوه سنجش آنزیم‌های گلیاوکسیلاز در مطالعه قبلی ما تشریح شده است(۷).

تمامی نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار (mean±SD) ارائه شد. برای تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس چندگانه یا چند متغیری (MANOVA-Tukey) که یک روش یک طرفه درون گروهی برای مقایسه چند متغیر است، در نرم‌افزار SPSS 16 استفاده گردید و $p<۰/۰۵$ برای تمام سنجش‌ها معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

نتایج قندخون ناشتا، انسولین، شاخص مقاومت انسولین (HOMA)، پروفایل لیپیدی شامل تری‌گلیسرید، کلسترول تام، HDL، LDL و شاخص آتروژنی همچنین شاخص‌های عملکرد کلیه شامل کراتینین سرم، دفع ادراری پروتئین ۲۴ ساعته و شاخص وزن کلیه در جدول شماره ۱ بیان شده است. میزان این متغیرها به جز انسولین و HDL در گروه دیابتی-آترواسکلروزی بالاتر از گروه کنترل بود و در گروه دیابتی- آترواسکلروزی تحت تیمار با گلوتامین نسبت به گروه دیابتی بدون تیمار، میزان همه متغیرها به جز انسولین و HDL پائین‌تر بوده است ($p <۰/۰۰۱$).

مقایسه غلظت محصولات گلیکه (آلبومین گلیکه، LDL گلیکه، گلی اوکسال، متیل‌گلی اوکسال و AGEs) شاخص‌های استرس اکسیداتیو (محصولات ابتدایی و نهایی اکسیداسیون LDL، محصولات اکسیداسیون پیشرفته پروتئین‌ها و مالون دی‌آلدئید) فاکتورهای التهابی (TNF-α و IL-6) در گروه‌های کنترل و دیابتی در اثر تیمار با گلوتامین در جدول شماره ۲ بیان شده است. مقادیر گلی اوکسال، متیل گلی اوکسال، AGEs و همچنین TNF-α و IL-6 در گروه‌های کنترل و دیابتی-آترواسکلروزی کم‌تر از گروه‌های بدون تیمار بوده است. گلوتامین بر سایر متغیرها تنها در گروه دیابتی-آترواسکلروزی تحت تیمار اثرکاهنده نشان داد ($p<۰/۰۰۱$).

جدول شماره ۱: اثر گلوتامین بر میزان قند خون ناشتا، انسولین، شاخص مقاومت انسولین، پروفایل لیپیدی و شاخص های عملکرد کلیه در گروه‌های کنترل و دیابتی – آترواسکلروزی

پارامتر	گروه			
	کنترل	کنترل (گلوتامین)	دیابتی-آترواسکلروزی	دیابتی-آترواسکلروزی (گلوتامین)
گلوکز ناشتا (میلی گرم بر دسی لیتر)	۸۹/۶۷ ± ۶/۰۱	۷۳/۲۹ ± ۵/۸۳	۲۶۳/۱۰ ± ۱۵/۹۴*	۱۶۷/۴۸ ± ۸/۱۳*#
انسولین (میکرو واحد بر میلی لیتر)	۱۹/۷۲ ± ۱/۳۶	۲۰/۱±۹۵/۵۴	۹/۳۵ ± ۰/۳۸#	۱۲/۴۷ ± ۰/۵۹*#
شاخص مقاومت انسولین	۴/۳۶ ± ۰/۳۷	۳/۷۹ ± ۰/۲۹	۶/۰۷ ± ۰/۵۲*	۵/۲۵ ± ۰/۴۷*#
تری گلیسرید (میلی گرم بر دسی لیتر)	۹۰/۷۶ ± ۵/۹۴	۷۸/۸۰ ± ۴/۰۹	۲۷۸/۱۰ ± ۱۳/۰۴*	۱۳۹/۵۱ ± ۷/۰۲*#
کلسترول تام (میلی گرم بر دسی لیتر)	۱۰۱/۳۵ ± ۶/۸۴	۸۷/۹۱ ± ۵/۰۲	۲۶۸/۲۵ ± ۲۴/۸۷*	۱۶۴/۵۱ ± ۱۱/۰۹*#
HDL(میلی گرم بر دسی لیتر)	۵۶/۳۷ ± ۳/۶۷	۵۹/۷۱ ± ۳/۰۹	۳۳/۲۵ ± ۲/۰۷*	۴۱/۵۱ ± ۲/۷۵*#
LDL(میلی گرم بر دسی لیتر)	۳۳/۶۱ ± ۱/۹۵	۲۰/۷۱ ± ۲/۰۳	۱۷۹/۴۲ ± ۸/۳۲*	۹۹/۰۱ ± ۵/۰۷*#
شاخص آتروژنی	۰/۴۲ ± ۰/۰۳	۰/۳۴ ± ۰/۰۳	۵/۳۹ ± ۰/۳۷*	۲/۳۸ ± ۰/۲۰*#
کراتینین (میلی گرم بر دسی لیتر)	۰/۶۷ ± ۰/۰۵	۰/۷۱ ± ۰/۰۵	۱/۲۵ ± ۰/۰۷*	۱/۵۱ ± ۰/۰۹*#
میزان دفع پروتئین در ادرار ۲۴ ساعته (میلی گرم بر دسی‌لیتر در ۲۴ ساعت)	۱۴/۴۵ ± ۰/۷۸	۱۳/۰۵ ± ۰/۹۴	۲۹۸/۶۷ ± ۱۶/۱۲*	۸۶/۵۹ ± ۴/۹۱*#
شاخص وزن کلیه (گرم بر ۱۰۰ گرم وزن بدن)	۰/۸۷ ± ۰/۰۶	۰/۸۳ ± ۰/۰۵	۱/۲۳ ± ۰/۱۲*	۰/۹۹ ± ۰/۰۹*#

