

Effect of Experimental Diabetes Mellitus on some Biochemical Parameters and Histopathological Changes in Pancreas, Liver, Kidney, and Lung in Ovariectomized Rats

Abdul Rasul Namjoo¹,
Esfandiar Heidarian²,
Mahmoud Rafieian-Kopaei³,
Mehrdad Safarian⁴

¹ Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

² Professor, Department of Biochemistry, Clinical Biochemistry Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

³ Professor, Medical Plants Research Center, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran

⁴ Doctor Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

(Received December 30, 2015 ; Accepted February 8, 2016)

Abstract

Background and purpose: Menopause is a physiological process and diabetes is a metabolic disease that occurs more frequently in older women. The present study investigated the effects of diabetes on some biochemical parameters and histopathological changes in ovariectomized rats.

Materials and methods: Thirty two adult female rats were divided into four groups of 8 and studied for 55 weeks. The animals were assigned into a control group, an ovariectomized group (55 weeks), a third group in which diabetes was induced in the last 5 weeks of the study in rats with intact ovary. The next group included ovariectomized rats (for 55 weeks) in which diabetes was induced in the last 5 weeks of the study. Pathological alterations of liver, kidney, pancreas, lung and some serum biochemical parameters were determined in each group at the end of the study.

Results: Diabetic and diabetic ovariectomized rats showed increase in serum levels of blood glucose, AST, ALT, GGT, ALP, calcium, urea, TG and HDL compared with the control group ($P < 0.05$). Increased serum levels of LDH, TG, cholesterol, HDL, LDL were seen in ovariectomized rats compared with the control group ($P < 0.05$). Pathological examinations revealed changes in all groups except in the control group.

Conclusion: Our findings suggest that long term reduction of estrogen in ovariectomized diabetic rats can reduce the serum levels of glucose, AST, ALT, GGT, urea, VLDL and triglycerides compared with non ovariectomized diabetic rats.

Keywords: diabetes, menopause, ovariectomy, rats

اثرات دیابت قندی تجربی بر تعدادی از پارامترهای بیوشیمیایی و تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس، کبد، کلیه و ریه در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده

عبدالرسول نامجو^۱اسفندیار حیدریان^۲محمود رفیع‌یان کوپایی^۳مهرداد صفریان^۴

چکیده

سابقه و هدف: یائسگی یک فرآیند فیزیولوژیک و دیابت یک بیماری متابولیک است که در خانم‌های مسن به فراوانی اتفاق می‌افتد. در این مطالعه اثرات دیابت بر برخی از پارامترهای بیوشیمیایی و تغییرات هیستوپاتولوژیک در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی - مداخله‌ای ۳۲ سر موش صحرایی ماده بالغ به چهار گروه ۸ تایی تقسیم و به مدت ۵۵ هفته بررسی شدند. گروه اول شاهد، گروه دوم اواریکتومی (به مدت ۵۵ هفته)، گروه سوم دیابتی القا شده در ۵ هفته آخر مطالعه در موش‌های دارای تخمدان و گروه چهارم اواریکتومی (به مدت ۵۵ هفته) و دیابت القا شده در ۵ هفته آخر مطالعه. تغییرات آسیب‌شناسی بافت‌های کبد، کلیه، پانکراس و ریه و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در هر گروه در پایان مطالعه تعیین شدند.

یافته‌ها: موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی شده افزایش گلوکز خون، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، گاماگلوتامیل ترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، کلسیم، اوره، تری گلیسیرید و لیپوپروتئین با دانسیته بالا را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($p < 0.05$). موش‌های صحرایی اواریکتومی شده افزایش لاکتات دهیدروژناز، تری گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته بالا و لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($p < 0.05$). بررسی‌های آسیب‌شناسی تعدادی از تغییرات را در گروه‌های ۲، ۳ و ۴ نشان دادند.

استنتاج: یافته‌ها نشان داد کاهش طولانی مدت استروژن در موش‌های اواریکتومی شده دیابتی می‌تواند تغییرات سودمندی روی کاهش سطوح سرمی گلوکز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینو ترانسفراز، گاماگلوتامیل ترانسفراز، اوره، لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین و تری گلیسیرید نسبت به موش‌های صحرایی غیراواریکتومی دیابتی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، یائسگی، اواریکتومی، موش صحرایی

مقدمه

دیابت ملیتوس یکی از بیماری‌های متابولیک در انسان و حیوانات است که به علت کاهش ترشح انسولین پیشرفت تدریجی مقاومت به انسولین موجب افزایش قند

E-mail: ar.namjo72@gmail.com

مؤلف مسئول: عبدالرسول نامجو - شهر کرد: دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد، دانشکده دامپزشکی

۱. دانشیار، گروه پاتولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد، شهر کرد، ایران

۲. استاد، گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران

۳. استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، شهر کرد، ایران

۴. دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهر کرد، شهر کرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۰/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۴/۱۰/۱۴ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱۲/۱۹

خون (۲،۱) و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین‌ها می‌شود (۴،۳). استروژن مهم‌ترین تنظیم‌کننده فرآیندهای متابولیک از جمله متابولیسم گلوکز، وزن بدن، توزیع بافت چربی، جذب چربی و مصرف انرژی در خانم‌ها و آقایان می‌باشد (۵). مطالعات نشان داده حذف تخمدان در موش‌های صحرایی می‌تواند باعث افزایش سطح استرس اکسیداتیو و شتاب فرآیند پیری در بافت‌های مختلف شود (۵). استروژن و سیگنال‌های استروژن از مهم‌ترین تنظیم‌کننده‌های گلوکز خون هستند و در حفظ حساسیت به انسولین نقش دارند. نوسانات سطح استروژن در کم‌تر از دامنه فیزیولوژیک به عنوان نتیجه یائسگی یا اواریکتومی ممکن است مقاومت به انسولین و دیابت نوع دوم را تسهیل کند (۶). اخیراً گزارش شده گیرنده‌های استروژن آلفا و بتا انتقال گلوکز توسط انتقال‌دهنده گلوکز ۴ (GLUT4) را تنظیم نموده و موجب حساسیت بافت به انسولین می‌شوند (۱). هم‌چنین کاهش کوتاه مدت استروژن در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده موجب تغییر در سطح انسولین در گردش و حساسیت گیرنده‌های انسولین می‌شود و این اختلال در هموستاز گلوکز بعد از هشت هفته اواریکتومی در موش‌های صحرایی با تغییرات معنی‌دار در پروفایل‌های چربی هم‌چون افزایش در سطح کلسترولی سرم، تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین و اسیدهای چرب غیر استریفیه و کاهش معنی‌دار در لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا همراه بود (۷). اما به درستی مشخص نیست مصرف استروژن بعد از یائسگی روی متابولیسم کربوهیدرات‌ها چه تاثیری دارد (۸).

نقش هورمون‌های تخمدان در متابولیسم گلوکز و حساسیت به انسولین به خوبی مشخص نیست (۹). با این حال در یک مطالعه کاهش حساسیت به انسولین در اواسط فاز لوتئال در مقایسه با اواسط فاز فولیکولار سیکل قاعدگی و در طول دوره آبستنی طبیعی گزارش شده است (۱۰). مصرف کوتاه مدت هورمون‌های جایگزین استروژن در خانم‌های مبتلا به دیابت بعد از

یائسگی موجب بهبود سطح هموگلوبین گلیکوزیله شد (۱۱) اما مطالعات Ferrara و همکاران تفاوتی را بین سطح هموگلوبین گلیکوزیله در خانم دیابتی تحت درمان با استروژن نسبت به خانم‌های درمان نشده را نشان نداد (۱۲).

هم‌چنین مطالعات Godsland و همکاران نشان داد که استروژن روی سطح گلوکز ناشتا، سطح انسولین و افزایش حساسیت به انسولین در خانم‌ها بعد از یائسگی تغییری ایجاد نمی‌کند (۱۳). در مطالعه‌ای مشخص شد که مصرف طولانی مدت استروژن در خانم‌های یائسه ممکن است موجب افزایش خطر ابتلاء به دیابت نوع دوم شود (۸). مطالعات Okada و همکاران نشان داد که سطح هموگلوبین گلیکوزیله در خانم‌های یائسه تحت درمان با هورمون‌های جایگزین در مقایسه با خانم‌هایی که از هورمون‌تراپی جایگزین استفاده نکرده‌اند، تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (۱۴). با توجه به تغییر در شیوه زندگی، کم‌حرکی، تغذیه، ژنتیک و غیره ابتلا به دیابت در افراد جامعه افزایش یافته و در خانم‌ها با افزایش سن علاوه بر وقوع یائسگی، دیابت نیز ممکن است حادث شود. علی‌رغم واقعیت ذکر شده تحقیقات ناچیزی روی اثر دیابت بر قندخون، پروفایل‌های چربی، شاخص‌های آنزیمی کبد و کلیه در حالت منوپوز طولانی مدت صورت گرفته است. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تعیین اثر دیابت تجربی القاء شده بر قندخون، پروفایل‌های چربی، شاخص‌های آنزیمی کبد، کلیه و تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس، کبد و کلیه در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده با کاهش طولانی مدت استروژن بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی - مداخله‌ای روی ۳۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با دامنه سنی ۱۲ تا ۱۴ هفته و میانگین وزنی 20 ± 200 گرم و در مدت ۵۵ هفته انجام شد. موش‌های صحرایی از لانه حیوانات مرکز تحقیقاتی

انستیتو پاستور خریداری و در مرکز تحقیقات آسیب شناسی بیمارستان دامپزشکی دانشگاه آزاد شهر کرد در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد، رطوبت ۶۰ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد در قفس های پلی کربنات نگهداری شدند. تمام روش های کار آزمایشگاهی به کار رفته در این مطالعه توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد تایید و تمام اصول اخلاقی در ارتباط با حیوانات آزمایش شونده در طول این مطالعه رعایت شد. جهت حصول سازش با شرایط محیط جدید، تمامی آزمایش ها پس از گذشت حداقل دو هفته از استقرار موش های صحرایی انجام شد (۱۵).

گروه های مورد مطالعه، اواریکتومی و القاء دیابت در موش های صحرایی

موش های صحرایی ماده در ۴ گروه هشت تایی به صورت تصادفی تقسیم شدند (۱۶). سپس موش های صحرایی ماده قبل از جراحی با ترکیبی از داروهای کتامین و زایلازین به ترتیب با دوز ۸۰ و ۷ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل عضلانی بیهوش و پس از تراشیدن موهای سطح پشتی کمر و تمیز کردن با اتانول برشی به طول ۲۰ میلی متر بر پوست ایجاد و با برش های مورب به طول ۵ میلی متر روی عضلات ناحیه تهیگاهی چپ و راست عمل جراحی حذف تخمدان ها به روش صادقی و همکاران انجام شد (۱۷). جهت ایجاد دیابت تجربی در موش های صحرایی اواریکتومی و غیر اواریکتومی، تزریق زیر جلدی یک نوبت آلوکسان (Sigma Aldrich، ساخت کشور آلمان) به مقدار ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در محلول سرم فیزیولوژی انجام شد. برای نتیجه گیری بهتر و مقابله با اثر رقابتی گلوکز با آلوکسان که ممکن بود مانع اثر قطعی دارو روی سلول های بتای پانکراس شود، تزریق مورد نظر در هریک از موش های صحرایی در ساعت ۸ صبح و در حالت ناشتا انجام گرفت. پس از

گذشت ۷۲ ساعت از تزریق آلوکسان، از ورید دمی هر یک از موش های صحرایی نمونه خون گرفته شد و با استفاده از دستگاه گلوکوکارد ساخت کشور ژاپن سطح گلوکز خون آن ها اندازه گیری و قند خون بالای ۲۰۰ میلی گرم بر دسی لیتر، ملاک دیابتی شدن آن ها بود (۱۸). گروه اول: گروه شاهد جراحی (شم)، چربی های اطراف تخمدان و تخمدان به خارج هدایت شد و مجدداً به محل خود باز گردانده شد و پوست ناحیه سطح پشتی کمر با نخ غیر قابل جذب بخیه زده شد (۱۷) و به مدت ۵۵ هفته در شرایط استاندارد نگهداری شدند.

گروه دوم: گروه اواریکتومی که پس از جراحی و حذف تخمدان به مدت ۵۵ هفته نگهداری شدند.

گروه سوم: گروه موش های صحرایی دارای تخمدان که به مدت ۵۵ هفته نگهداری و در ۵ هفته پایانی دوره مطالعه با آلوکسان دیابتی شدند.

گروه چهارم: گروه اواریکتومی و در ۵ هفته پایانی دوره مطالعه با تزریق آلوکسان دیابتی و در شرایط استاندارد نگهداری شدند.

تعیین آنزیم های سرم

در پایان هفته ۵۵ موش ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی در حالی که به آب دسترسی داشتند با کلروفرم بیهوش و پس از باز کردن حفره صدری، خون گیری از قلب انجام شد. خون در داخل لوله های فاقد ماده ضد انعقاد جمع آوری و سرم توسط سانتریفوژ H-11N ساخت شرکت KOKUSAN کشور ژاپن با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه جدا شد. سنجش سرمی قند خون، آنزیم های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)، کراتینین، اوره، کراتین- فسفوکیناز (CPK)، لاکتات- دهیدروژناز (LDH) توسط دستگاه اتوآنالایزر مدل BT-3000 ساخت شرکت بیوتکنیکا کشور ایتالیا با استفاده از کیت های پارس آزمون انجام گرفت. غلظت سرمی تری گلیسیرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین های با دانسیته بالا، لیپوپروتئین های با دانسیته

پایین با استفاده از کیت‌های شناساگر (پارس آزمون، ایران) و بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. هم‌چنین مقدار لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین (VLDL) با استفاده از فرمول Friedewald (۱۹) و شاخص آتروژنیک پلاسما، خطر قلبی و ضریب آتروژنیک به روش زیر تعیین شدند (۲۰).

$$VLDL = \text{Triglycerides} / 5$$

$$\text{Atherogenic index} = [\text{Log}(\text{TG} / \text{HDL cholesterol})]$$

$$\text{خطر قلبی} = [\text{Total cholesterol}] / [\text{HDL cholesterol}]$$

$$\text{Atherogenic coefficient} = [\text{Total cholesterol}] - [\text{HDL cholesterol}] / [\text{HDL cholesterol}]$$

برای مطالعه تغییرات بافتی، بلافاصله بعد از خونگیری، بافت‌ها به منظور تثبیت درون فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار گرفتند و مطابق روش‌های معمول بافت‌شناسی بلوک‌های پارافینی تهیه گردید و با میکروتوم، برش‌های با ضخامت ۵ میکرون بریده شدند و به روش رایج هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند (۱۵).

روش آماری

بر اساس اطلاعات جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۰ میانگین و انحراف معیار محاسبه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه انجام گردید و در صورت وجود تفاوت معنی‌دار، اختلاف بین گروه‌های تحت مطالعه با استفاده از آزمون توکی در سطح معنی‌دار $p < 0.05$ مقایسه شدند.

یافته‌ها

مقدار گلوکز خون در موش‌های صحرایی ماده دیابتی به طور معنی‌داری بیش از موش‌های صحرایی اواریکتومی دیابتی بود ($p = 0.008$) (جدول شماره ۱). فعالیت سرمی آسپارات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و گاما گلوتامیل ترانسفراز به ترتیب در موش‌های صحرایی ماده دیابتی نسبت به موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی افزایش یافته بود ($p = 0.05$)، ($p = 0.01$)،