*: نمایانگر تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < ۰/۰۰۱$)،

#:نمایانگر تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی-آترواسکلروزی ($p<۰/۰۰۱$) می باشد. روش آماری MANOVA و آزمون Tukey (تعداد در هر گروه ۱۰ سر موش صحرایی).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

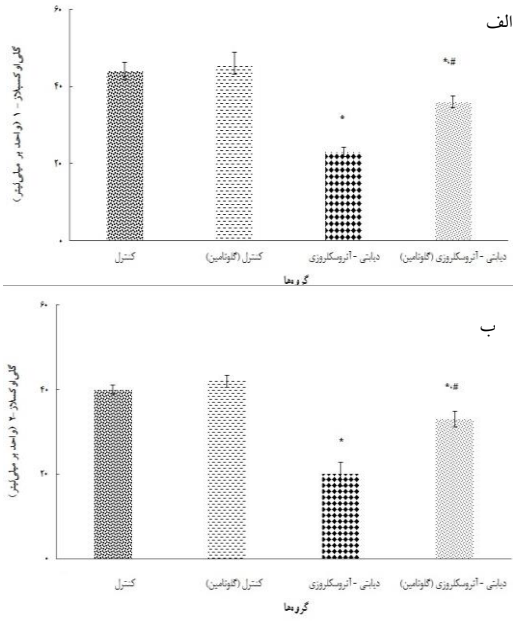
جدول شماره ۲: مقایسه غلظت محصولات گلیکه شاخص های استرس اکسیداتیو و فاکتور های التهابی در تمام گروه های کنترل و دیابتی - آترواسکلروزی بعد از سه ماه دریافت گلوتامین،