($p = 0.05$) (جدول شماره ۱). هم‌چنین فعالیت سرمی آلانین آمینوترانسفراز در موش‌های صحرایی ماده دیابتی نسبت به موش‌های صحرایی اواریکتومی شده افزایش یافته بود ($p = 0.036$) (جدول شماره ۱). مقدار آلبومین سرم در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی و دیابتی کم‌تر از موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی بود ($p = 0.05$). آنزیم آلکالین فسفاتاز در موش‌های صحرایی ماده دیابتی و موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی به ترتیب افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد جراحی نشان داد ($p = 0.001$)، ($p = 0.027$). آنزیم لاکتات دهیدروژناز در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده و اواریکتومی شده دیابتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد جراحی ($p = 0.001$) و گروه موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد ($p = 0.04$) (جدول شماره ۱). آنزیم کراتین فسفوکیناز در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی بیش از گروه شاهد جراحی بود ($p = 0.001$) (جدول شماره ۱). نسبت درصد وزن کبد به وزن بدن در موش‌های اواریکتومی شده کاهش معنی‌دار را نسبت به گروه شاهد جراحی نشان داد ($p = 0.026$). هم‌چنین نسبت درصد وزن کبد به وزن بدن در گروه موش‌های صحرایی دیابتی و دیابتی اواریکتومی شده بیش از گروه موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بود ($p = 0.05$) (جدول شماره ۱). مقدار کلسیم سرم در گروه موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به موش‌های صحرایی اواریکتومی شده داشت ($p = 0.000$)، اما نسبت به گروه شاهد جراحی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($p = 0.828$). هم‌چنین مقدار کلسیم سرمی در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شم جراحی نشان داد ($p = 0.000$) (جدول شماره ۱). میزان فسفر سرم در گروه اواریکتومی، اواریکتومی دیابتی و دیابتی نسبت به گروه شاهد جراحی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان ندادند ($p > 0.1$) (جدول شماره ۱). وزن بدن در موش‌های صحرایی

اواریکتومی شده بیش از موش های صحرایی شاهد جراحی، موش های صحرایی دیابتی و موش های صحرایی اواریکتومی دیابتی بود ($p = 0/002$) (جدول شماره ۱). غلظت سرمی اوره در موش های صحرایی ماده دیابتی بیش تر از گروه شاهد جراحی و موش های صحرایی اواریکتومی شده غیر دیابتی بود ($p = 0/003$) (جدول شماره ۲). غلظت سرمی کراتینین در موش های صحرایی گروه های تجربی نسبت به گروه شاهد جراحی اختلاف آماری معنی داری را نشان ندادند ($p > 0/1$) (جدول شماره ۲). نسبت درصد وزن کلیه ها به وزن بدن در موش های ماده دیابتی بیش از گروه شاهد جراحی بود ($p = 0/022$)، هم چنین میانگین نسبت درصد وزن کلیه به وزن بدن در موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی نسبت به گروه اواریکتومی شده افزایش معنی داری را نشان داد ($p = 0/001$) (جدول شماره ۲). مقدار تری گلیسیرید سرم در موش های صحرایی

اواریکتومی و موش های صحرایی دیابتی به ترتیب افزایش معنی داری را نسبت به گروه موش های صحرایی شاهد جراحی نشان دادند ($p = 0/007$)، ($p = 0/000$). هم چنین مقدار تری گلیسیرید در موش های صحرایی ماده دیابتی شده بیش از گروه اواریکتومی شده بود ($p = 0/002$) اما مقدار تری گلیسیرید در موش های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی به طور معنی داری کم تر از موش های صحرایی دیابتی بود ($p = 0/000$) (جدول شماره ۳). مقدار کلسترول سرم در موش های صحرایی اواریکتومی شده به طور معنی داری بیش از گروه شاهد جراحی بود ($p = 0/032$) (جدول شماره ۳). مقدار لیپوپروتئین با دانسیته بالا در گروه موش های صحرایی اواریکتومی شده نسبت به گروه شاهد جراحی افزایش معنی داری را نشان داد ($p = 0/016$) (جدول شماره ۳). مقدار لیپوپروتئین با دانسیته پایین در موش های صحرایی اواریکتومی و موش های صحرایی اواریکتومی شده

جدول شماره ۱: مقایسه تغییرات بیوشیمیایی گلوکز، آنزیم های سرمی، آلبومین، کلسیم، فسفر و نسبت وزن کبد به وزن بدن در گروه های تحت مطالعه

گروه ها	کنترل	موش صحرایی اواریکتومی شده	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی	سطح معنی داری
گلوکز (mg/dl)	$164/33 \pm 16^c$	$159/00 \pm 11/19^{cd}$	$187 \pm 28/09^{***ab}$	$691 \pm 53/27^{***ab}$	0/000
آسپارات آمینو ترانسفراز (u/L)	$133/66 \pm 11/53^{ab}$	$159/33 \pm 14/65^{ab}$	$282/25 \pm 66/145^{**}$	$204/40 \pm 49/85^b$	0/037
آلانین آمینو ترانسفراز (u/L)	$67/33 \pm 5/74^{ab}$	$84/166 \pm 11/54^{ab}$	$170/250 \pm 217/142^{**}$	$114/60 \pm 26/83^{ab}$	0/007
آسپارات آمینو ترانسفراز آلانین آمینو ترانسفراز (وزن کبد $100 \times$)	$2/33 \pm 0/27^{ab}$	$2/08 \pm 0/26^{ab}$	$4/94 \pm 0/5^b$	$1/86 \pm 0/18^{ab}$	0/155
گاما گلوبتایل ترانسفراز (u/L)	$4/20 \pm 0/34^{ab}$	$3/025 \pm 0/18^{ab}$	$4/65 \pm 0/18^{ab}$	$3/93 \pm 0/18^{ab}$	0/002
آلبومین (g/dl)	$2/275 \pm 0/59^{ab}$	$3/588 \pm 1/25^{ab}$	$7/827 \pm 1/60^{**}$	$4/92 \pm 0/97^{ab}$	0/078
آلکالین فسفاتاز (u/L)	$4/35 \pm 0/18^{ab}$	$4/683 \pm 0/119^{ab}$	$3/550 \pm 0/25^b$	$3/780 \pm 0/44^{ab}$	0/032
لاکتات دهیدروژناز (u/L)	$60/50 \pm 115/39^{ab}$	$60/666 \pm 84/419^{ab}$	$1767/00 \pm 299/63^{***}$	$1348 \pm 156/48^{**}$	0/000
کراتین فسفو کیناز (u/L)	$1455/00 \pm 219/27^{ab}$	$290/2/166 \pm 198/750^{***}$	$1905/250 \pm 92/49^{ab}$	$296/600 \pm 249/18^{***}$	0/000
کلسیم (mg/dl)	$560/833 \pm 62/29^{ab}$	$640/500 \pm 78/81^{ab}$	$805/750 \pm 72/69^{ab}$	$1247/50 \pm 233/5^{***}$	0/008
فسفر (mg/dl)	$12/700 \pm 372^{ab}$	$13/166 \pm 0/147^{ab}$	$9/675 \pm 0/57^{ab}$	$9/660 \pm 0/40^{***}$	0/000
نسبت وزن کبد به وزن بدن (g)	$6/133 \pm 0/59^{ab}$	$6/950 \pm 0/63^{ab}$	$6/575 \pm 0/20^{ab}$	$6/880 \pm 0/57^{ab}$	0/714
	$184/29 \pm 8/48^{ab}$	$255/82 \pm 8/89^{ab}$	$181/75 \pm 7/44^{ab}$	$192/125 \pm 18/33^{ab}$	0/000

مقادیر به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین می باشند. تعداد نمونه های هر گروه ۶ سر موش است، حروف غیر مشابه (a,b,c) در هر سطر جدول نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد ($p < 0/05$)

***اختلاف آماری معنی دار ($p < 0/0001$) در مقایسه با گروه کنترل.

**اختلاف آماری معنی دار ($p < 0/001$) در مقایسه با گروه کنترل.

جدول شماره ۲: مقایسه تغییرات سرمی اوره، کراتینین و میانگین وزنی کلیه در گروه های تحت مطالعه

گروه ها	کنترل	موش صحرایی ماده اواریکتومی شده	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی ماده اواریکتومی شده و دیابتی	سطح معنی داری
اوره (mg/dl)	$67/500 \pm 3/138^c$	$66/83 \pm 2/959^c$	$224/00 \pm 58/20^{***}$	$145/600 \pm 16/154^b$	0/001
کراتینین (mg/dl)	$0/859 \pm 0/128^a$	$1/083 \pm 0/116^a$	$1/100 \pm 0/108^a$	$0/960 \pm 0/081^a$	0/248
میانگین وزن کلیه $100 \times$ وزن بدن	$0/749 \pm 0/018^a$	$0/614 \pm 0/033^{ab}$	$1/065 \pm 0/077^{**}$	$0/922 \pm 0/019^a$	0/300

مقادیر به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین می باشند. تعداد نمونه های هر گروه ۶ سر موش است، حروف غیر مشابه (a,b,c) در هر سطر جدول نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد ($p < 0/05$)