پارامتر	گروه			
	کنترل	کنترل (گلوتامین)	دیابتی- آترواسکلروزی	دیابتی- آترواسکلروزی (گلوتامین)
آلبومین گلیکه (میکرومول بر لیتر)	۹۵/۱۳ ± ۶/۴۳	۸۸/۲۹ ± ۴/۸۳	۳۹۸/۲۵ ± ۱۷/۰۶*	۲۲۳/۲۶ ± ۸/۱۳*#
LDL گلیکه (میکرومول بر لیتر)	۴۹/۴۳ ± ۴/۰۶	۴۳/۳±۹۵/۵۴	۱۶۷/۳۳ ± ۹/۳۸*	۱۰۲/۹۲ ± ۶/۱۰*#
گلی اوکسال (میکرومول بر لیتر)	۱۴/۹۵ ± ۰/۷۷	۹/۹۳ ± ۰/۶۹*	۱۱۵/۰۴ ± ۷/۰۹*	۵۶/۴۴ ± ۵/۴۱*#
متیل گلی اوکسال (میکرومول بر لیتر)	۱۷/۸۱ ± ۰/۸۰	۱۱/۵۶ ± ۰/۷۶*	۱۰۴/۱۸ ± ۶/۳۱*	۳۸/۹۲ ± ۲/۴۵*#
محصولات نهایی گلیکه پیشرفته (واحد قراردادی)	۵۵/۱۹ ± ۳/۰۱	۴۴/۵۶ ± ۲/۷۶*	۳۲۱/۱۸ ± ۱۶/۳۱*	۹۸/۹۱ ± ۵/۶۵*#
محصولات ابتدایی LDL اکسیده (میکرومول بر لیتر)	۱۵/۱۹ ± ۱/۰۳	۱۳/۵۳ ± ۰/۹۱*	۹۱/۴۵ ± ۴/۳۱*	۳۵/۶۴ ± ۲/۶۵*#
محصولات نهایی LDL اکسیده (واحد قراردادی)	۲۰۵/۱۱ ± ۸/۶۰	۱۹۶/۰۱ ± ۸/۰۹	۴۸۸/۲۵ ± ۲۹/۳۷*	۲۳۸/۵۱ ± ۱۲/۷۵*#
محصولات اکسیداسیون پیشرفته پروتئین ها (میکرومول بر لیتر)	۲۳/۶۱ ± ۱/۷۵	۲۰/۷۱ ± ۱/۶۰	۶۹/۴۵ ± ۳/۳۲*	۲۷/۲۴ ± ۱/۰۷*#
مالون دی آلدئید (میکرومول بر لیتر)	۱۲/۴۰ ± ۰/۶۶	۱۰/۰۱ ± ۰/۵۳	۱۶۶/۲۰ ± ۹/۷۴*	۸۹/۸۴ ± ۴/۴۷*#
اینترلوکین-۶ (میکرومول بر لیتر)	۱۰۲/۶۳ ± ۵/۷۳	۸۷/۰۱ ± ۴/۱۴	۲۶۶/۹۱ ± ۲۴/۷۴*	۱۸۹/۸۴ ± ۹/۸۵*#
	۱۳۲/۱۱ ± ۷/۳۲	۱۰۷/۷۱ ± ۶/۵۹	۲۹۴/۲۰ ± ۲۳/۵۰*	۱۵۵/۹۶ ± ۷/۶۳*#

*: نمایانگر تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($P < ۰/۰۰۱$)،

#:نمایانگر تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی-آترواسکلروزی ($p< ۰/۰۰۱$) می باشد. روش آماری MANOVA و آزمون Tukey (تعداد در هر گروه ۱۰ سر موش صحرایی).

اثر گلوتامین بر فعالیت آنزیم‌های گلی‌اوکسیلاز ۱ و ۲ در همه گروه‌ها در نمودار شماره ۱ نشان داده شده است. فعالیت آنزیم‌های گلی‌اوکسیلاز در گروه دیابتی-آترواسکلروزی نسبت به گروه کنترل پایین‌تر بود ولی گلوتامین بر فعالیت این آنزیم‌ها در گروه‌های دیابتی-آترواسکلروزی اثر افزاینده داشت ($p <۰/۰۰۱$).



نمودار شماره ۱: فعالیت آنزیم‌های گلی‌اوکسیلاز-۱ و گلی‌اوکسیلاز-۲ در گروه‌های کنترل و دیابتی-آترواسکلروزی، الف: گلی‌اوکسیلاز-۱، ب: گلی‌اوکسیلاز-۲، *: نمایانگر تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ($p< ۰/۰۰۱$)، #: نمایانگر تفاوت معنی‌دار با گروه دیابتی-آترواسکلروزی($p< ۰/۰۰۱$)، روش آماری MANOVA و آزمون Tukey (تعداد در هر گروه ۱۰ سر موش صحرایی).

بحث

در این مطالعه، برای اولین بار اثر گلوتامین بر محصولات مختلف گلیکه، استرس اکسیداتیو، التهاب و فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز در موش‌های صحرایی مدل دیابتی-آترواسکلروزی مورد بررسی قرار گرفت. گلوتامین منجر به کاهش محصولات ابتدایی، میانی و نهایی گلیکه، شاخص‌های استرس اکسیداتیو و التهاب گردید. این اسید آمینه متابولیسم قند و لیپید، کارکرد کلیه و فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز را در موش‌های صحرایی دیابتی-آترواسکلروزی بهبود بخشید.

در موش‌های صحرایی دیابتی-آترواسکلروزی تحت درمان با گلوتامین نسبت به گروه بدون تیمار کاهش گلوکز ناشتا و مقاومت انسولین با افزایش ترشح انسولین همراه بوده است (جدول شماره ۱) ($p<۰/۰۰۱$). به نظر می‌رسد گلوتامین با کاهش گلوکونئوژنز، افزایش گلیکوژنز، تامین آلانین برای سلول‌های بتا-پانکراس و کاهش اسیدهای چرب آزاد پلاسما منجر به کاهش قند خون، بهبود عملکرد سلول‌های بتا و کاهش مقاومت انسولین می‌گردد(۲۶،۱۶). کاهش میزان قندخون افراد دیابتی نوع دو و موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک در اثر تیمار با گلوتامین قبلاً گزارش شده است(۲۸،۲۷).

محصولات ابتدایی تا نهایی گلیکه با زمینه‌سازی و تشدید استرس اکسیداتیو و التهاب در نارسایی سلول‌های

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

بتا- پانکراس، ایجاد مقاومت انسولین و اختلالات عروقی دیابت نقش دارند(۲۹). براساس مطالعات قبلی ما تیمارهایی که بتوانند مقادیر محصولات مختلف گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهاب را کاهش دهند، کارایی بالایی جهت افزایش حساسیت انسولین و پیشگیری از اختلالات دیابت دارند(۷،۲). با توجه به جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱، گلوتامین ویژگی ضد گلیکه خود را با کاستن مقادیر محصولات ابتدایی تا نهایی گلیکه و افزایش فعالیت آنزیم‌های گلی‌اوکسیلاز در موش‌های صحرایی دیابتی-آتروواسکلروزی نشان داد (p <۰/۰۰۱). این اسید آمینه احتمالاً با ویژگی آنتی اکسیدانتی، جمع‌آوری ترکیبات دی‌کربونیل و فعالسازی سیستم گلی‌اوکسیلاز، توان مهار تشکیل محصولات گلیکه را دارد. در دیابت فعالیت سیستم گلی‌اوکسیلاز احتمالاً در پی کاهش گلوتاتیون افت می‌کند. از طرفی، گلوتامین پیش‌ساز گلوتاتیون نیز هست، و در دیابت میزان گلوتامین و گلوتاتیون هر دو کاهش می‌یابد(۳۰). براساس مطالعات ما، تاکنون اثر این اسید آمینه از بین محصولات مختلف گلیکه تنها بر میزان هموگلوبین گلیکه در افراد دیابتی نوع دو نشان داده شده است(۲۷).

در این مطالعه محصولات پیشرفته پروتئین اکسیده و مالون دی‌آلدئید به ترتیب به عنوان شاخص‌های مناسب نشانگر اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدها استفاده گردید(۲۴). مقدار این شاخص‌ها در موش های صحرایی دیابتی-آتروواسکلروزی تحت تیمار نسبت به گروه بدون تیمار کاهش یافت (جدول شماره۲)(p<۰/۰۰۱). اثر کاهنده این اسید آمینه بر میزان مالون دی‌آلدئید در موش‌های صحرایی مدل کبد چرب نشان داده شده است، ولی در این مطالعه برای نخستین بار اثر کاهنده گلوتامین بر شاخص اکسیداسیون پروئین‌ها گزارش گردید(۳۱). گلوتامین با داشتن ویژگی آنتی‌اکسیدانتی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی مانند سوپرکسید دیسموتاز، شرکت در ساخت گلوتاتیون و جلوگیری از کاهش‌آن منجر به‌کاهش استرس اکسیداتیو می‌شود(۳۳،۳۲).