**اختلاف آماری معنی دار ($p < 0/01$) در مقایسه با گروه کنترل.

دیابتی نسبت به گروه شاهد جراحی افزایش معنی داری را نشان داد ($p=0/01$) (جدول شماره ۳). لیپوپروتئین های با دانسیته بسیار پایین در موش های صحرایی دیابتی شده افزایش معنی داری را نسبت به موش های صحرایی اواریکتومی شده ($p=0/002$) و موش های صحرایی گروه شاهد جراحی نشان داد ($p=0/000$). هم چنین لیپوپروتئین های با دانسیته بسیار پایین در موش های صحرایی اواریکتومی شده به طور معنی داری بیش از گروه شاهد جراحی بود ($p=0/007$) (جدول شماره ۳). نسبت تری گلیسرید به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا در موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی بیش از گروه شاهد جراحی بود ($p=0/01$) (جدول شماره ۴). نسبت لیپوپروتئین های با دانسیته بالا به لیپوپروتئین های با دانسیته پایین در گروه اواریکتومی شده دیابتی به طور معنی داری کم تر از گروه شاهد جراحی بود ($p=0/02$). هم چنین نسبت این دو پروفایل در گروه اواریکتومی شده دیابتی به طور معنی داری کم تر از موش های صحرایی اواریکتومی شده بود

($p=0/004$) (جدول شماره ۴). نسبت کلسترول به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا در موش های صحرایی اواریکتومی شده کم تر از گروه شاهد جراحی بود ($p=0/021$). هم چنین این نسبت در موش های صحرایی دیابتی شده بیش از موش های صحرایی اواریکتومی شده بود ($p=0/022$). نسبت کلسترول به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا در موش های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی بیش از موش های صحرایی اواریکتومی شده بود ($p=0/029$) (جدول شماره ۴). محاسبه شاخص آتروژنیک پلاسما در موش های صحرایی ماده دیابتی به طور معنی داری بیش از سایر گروه ها بود ($p=0/00$) (جدول شماره ۴).

مطالعات میکروسکوپی بافت پانکراس گروه کنترل ساختار طبیعی سلول های بتای جزایر لانگرهانس را نشان داد. القاء دیابت با آلوکسان در موش های صحرایی باعث آسیب شدید به سلول های بتا و کاهش تعداد جزایر لانگرهانس و مرگ سلولی شده بود (تصویر شماره ۱).

جدول شماره ۳: مقایسه پروفایل های چربی در گروه های تحت مطالعه

گروه ها	کنترل	موش صحرایی اواریکتومی	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی اواریکتومی و دیابتی	سطح معنی داری
پارامترهای بیوشیمیایی					
تری گلیسرید (mg/dl)	$42/83 \pm 3/33^c$	$104/50 \pm 9/70^{ab***}$	$182/25 \pm 24/29^{ab***}$	$84/00 \pm 7/46^{ab}$	0/000
کلسترول (mg/dl)	$53/66 \pm 5/68^{ab}$	$84/33 \pm 5/59^{ab}$	$63/75 \pm 4/59^{ab}$	$69/60 \pm 8/58^{ab}$	0/053
HDL کلسترول (mg/dl)	$42/43 \pm 7/68^{ab}$	$87/30 \pm 12/10^{ab}$	$46/77 \pm 6/14^{ab}$	$51/42 \pm 6/48^{ab}$	0/008
LDL کلسترول (mg/dl)	$19/83 \pm 2/24^{ab}$	$37/31 \pm 4/26^{ab}$	$25/27 \pm 1/40^{ab}$	$36/79 \pm 5/71^{ab}$	0/027
VLDL (mg/dl)	$8/56 \pm 0/66^{ab}$	$20/91 \pm 1/94^{ab}$	$36/45 \pm 4/85^{ab}$	$16/81 \pm 1/49^{ab}$	0/000

مقادیر به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین می باشند. تعداد نمونه های هر گروه ۶ سر موش است، حروف غیرمشابه (a,b,c) در هر سطر جدول نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد ($p < 0/05$)

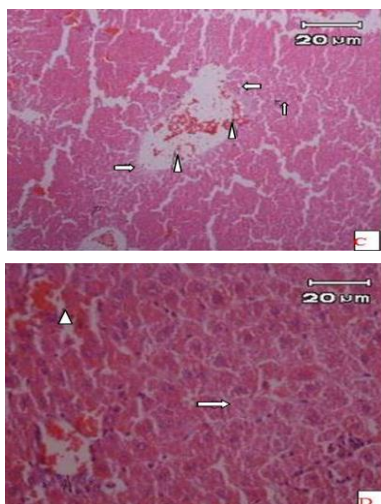
*** اختلاف آماری معنی دار ($p < 0/0001$) در مقایسه با گروه کنترل.

** اختلاف آماری معنی دار ($p < 0/01$) در مقایسه با گروه کنترل.

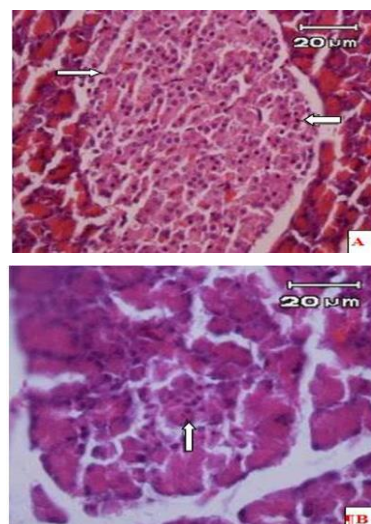
جدول شماره ۴: مقایسه شاخص های آتروژنیک در گروه های مختلف تحت مطالعه

گروه ها	کنترل	موش صحرایی اواریکتومی	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی اواریکتومی و دیابتی	سطح معنی داری
پارامترهای بیوشیمیایی					
TG/HDL	$1/186 \pm 0/10^{ab}$	$1/259 \pm 0/13^{ab}$	$3/947 \pm 0/359^{ab***}$	$1/455 \pm 0/13^{ab}$	0/000
HDL/LDL	$2/338 \pm 0/192^{ab}$	$2/320 \pm 0/128^{ab}$	$1/887 \pm 0/312^{ab}$	$1/430 \pm 0/095^{ab}$	0/004
HDL / کلسترول	$1/361 \pm 0/113^{ab}$	$0/969 \pm 0/036^{ab}$	$1/406 \pm 0/110^{ab}$	$1/362 \pm 0/048^{ab}$	0/004
ضریب Atherogenic	$0/235 \pm 0/106^{ab}$	$0/050 \pm 0/067^{ab}$	$0/407 \pm 0/112^{ab}$	$0/358 \pm 0/047^{ab}$	0/011
شاخص Atherogenic پلاسما	$0/033 \pm 0/020^{ab}$	$0/088 \pm 0/044^{ab}$	$0/59 \pm 0/04^{ab}$	$0/22 \pm 0/023^{ab}$	0/000

مقادیر به صورت انحراف معیار $\pm$ میانگین می باشند. تعداد نمونه های هر گروه ۶ سر موش است، حروف غیرمشابه (a,b,c) در هر سطر جدول نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵ درصد می باشد ($p < 0/05$).



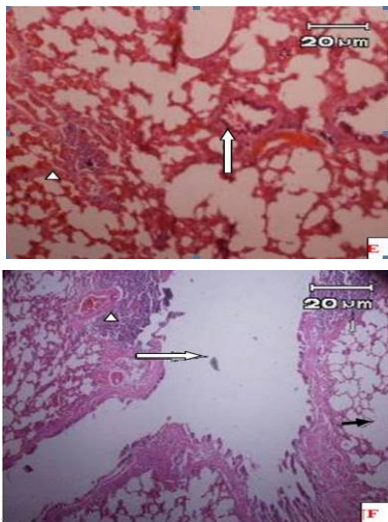
تصویر شماره ۲: (C) بافت کبد در موش های صحرایی دیابتی شده، اتساع سیاهرگ مرکزی کبد (سریکان)، دژنه شدن سلول های کبدی اطراف سیاهرگ مرکز کبدی (پیکان)، اتساع سینوزوئیدهای کبد (پیکان باریک) (D). (H&E $\times 100$). (D) بافت کبد در موش صحرایی اواریکتومی شده، تغییرات سینوپلاسم در سلول های کبد و ناپدید شدن هسته (پیکان) و آسیب به سلول های آندوتلیال عروق (سریکان) (H&E $\times 400$)



تصویر شماره ۱: (A) بافت پانکراس موش های صحرایی گروه کنترل. ساختار جزایر لانگرهانس طبیعی (پیکان) (H&E $\times 400$). (B) بافت پانکراس موش های صحرایی گروه دیابتی دارای تخمدان. نکروز جزایر لانگرهانس (پیکان) (H&E $\times 400$).

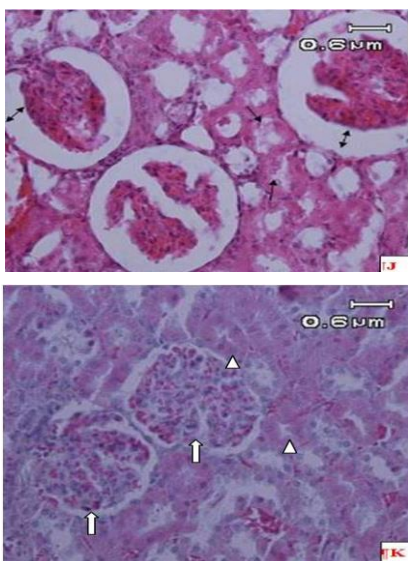
بافت پانکراس در گروه اواریکتومی تغییرات پاتولوژیک خاصی را نشان نداد. در ارزیابی میکروسکوپی بافت کبد در گروه کنترل در مرکز هر لبول سیاهرگ مرکز لبولی و سلول ها به صورت شعاعی و بین آنها سینوزوئیدها قرار گرفته بود. در ناحیه پورتال شاخه هایی از آرتریول کبد، ورید پورتال، مجاری صفراوی و بافت همبند وجود داشتند که توسط هیاتوسیت ها احاطه شده بودند. سینوپلاسم سلول های کبد با اتوزین به رنگ صورتی رنگ گرفته بود و برخی از سلول های کبد دارای دو هسته و هسته ها دارای بیش از دو هستک بودند. در بافت کبد گروه موش های صحرایی دیابتی اتساع سیاهرگ مرکزی کبد، دژنه شدن سلول های کبدی به صورت نامنظم در اطراف سیاهرگ مرکز کبدی، اتساع سینوزوئیدهای کبد و آسیب به سلول های آندوتلیال سیاهرگ مرکز کبدی مشاهده شد. بافت کبد موش های صحرایی اواریکتومی شده، تغییرات سینوپلاسم در سلول های کبد و هیپرکروم شدن هسته تا ناپدید شدن هسته سلول های نزدیک ورید مرکزی کبد و آسیب به سلول های آندوتلیال عروق را نشان دادند (تصویر شماره ۲).

در بافت کبد موش های صحرایی اواریکتومی و دیابتی آسیب کبد نسبت به سایر گروه ها شدیدتر بود به طوری که هیپرکروم و متراکم شدن هسته و اتوزینوفیلیک شدن سینوپلاسم و برهم خوردن نظم سلول های کبد و اتساع سینوزوئیدها، کانون های نکروتیک و افزایش مجاری صفراوی در ناحیه پورتال و نفوذ سلول های آماسی در اطراف مجاری صفراوی مشاهده شد (تصویر شماره ۳). قسمت های مختلف بافت ریه گروه کنترل هم چون برونشیول ها، مجاری آلوئول ها و کیسه های آلوئولی در ظاهر طبیعی بودند و آلوئول ها و اجزاء مرتبط هم چون دیواره آلوئول، اپی تلیوم، کیسه هوایی و تیغه بین آلوئولی هیچ تغییر غیرطبیعی را نشان ندادند. پنوموسیت های تیپ یک از اپی تلیوم سنگفرشی با سینوپلاسم بسیار نازک تشکیل شده بود. پنوموسیت تیپ ۲ که در بین پنوموسیت های تیپ یک قرار داشت به شکل مکعبی و سینوپلاسم گرانولار با هسته مدور مرکزی مشاهده شد. در ریه موش های صحرایی دیابتی وضعیت غیرطبیعی پارانشیم ریه



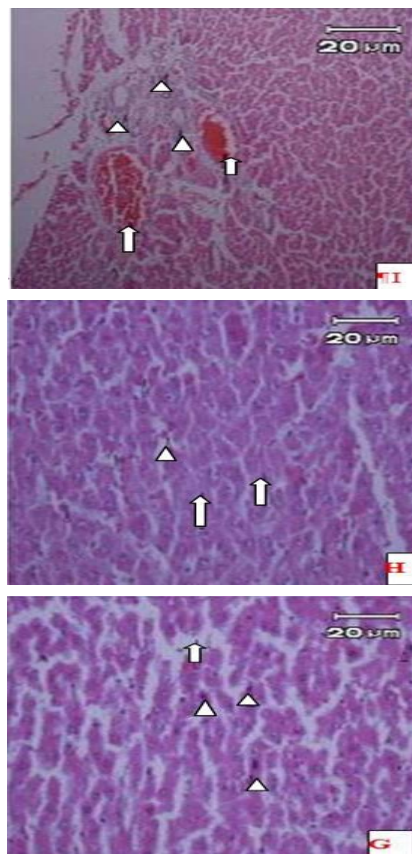
تصویر شماره ۴: (E) ریه موش های صحرایی ماده اواریکتومی شده، افزایش سلول های آماسی تک هسته ای و بافت فیروز در اطراف مجاری هوایی (پیکان) و افزایش ضخامت دیواره آلئول های پارانشیم ریه (F). (H&E×۱۰۰). (F) پارانشیم ریه در موش های صحرایی ماده دیابتی شده، اتساع برنش (پیکان)، هیپرپلازی سلول های تک هسته ای اطراف برنش (سریکان) و اتساع غیرطبیعی آلئول ها (پیکان) (H&E×۴۰).

ساختارهای کلیه شامل کلافه گلومرولو توبول های کلیه در گروه کنترل طبیعی اما کلیه گروه اواریکتومی و دیابتی، افزایش فضای ادراری و دژنراسیون و نکروز توبول های کلیه را نشان داد (تصویر شماره ۵).



تصویر شماره ۵: (J) کلیه گروه اواریکتومی و دیابتی، افزایش فضای ادراری در اطراف گلومرول (پیکان دو سر) و نکروز توبول های کلیه (سریکان) (H&E×۴۰).

مشاهده شد و تغییراتی هم چون هیپرپلازی برونشیول، تخریب دیواره آلئول ها، حضور فیروز در برخی نواحی ریه، کاهش فضای آلئول و پاره شدن تیغه بین آلئولی مشاهده شد. ریه موش های صحرایی اواریکتومی شده تمام وضعیت های غیر طبیعی شبیه گروه دیابتیک و افزایش ضخامت بافت فیروز و حضور سلول های آماسی تک هسته ای بین دیواره آلئولی را نشان دادند. در موش های صحرایی اواریکتومی دیابتی تغییرات شبیه موش های صحرایی اواریکتومی شده بود (تصویر شماره ۴).