کاهش AOPP در رت‌های دیابتی-آتروواسکلروزی توسط اسیدآمینه‌های سیستئین، N-استیل سیستئین و گلیسین قبلاً توسط گروه تحقیقاتی ما گزارش شده است(۷،۲). اثر ضد التهابی گلوتامین در موش‌های صحرایی دیابتی-آتروواسکلروزی با کاهش میزان TNF-α و IL-6 همراه بوده است (جدول شماره ۲) (p<۰/۰۰۱). گلوتامین با کاستن بیان ژن NF-kB، ساخت و ترشح فاکتورهای التهابی را می‌کاهد(۳۴). اثر کاهنده گلوتامین بر استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از افزایش قندخون در محیط کشت سلول‌های اندوتلیال، و اثر ضد التهابی آن در موش‌های صحرایی تحت ورزش استقامتی و مدل سمیت کلیوی استامنیوفن نشان داده شده است(۳۶،۳۵،۱۴). اختلالات لیپیدی یا افزایش شاخص آتروژنی (نسبت LDL به HDL) و تری‌گلیسرید منجر به بروز آتروواسکلروز در بیماران دیابتی می‌گردد. تیمار با گلوتامین وضعیت پروفایل لیپیدی در رت دیابتی- آتروواسکلروزی را نیز بهبود بخشید. سطح تری‌گلیسرید، کلسترول، LDL و شاخص آتروژنی در موش‌های صحرایی تحت تیمار به‌طور معنی‌داری کمتر از رت‌های دیابتی-آتروواسکلروزی بدون تیمار بوده است (جدول شماره ۱) (p <۰/۰۰۱). براساس جستجو در مقالات و وبگاه‌ها، اثرات مفید این اسیدآمینه بر پروفایل لیپیدی تاکنون در هیچ مطالعه‌ای ذکر نشده است و برای اولین بار در این مطالعه گزارش گردید. تغییراتی مانند گلیکه شدن و اکسیداسیون LDL در بیماران دیابتی به علت افزایش مجموعه عوامل خطری مانند افزایش قند خون، اختلالات لیپیدی و استرس اکسیدایتو، نسبت به افراد غیر دیابتی بیش‌تر رخ می‌دهد. در این مطالعه برای اولین بار اثر کاهنده گلوتامین بر روند گلیکه و اکسید شدن LDL ارائه شده است (جدول شماره ۲). گلوتامین بر محصولات ابتدایی و نهایی اکسیداسیون در موش‌های صحرایی دیابتی-آتروواسکلروزی اثر کاهنده داشته است (p<۰/۰۰۱). براساس مطالعات قبلی ما تیمارهایی که قادر باشند محصولات ابتدایی و نهایی اکسیداسیون LDL را

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

کاهش دهند، توان پیشگیری از ضایعات آترواسکلروزی را دارند(۷،۲). افزایش چندین برابری کلسترول تام، LDL، شاخص آتروژنی و محصولات اکسیده LDL در موش‌های دیابتی-آترواسکلروزی نسبت به گروه کنترل نشانگر موفقیت‌آمیز بودن مدل حیوانی در القا آترواسکلروز در موش‌های دیابتی است. میزان کراتینین، دفع پروتئینی ادرار ۲۴ ساعته و شاخص وزن کلیه در موش‌های صحرایی دیابتی-آترواسکلروزی نسبت به گروه کنترل بالا بود. گلوتامین با کاهش شاخص‌های ذکر شده بر عملکرد کلیه اثر مفید خود را نشان داد($p<۰/۰۰۱$). براساس نتایج حاضر، گلوتامین با کاهش قند خون، مقاومت انسولین و شاخص‌های گلیکه، استرس اکسیداتیو و التهابی و همچنین بهبود پروفایل لیپیدی نقش حفاظتی خود را بر بافت کلیه ایفا می نماید. اثرات مفید این اسید آمینه بر نفروپاتی دیابتی در موش‌های صحرایی دیابتی نوع یک به واسطه کاهش استرس اکسیداتیو، بیان ژن هایی مانند کلاژن-۱، فاکتور رشد تومور- بتا (TGF-β) و همچنین اثر حفاظتی این اسید آمینه بر بافت کلیه با اثر ضد التهابی در پی کاهش فعالیت میلوپراکسیداز در سمیت کلیوی حاصل از استامینوفن در موش گزارش شده است(۱۴،۱۳). البته گلوتامین با وجود اثر حفاظتی در برابر سمیت کبدی دلتامترین، بر سمیت کلیوی آن در موش‌های صحرایی اثری نداشته است(۳۷). به نظر می‌رسد تشخیص مکانیسم سمیت کلیوی دلتامترین می‌تواند راهگشای عدم اثر گلوتامین در این آسیب کلیوی باشد. محدودیت‌های این مطالعه شامل، عدم مطالعه میکروسکوپی آئورت و کلیه موش‌های صحرایی جهت بررسی اثر گلوتامین بر ضایعات بافتی حاصل از القا دیابت و آترواسکلروز می‌باشد. گلوتامین با داشتن ویژگی‌های ضد گلیکه، آنتی‌اکسیدانتی و ضد التهابی همچنین اثر مفید بر متابولیسم قند و لیپید، به نظر می‌رسد داروی سودمندی جهت کاهش خطر ابتلا به آترواسکلروز و اختلالات کلیوی باشد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل جهت تامین مالی و خانم دکتر سیده زهرا بطحایی جهت همکاری در اجرای این مطالعه سپاسگزاریم.