تصویر شماره ۳: (G) بافت کبد در موش صحرایی ماده اواریکتومی شده و دیابتی، هیپرکروم و متراکم شدن هسته و اتوزینوفیلیک شدن سیتوپلاسم (سریکان) و برهم خوردن نظم سلول های کبد و اتساع سینوزوئیدها (پیکان) (H&E×۴۰). (H) بافت کبد در موش صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی، اتساع سینوزوئیدها (سریکان) و دژنره و نکروز شدن سلول های کبد (پیکان) (H&E×۴۰). (I) بافت کبد در موش صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی، افزایش مجاری صفراوی در ناحیه پورتال و نفوذ سلول های آماسی در اطراف مجاری صفراوی (سریکان) و پرخونی عروق سیاهرگی (پیکان) (H&E×۱۰۰).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بعد از تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات با دوز ۱۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش های صحرایی تحت مطالعه باعث القاء دیابت وافزایش قندخون شد که تا پایان دوره مطالعه این افزایش قندخون وجود داشت. هم چنین قندخون موش های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی به طور معنی داری پایین تر از قندخون موش های صحرایی ماده دیابتی بود. با این حال عدم وجود تخمدان در موش های صحرایی ماده دیابتی موجب افزایش قندخون نسبت به گروه دیابتی دارای تخمدان نشده بود. مطالعات تجربی نشان داده اند که اواریکتومی روی سطح گلوکز در موش های صحرایی دیابتی القاء شده با استرپتوزوتوسین اثر ندارد و اواریکتومی به سختی روی متابولیسم گلوکز تاثیر گذار است (۲۱،۷) و اواریکتومی نمودن موش های صحرایی دیابتی باعث تشدید مقاومت به انسولین می شود (۷). مقاومت به انسولین شرایطی است که در آن سلول های بدن پاسخ مناسبی به انسولین نمی دهند و به دنبال آن جذب گلوکز دچار اختلال شده و به طور ثانویه باعث افزایش قندخون می شود (۲۲). با این حال مکانیسم سلولی مشخصی در پشت پرده حالت مقاومت به انسولین و نقش کاهش هورمون های جنسی زنانه به طور کامل روی گلوکز خون شناخته نشده است (۲۳). جذب سریع آلوکسان توسط سلول های ترشح کننده انسولین (سلول های بتای جزایر لانگرهانس پانکراس) و تولید رادیکال های آزاد اکسیژن موجب نکروز جزایر در پانکراس می شود. سلول های بتا نسبت به سایر بافت ها هم چون کبد به رادیکال های آزاد اکسیژن بسیار حساسند و باعث کاهش غلظت انسولین پلاسما می شوند. از این جهت آلوکسان به عنوان یک ترکیب دیابت زا شناخته شده است (۲۴). در موش های صحرایی ماده دیابتی و موش های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی، تخریب و نکروز جزایر لانگرهانس و هم چنین کاهش تعداد جزایر بافت

پانکراس در مقایسه با موش های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی شده مشاهده شد. در موش های صحرایی اواریکتومی شده درصد نسبت وزن کبد به وزن بدن در مقایسه با سایر گروه ها از کاهش معنی داری برخوردار بود. دلیل این کاهش می تواند آسیب های غیر قابل برگشت هم چون نکروز و مرگ برنامه ریزی شده (آپوپتوز) سلول های بافت کبد باشد (۱۸). دلیل دوم می تواند افزایش وزن بدن موش های صحرایی اواریکتومی شده باشد. Musatov و همکاران نشان دادند در موش های صحرایی اواریکتومی شده جذب غذا، وزن بدن و تجمع چربی های داخل شکمی افزایش می یابد که با تجویز استرادیول این وضعیت معکوس می شود و خاموش کردن گیرنده های استرادیول آلفا در نواحی شکمی میانی هیپوتالاموس (ventromedial hypothalamus) موجب پر خوری، چاقی و کاهش تحمل گلوکز و کاهش مصرف انرژی می شود (۲۵) که در مطالعات حاضر از عمده ترین دلایل افزایش وزن بدن موش های صحرایی اواریکتومی شده است. هم چنین کمبود استروژن در خانم ها بعد از یائسگی از دلایل بیش تر شدن چربی های احشائی و مقاومت به انسولین و افزایش خطر بیماری های قلبی - عروقی است (۲۶). استروژن به عنوان یک تنظیم کننده متابولیسم چربی محسوب می شود و در حیوانات اواریکتومی شده تجزیه چربی ها کاهش می یابد (۲۷). هم چنین در مطالعه حاضر تغییر معنی داری در سطح گلوکز موش های صحرایی اواریکتومی شده با کاهش طولانی مدت استروژن نسبت به گروه شاهد جراحی مشاهده نشد که با مطالعه بابائی و همکاران هم خوانی دارد (۲۷). اما با مطالعات Tawfik و همکاران مطابقت نداشت (۷). در مطالعه حاضر تغییر در تعدادی از پروفایل های چربی شامل تری گلیسیرید، لیپوپروتئین های با دانسیته بسیار پایین، لیپوپروتئین های با دانسیته بالا، نسبت تری گلیسیرید به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا، نسبت کلسترول به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا، ضریب آتروژنیک و شاخص آتروژنیک در موش های صحرایی

اواریکتومی شده ملایم تر از موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی دیابتیک بود. تغییرات در برخی از پروفایل های چربی شامل تری گلیسرید، لیپوپروتئین های با دانسیته بسیار پایین، نسبت تری گلیسرید به لیپوپروتئین های با دانسیته بسیار بالا و شاخص آتروژنیک در موش های صحرایی با کاهش طولانی مدت استروژن و دیابتی پایین تر از موش های صحرایی غیراواریکتومی دیابتی بود. ترکیب دو حالت اواریکتومی و القاء دیابت در موش های صحرایی تاثیر معنی داری در وزن موش های صحرایی نسبت به گروه شاهد جراحی ایجاد نکرد. افزایش آنزیم های سرمی آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، گاما گلوتامیل ترانسفراز در موش های صحرایی ماده دیابتی نسبت به گروه شاهد جراحی می تواند به عنوان مارکر اختلال در عملکرد کبدی باشد. نتایج هیستوپاتولوژی نشان داد که در موش های صحرایی دیابتی افزایش قند خون با افزایش دژنراسیون و نکروز هپاتوسیت های کبدی همراه است که این افزایش می تواند به دلیل کاهش فعالیت آنتی اکسیدان های کبدی باشد. به طوری که فعالیت آنزیم سرمی آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه دیابتی اواریکتومی نشده نسبت به گروه های دیگر تحت مطالعه افزایش یافته بود. این یافته با گزارشات دیگر مطابقت دارد به طوری که Chaudhry و همکاران گزارش کردند که آلوکسان از فعالیت آنتی اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) و کاتالاز مانعت کرده و اختلال در عملکرد کبد منجر به نشت این آنزیم ها از سلول های کبدی به جریان خون می شود (۲۸). گاما گلوتامیل ترانسفراز یکی از متابولیت های اصلی آنتی اکسیدان گلوتاتیون است (۲۹). در موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی شده سطح گاما گلوتامیل ترانسفراز بیش از گروه شاهد جراحی بود که می تواند به علت افزایش فعالیت آنتی اکسیدان بافت کبد و متابولیسم این آنتی اکسیدان باشد (۱۸). هم چنین مقدار آلبومین سرم در

موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی کم تر از موش های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی شده بود که با توجه به تغییرات در سیتوپلاسم و هسته سلول های بافت کبد و آسیب به ساختارهای شبکه آندوپلاسمی دانه دار این کاهش آلبومین سرم قابل توجیه است و با مطالعات Nagae و همکاران مطابقت دارد (۳۰). مطالعات نشان دادند مصرف مکمل های استروژن در موش های صحرایی دیابتی اواریکتومی شده به طور معنی داری موجب کاهش مالون دی آلدئید پلاسما شده و ثابت شده که استرادیول به تنهایی ۷۰ درصد از مجموعه آسیب های استرس اکسیداتیو را بلوکه نموده و استروژن بیش از یک هورمون جنسی عمل می کند (۳۱). مطالعات Hernandez و همکاران نشان داد که موش های صحرایی اواریکتومی شده دچار کاهش وضعیت آنتی اکسیدان تام پلاسما، کاهش گروه های تیول و افزایش لیپوپراکسیدهای پلاسما می شوند و با درمان استروژن این وضعیت بهبود می یابد (۳۲). در مطالعه حاضر سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز در موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی به طور معنی داری بیش تر از موش های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی شده بود. مطالعات نشان دادند که افزایش سطح سرمی آلکالین فسفاتاز با اختلالات کبد، استخوان و کلیه همراه است. هم چنین افزایش فعالیت آنزیمی لاکتات دهیدروژناز در موش های صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی نسبت به گروه شم می تواند ناشی از آسیب های سلولی به ویژه در پارانشیم ریه (۳۳)، کبد، کلیه و ماهیچه ای (۳۴) باشد. در مطالعه حاضر بافت ریه در موش های صحرایی اواریکتومی شده، افزایش سلول های آماسی تک هسته ای، بافت فیروز بین آلوئول های ریه و پرخونی عروق خونی مشاهده شد که این تغییرات پاتولوژیک ریه با مطالعات Dogru و همکاران مطابقت دارد (۱۶). در موش های صحرایی اواریکتومی شده به علت فقدان هورمون های جنسی و کاهش انسولین که نقش آنتی اکسیدانی در

حفاظت سلولی بازی می کنند، تولید متابولیت های واکنش پذیر اکسیژن افزایش یافته و باعث آسیب های بافتی مختلف می شوند (۱۶). استرادیول به وسیله اثرات آنتی اکسیدان موجب کاهش گونه های فعال اکسیژن و انسولین با اثرات هیپوگلیسمیک و کاهش گلوکز خون اثرات سینرژیک داشته و جذب گلوکز محیطی، مارکرهای اکسیداتیو و سطح مالون دی آلدئید پلاسما کاهش می یابد (۳۵). هم چنین این باور وجود دارد که استرادیول نه تنها ترشح انسولین از سلول های بتا را افزایش می دهد بلکه حساسیت ارگان های هدف به انسولین را افزایش می دهد (۳۶). در مطالعه حاضر بالا رفتن فعالیت آنزیمی لاکتات دهیدروژناز و کراتین فسفوکیناز در موش های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی می تواند به علت آسیب به میوکاردا قلب باشد (۳۷). بعد از منوپوز با کاهش تولید استروژن، افزایش توده چربی احشائی، تجمع لیپید، کاهش مصرف لیپید، افزایش خطر پیشرفت بیماری های قلبی عروقی و افزایش مقاومت به انسولین اتفاق می افتد (۳۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد القاء دیابت در موش های صحرایی با افزایش میانگین وزن کلیه به وزن بدن، افزایش اوره و عدم تغییر کراتینین سرم همراه است. افزایش اوره و کراتینین سرم در موش های صحرایی دیابتی می تواند به علت افزایش کاتابولیسم پروتئین ها و به عنوان یک شاخص برای عدم کارایی کلیه محسوب شود (۳۹). در مطالعات آسیب شناسی بافت کلیه موش های صحرایی ماده گروه شاهد جراحی، ساختارهای کلیه شامل گلومرول ها، توبول های کلیه و عروق خونی طبیعی بود اما در موش های صحرایی ماده دیابتی شده آسیب های کلافه گلومرولی شامل نکروز گلومرول، فیروز گلومرول ها و تغییرات توبول های کلیه شامل تورم سیتوپلاسمی لوله ها، تغییرات نکروز توبول ها و افزایش بافت همبندی در بین لوله های کلیه مشهود بود که این تغییرات با مطالعات Kambel و همکاران مطابقت داشت (۴۰). افزایش قند خون فاکتور اصلی برای

تغییر در ساختار کلیوی می باشد. سلول های مزانژریال در شرایط هیپرگلیسمی تولید TGF- β ۱ درونی می کنند (۴۱) که در پیشرفت بیماری کلیه نقش دارد (۴۲). در خانم های یائسه، افزایش غلظت تری گلیسیریدها، کلسترول، لیپوپروتئین های با دانسیته پایین و کاهش لیپوپروتئین های با دانسیته بالا گزارش شده است (۴۳). در این مطالعه برخی از پروفایل های چربی در گروه های تحت مطالعه تجربی نسبت به گروه شم دچار تغییرات معنی داری بودند به طوری که مقدار تری گلیسیرید، لیپوپروتئین های با دانسیته بسیار پایین و نسبت تری گلیسیرید به لیپوپروتئین های با دانسیته بالا در موش های صحرایی دیابتی شده به طور معنی دار بیش از موش های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی بود که به عنوان یک معیار پیش بینی کننده مناسب برای بیماری کرونری قلب (۴۴) و از ویژگی های اصلی مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک است (۴۵). در مطالعه حاضر به نظر می رسد بیماری کرونری قلبی در موش های صحرایی دیابتی بیش از موش های صحرایی اواریکتومی دیابتی است. هم چنین کلسترول و لیپو پروتئین های با دانسیته پایین در موش های صحرایی اواریکتومی شده به طور معنی داری بیش از گروه شاهد جراحی بود. در مطالعه حاضر شاخص های آتروژنیک در موش های دیابتی افزایش یافته بود. شاخص های آتروژنیک از عوامل پیش بینی کننده وضعیت بیماری های قلبی است و با افزایش این شاخص عوارض قلبی عروقی پیشرفت می کند (۴۶، ۴۷). پیشنهاد می شود در مطالعات آتی سطح سرمی انسولین و فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان های کاتالاز، سوپر اکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز در بافت های کبد و کلیه اندازه گیری شود. در پایان می توان نتیجه گیری کرد که کاهش طولانی مدت استروژن در موش های دیابتی می تواند تغییرات سودمندی روی کاهش گلوکز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، اوره، گاما گلوتامیل ترانسفراز، لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین و تری گلیسیرید نسبت به موش های صحرایی دیابتی غیر منوپوز داشته باشد.

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۴۱۶۴ مورخ ۹۳/۳/۲۰ و بر اساس مجوز شماره ۹۷ و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انجام شد بدین وسیله نویسندگان تشکر و قدردانی خود را از ریاست محترم دانشگاه آزاد اسلامی

جناب آقای دکتر عبدا... قاسمی پیربلوطی، معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی آقای دکتر شهرام مشهدی زاده و کارشناسان مرکز تحقیقات بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به ویژه آقای اسماعیل اکبریان و سرکار خانم زهرا نورمحمدیان اعلام می دارند.

References

- Alonso-Magdalena P, Ropero AB, Carrera MP, Cederroth CR, Baquie M, Gauthier BR, et al. Pancreatic insulin content regulation by the estrogen receptor ER alpha. *PLoS One* 2008; 3(4): e2069.
- Suthagar E, Soudamani S, Yuvaraj S, Ismail Khan A, Aruldas MM, Balasubramanian K. Effects of streptozotocin (STZ)-induced diabetes and insulin replacement on rat ventral prostate. *Biomed Pharmacother* 2009; 63(1): 43-50.
- Ahmadvand H, Tavafi M, Khalatbary AR. Hepatoprotective and Hypolipidemic Effects of Satureja Khuzestanica Essential Oil in Alloxan-induced Type 1 Diabetic Rats. *Pharm Res* 2012; 11(4): 1219-1226.
- Banskota AH, Nguyen NT, Tezuka Y, Nobukawa T, Kadota S. Hypoglycemic effects of the wood of taxus yunnanensis on streptozotocin-induced diabetic rats and its active components. *Phytomedicine* 2006; 13(1-2): 109-114.
- Behr GA, Schnorr CE, Simoes-Pires A, Da Motta LL, Frey BN, Moreira JCF. Increased blood oxidative stress in experimental menopause rat model: the effects of vitamin A low-dose supplementation upon antioxidant status in bilateral ovariectomized rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2012; 26(2): 235-249.
- Yoshihara R, Utsunomiya K, Gojo A, Ishizawa S, Kanazawa Y, Matoba K, et al. Association of Polymorphism of Estrogen Receptor- α Gene with Circulating Levels of Adiponectin in Postmenopausal Women with Type 2 Diabetes. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16(3): 250-255.
- Tawfik SH, Mahmoud BF, Saad MI, Shehata M, Kamel MA, Helmy MH. Similar and Additive Effects of Ovariectomy and Diabetes on Insulin Resistance and Lipid Metabolism. *Biochemistry Research International* 2015; 2015: 1-8.
- Zhang Y, Howard BV, Cowan LD, Yeh J, Schaefer CF, Wild RA, et al. The effect of estrogen use on levels of glucose and insulin and the risk of type 2 diabetes in american Indian postmenopausal women: the strong heart study. *Diabetes Care* 2002; 25(3): 500-504.
- Deon TM, Sharoff C, Chipkin SR, Grow D, Ruby BC, Braun B. Regulation of exercise carbohydrate metabolism by estrogen and progesterone in women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 283(5): E1046-1055.
- Horton TJ, Miller EK, Glueck D, Tench K. No effect of menstrual cycle phase on glucose kinetics and fuel oxidation during moderate-intensity exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2002; 282(4): E752-762.