References

1. Kawanami D, Matoba K, Utsunomiya K. Signaling pathways in diabetic nephropathy. Histol Histopathol 2016; 31(10): 1059-1067.
2. Mahdavifard S, Bathaie SZ, Nakhjavani M, et al. The synergistic effect of antiglycating agents (MB-92) on inhibition of protein glycation, misfolding and diabetic complications in diabetic-atherosclerotic rat. Eur J Med Chem 2016; 121: 892-902.
3. Turk Z. Glycotoxines, carbonyl stress and relevance to diabetes and its complications. Physiol Res 2010; 59(2): 147-156.
4. Cantero AV, Portero-Otín M, Ayala V, et al. Methylglyoxal induces advanced glycation end product (AGEs) formation and dysfunction of PDGF receptor-ß: implications for diabetic atherosclerosis. FASEB J 2007; 21(12): 3096-3106.
5. Shamsaldeen YA, Mackenzie LS, Lione LA, Benham CD. Methylglyoxal, A Metabolite Increased in Diabetes is Associated with Insulin Resistance, Vascular Dysfunction and Neuropathies. Curr Drug Metab 2016; 17(4): 359-367.
6. Nigro C, Leone A, Raciti GA, Longo M, Mirra P, Formisano P, et al. Methylglyoxal-Glyoxalase 1 Balance: The Root of Vascular Damage. Int J Mol Sci 2017; 18(1): 188-202.
7. Mahdavifard S, Bathaie S, Nakhjavani M, Heidarzadeha H. L-cysteine is a potent inhibitor of protein glycation on both albumin and LDL, and prevents the diabetic

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

complications in diabetic–atherosclerotic rat. Food Res Int 2014; 62: 909-916.

8. Weiner ID VJ. Ammonia Transporters and Their Role in Acid-Base Balance. Physiol Rev 2017; 97(2): 465-494.
9. Stangl R SA, Ónody P, et al. Reduction of liver ischemia reperfusion injury via glutamine pretreatment. J Surg Res 2011; 166(1): 95-103.
10. Badole SL, Jangam GB, Chaudhari SM, Ghule AE, Zanwar AA. L-glutamine supplementation prevents the development of experimental diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. PLoS One 2014; 9(3): e92697.
11. Roshanravan B, Zelnick LR, Djucovic D, et al. Chronic kidney disease attenuates the plasma metabolome response to insulin. JCI Insight 2018; 3(16): e122219.
12. Torres-Santiago L MN, Hossain J et al. Does oral glutamine improve insulin sensitivity in adolescents with type 1 diabetes? Nutrition 2017; 34: 1-6.
13. Sadar S, Kaspate D, Vyawahare N. Protective effect of L-glutamine against diabetes-induced nephropathy in experimental animal: Role of KIM-1, NGAL, TGF-beta1, and collagen-1. Ren Fail 2016; 38(9): 1483-1495.
14. Brovedan MA, Molinas SM, Pisani GB, et al. Glutamine protection in an experimental model of acetaminophen nephrotoxicity. Can J Physiol Pharmacol 2018; 96(4): 366-371.
15. Mahdavifard S, Bathaie Z, Nakhjavani M, Etemadi Kia B. EFFECT of one month cysteine treatment on the glycemic control, lipid profile, glycated and oxidized LDL, in the rat model of diabetes-atherosclerosis. IJDLD 2014; 13(4): 279-286 (Persian).
16. Comar JF, de Oliveira DS, Bracht L, Kemmelmeier FS, Peralta RM, Bracht A. The Metabolic Responses to L-Glutamine of Livers from Rats with Diabetes Types 1 and 2. PLoS One 2016; 11(8): e0160067.
17. Xu YJ, Wu XQ, Liu W, et al. A convenient assay of glycoserum by nitroblue tetrazolium with iodoacetamide. Clin Chim Acta 2002; 325(1-2): 127-131.
18. Cohen MP, Shea EA, Wu V-Y. Inhibiting LDL glycation ameliorates increased cholesteryl ester synthesis in macrophages and hypercholesterolemia and aortic lipid peroxidation in streptozotocin diabetic rats. Metabolism 2010; 59(5): 658-653.
19. Nakayama K NM, Iwabuchi M, Terawaki H, Sato T, Kohno M, Ito S. Plasma alpha-oxoaldehyde levels in diabetic and nondiabetic chronic kidney disease patients. Am J Nephrol 2008; 28(6): 871-878.
20. Kalousova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. Physiol Res 2002; 51(6): 597-604.
21. Mahdavifard S, Bathaie Z, Nakhjavani M, Etemadi kia B. Effect of one month cysteine treatment on the glycemic on the glycemic control, the glycemic control, lipid profilr, glycated and oxidized LDL,in the rat model of diabetes-atherosclerosis. IJDLD 2014; 13(4): 279-286 (Persian).
22. Yoshida H, Kisugi R. Mechanisms of LDL oxidation. Clin Chim Acta 2010; 411(23-24): 1875-1882.
23. Taylor EL, Armstrong KR, Perrett D, Hattersley AT, Winyard PG. Optimisation of an Advanced Oxidation Protein Products Assay: Its Application to Studies of Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. Oxid Med Cell Longev 2015; 2015: 496271.
24. Shahsavari G, Firouzi M, Mahdavifard S, Joudaki A, Birjandi M. Phototherapy motivates protein and lipid oxidation in jaundiced term