11. Andersson B, Mattsson LA, Hahn L, Mårin P, Lapidus L, Holm G, et al. Estrogen replacement therapy decreases hyperandrogenicity and improves glucose homeostasis and plasma lipids in postmenopausal women with noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82(2): 638-643.
12. Ferrara A, Karter AJ, Ackerson LM, Liu JY, Selby JV. Hormone replacement therapy is associated with better glycemic control in women with type 2 diabetes: The Northern California Kaiser Permanente Diabetes Registry. *Diabetes Care* 2001; 24(7): 1144-1150.
13. Godsland IF, Gangar K, Walton C, Cust MP, Whitehead MI, Wynn V, et al. Insulin resistance, secretion, and elimination in postmenopausal women receiving oral or transdermal hormone replacement therapy. *Metabolism* 1993; 42(7): 846-853.
14. Okada M, Nomura S, Ikoma Y, Yamamoto E, Ito T, Mitsui T, et al. Effects of postmenopausal hormone replacement therapy on HbA(1c) levels. *Diabetes Care* 2003; 26(4): 1088-1092.
15. Sadri SM, Namjoo AR, Rafieian-kopaei M, Ashrafi K, Shahin Fard N, Ansari Samani R, et al. Comparing the effects of nigella sativa extract and gentamicin in treatment of urinary tract infection caused by E. coli. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2013; 22(96): 21-29 (Persian).
16. Dogrul YZ, Nacar T, Unal D, Aksak S, Albayrak A, Odabasoglu F, et al. Effects of diabetes mellitus and postmenopausal period on the lungs of rats. *Afr J Pharm Pharmacol* 2012; 6(27): 1989-2010.
17. Sadeghi M, Sianati S, Anaraki DK, Ghasemi M, Paydar MJ, Sharif B, Mehr SE, Dehpour AR, et al. Study of morphine-induced dependence in gonadectomized male and female mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2009; 91(4): 604-609.
18. Unal D, Aksak S, Halici Z, Sengul O, Polat B, Unal B, et al. Effects of diabetes mellitus on the rat liver during the postmenopausal period. *J MolHistol* 2011; 42(3): 273-287.
19. Warnick GR, Knopp RH, Fitzpatrick V, Branson L. Estimating low-density lipoprotein cholesterol by the Friedewald equation is adequate for classifying patients on the basis of nationally recommended cutpoints. *Clin Chem* 1990; 36(1): 15-19.
20. Ikewuchi JC, Ikewuchi CC, Ifeanacho MO. Attenuation of Salt-Loading Induced Cardiomegaly and Dyslipidemia in Wistar Rats by Aqueous Leaf Extract of *Chromolaena odorata*. *Pharmacol Pharm* 2014; 5(2): 160-170.
21. Herrero S, Calvo OM, Garcia-Moreno C, Martin E, San Roman JJ, Martin M, et al. Low bone density with normal bone turnover in ovariectomized and streptozotocin-induced diabetic rats. *Calcif. Tissue Int* 1998; 62(3): 260-265.
22. Pirola L, Johnston AM, Obberghen EV. Modulation of insulin action. *Diabetologia* 2004; 47(2): 170-184.
23. Clegg DJ, Brown LM, Woods SC, Benoit SC. Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes* 2006; 55(4): 978-987.
24. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001; 50(6): 537-546.
25. Musatov S, Chen W, Pfaff DW, Mobbs CV, Yang XJ, Clegg DJ, et al. Silencing of estrogen receptor alpha in the ventromedial nucleus of hypothalamus leads to metabolic syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104(7): 2501-2506.
26. Piche ME, Weisnagel SJ, Corneau L, Nadeau A, Bergeron J, Lemieux S. Contribution of

- abdominal visceral obesity and insulin resistance to the cardiovascular risk profile of postmenopausal women. *Diabetes* 2005; 54(3): 770-777.
27. Babaei P, Mehdizadeh R, Ansar MM, Damirchi A. Effects of ovariectomy and estrogen replacement therapy on visceral adipose tissue and serum adiponectin levels in rats. *Menopause Int* 2010; 16(3): 100-104.
 28. Chaudhry J, Ghosh NN, Roy K, Chandra R. Antihyperglycemic effect of a new thiazolidinedione analogue and its role in ameliorating oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. *Life Sci* 2007; 80(12): 1135-1142.
 29. Edet EE, David-Oku E, Akpanabiatu MI, Igile GO, Mgbeje B, Egbung GE, et al. Clinical significance of the effect of Gongronema Latifolium leaf extract on some serum enzymes in diabetic rats. *J Pharm Biomed Sci* 2013; 29(29): 781-787.
 30. Nagae Y, Miyamoto M, Miyamoto H. Effect of estrogen replacement on liver function in ovariectomized rats. *J Toxicol Sci* 1991; 16(3): 87-100.
 31. Yoshihara R, Utsunomiya K, Gojo A, Ishizawa S, Kanazawa Y, Matoba K, et al. Association of polymorphism of estrogen receptor-alpha gene with circulating levels of adiponectin in postmenopausal women with type 2 diabetes. *J Atheroscler Thromb* 2009; 16(3): 250-255.
 32. Hernandez I, Delgado JL, Diaz J, Quesada T, Teruel MJG, Llanos MC, et al. 17 β -Estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. *Am J Physiol* 2000; 279(5): R1599-605.
 33. Cobben NA, Drent M, Schols AM, Lamers RJ, Wouters EF, Van Dieijen-Visser MP. Serum lactate dehydrogenase and its isoenzyme pattern in ex-coalminers. *Respir Med* 1997; 91(10): 616-623.
 34. Panteghini M, Bais R. Enzymes In: Tietz fundamentals of clinical chemistry and Molecular Diagnostics. Burtis CA, Ashwood R, Brun DE, Sawyer BG. 6th ed. Philadelphia: Saunders; 2007.
 35. El-Nasr AS, Diab FMA, Bahgat NM, Ahmed MA, Thabet SS, El-Dakkak SMY. Metabolic Effects of Estrogen and / or Insulin in Ovariectomized Experimentally Diabetic Rats. *Journal of American Science* 2011; 7(2): 432-444.
 36. Borissova AM, Tankova T, Kamenova P, Dakovska L, Kovacheva R, Kirilov G, et al. Effect of hormone replacement therapy on insulin secretion and insulin sensitivity in postmenopausal diabetic women. *Gynecol Endocrinol* 2002; 16(1): 67-74.
 37. Alnahdi HS. Effect of Rosmarinus Officinalis Extract on some Cardiac Enzymes of Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of Health Sciences* 2012; 2(4): 33-37.
 38. Wohlers LM, Spangenburg EE. 17 β -estradiol supplementation attenuates ovariectomy-induced increases in ATGL signaling and reduced perilipin expression in visceral adipose tissue. *J Cell Biochem* 2010; 110(2): 420-427.
 39. Al-Musa H, AL-Hashem F. Hypoglycemic, hepato-renal and antioxidant potential effect of chamomile recutita flower ethanolic extract in streptozotocin-diabetic rats. *Am J Pharmacol Toxicol* 2014; 9(1): 1-12.
 40. Kamble HV, Bodhankar SL. Trigonelline and sitagliptin attenuates nicotinamide-streptozotocin induced diabetic nephropathy in wistar rats. *Int J Pharm Pharm Sci* 2013; 5(4): 583-589.
 41. Schena FP, Gesualdo L. Pathogenetic mechanisms of diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (suppl1): S30-33.

42. Lane PH, Snelling DM, Babushkina-Patz N, Langer WJ. Sex differences in the renal transforming growth factor-beta 1 system after puberty. *Pediatr Nephrol* 2001; 16(1): 61-68.
43. Gad HI, Zakaria FA. Role of adiponectin in modulating some risk factors for atherosclerosis in ovariectomized female rats. *Alex Med J* 2004; 46(1): 202-227.
44. Hokanson JE, Austin MA. Plasma triglyceride level is a risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population based prospective studies. *J Cardiovasc Risk* 1996; 3(2): 213-219.
45. Barzi F, Patel A, Woodward M, Lawes CM, Ohkubo T, Gu D, et al. A comparison of lipid variables as predictors of cardiovascular disease in the Asia Pacific region. *Ann Epidemiol* 2005; 15(5): 405-413.
46. Frohlich J, Dobiasova M. Fractional esterification rate of cholesterol and ratio of triglycerides to HDL-Cholesterol are Powerful Predictors of Positive Findings on Coronary Angiography. *Clin Chem* 2003; 49(11): 1873-1880.
47. Dobiasova M. Atherogenic Index of Plasma [Log Triglyceride/HDL-Cholesterol]: Theoretical and practical implications. *Clin Chem* 2004; 50(7): 1113-1115.