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]

and late term neonates. CJP 2017; 3(2): 248-252.

25. Mustafiz A, Singh AK, Pareek A, et al. Genome-wide analysis of rice and Arabidopsis identifies two glyoxalase genes that are highly expressed in abiotic stresses. Funct Integr Genomics 2011; 11(2): 293-305.
26. Wang C, Deng Y, Yue Y, Chen W, Zhang Y, Shi G, et al. Glutamine Enhances the Hypoglycemic Effect of Insulin in L6 Cells via Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K)/Protein Kinase B (AKT)/Glucose Transporter 4 (GLUT4) Signaling Pathway. Med Sci Monit 2018; 24: 1241-1250.
27. Mansour A, Mohajeri-Tehrani MR, Qorbani M, Heshmat R, Larijani B, Hosseini S. Effect of glutamine supplementation on cardiovascular risk factors in patients with type 2 diabetes. Nutrition 2015; 31(1): 119-126.
28. Newsholme P, Lima M, Procopio J, Pithon-Curi TC, Doi SQ, Bazotte RB, et al. Glutamine and glutamate as vital metabolites. Braz J Med Biol Res 2003; 36(2): 153-163.
29. Schalkwijk CG, Miyata T. Early-and advanced non-enzymatic glycation in diabetic vascular complications: the search for therapeutics. Amino Acids 2012; 42(4): 1193-1204.
30. Krupek T, Silva MARCP, Batista MR, Shimauti EL, Nakanishi AB, Comar JF, et al. Glutamine dipeptide supplementation improves clinical responses in patients with diabetic foot syndrome. Braz J Pharm Sci 2016; 52(3): 567-574.
31. Angulo P, Adams LA. Treatment of non-alcoholic fatty liver disease. Postgrad Med J 2006; 82(967): 315-322.
32. Marques C, Licks F, Zattoni I, de Souza LE, Marroni CA, Marroni NP. Antioxidant properties of glutamine and its role in VEGF-Akt pathways in portal hypertension gastropathy. World J Gastroenterol. 2013; 19(28): 4464-4474.
33. Kim HJ, Park DJ, Kim JH, et al. Glutamine protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by decreasing cisplatin accumulation. J Pharmacol Sci 2015; 127(1): 117-126.
34. Singleton KD, Wischmeyer PE. Glutamine's protection against sepsis and lung injury is dependent on heat shock protein 70 expression. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2007; 292(5): 1839-1845.
35. Muniandy S, Qvist R, Yan GO, Bee CJ, Chu YK, Rayappan TA. The oxidative stress of hyperglycemia and the inflammatory process in endothelial cells. J Med Invest 2009; 56(1,2): 6-10.
36. Raizel R, Leite JS, Hypolito TM, Coqueiro AY, Newsholme P, Cruzat VF, et al. Determination of the anti-inflammatory and cytoprotective effects of l-glutamine and l-alanine, or dipeptide, supplementation in rats submitted to resistance exercise. Br J Nutr 2016; 116(3): 470-479.
37. Gunduz E, Ulger BV, Ibiloglu I, Ekinci A, Dursun R, Zengin Y, et al. Glutamine provides effective protection against deltamethrin-induced acute hepatotoxicity in rats but not against nephrotoxicity. Med Sci Monit 2015; 21: 1107-1114.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-01]