ORIGINAL ARTICLE

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

Abdul Rasul Namjoo[1],
Esfandiar Heidarian[2],
Mahmoud Rafieian-Kopaei[3],
Mehrdad Safarian[4]

[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, Shahrekurd 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

J Mazandaran Univ Med Sci 2016; 26(138): 1-16 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و ششم شماره ۱۳۸ تیر سال ۱۳۹۵ (۱۷-۱)

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

عبدالرسول نامجو[۱]
اسفندیار حیدریان[۲]
محمود رفیعیان کوپایی[۳]
مهرداد 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، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینو ترانسفراز، گاماگلوتامیل ترانسفراز، آلکالین‌فسفاتاز، کلسیم، اوره، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین با دانسیته بالا را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($p<۰/۰۵$). موش‌های صحرایی اواریکتومی شده افزایش لاکتات دهیدروژناز، تری‌گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین با دانسیته بالاو لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین را در مقایسه با گروه کنترل نشان دادند ($p<۰/۰۵$). 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، آسپارتات‌آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینو ترانسفراز، گاماگلوتامیل ترانسفراز، اوره، لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین و تری گلیسیرید نسبت به موش‌های صحرایی غیراواریکتومی دیابتی داشته باشد.

واژه های کلیدی: دیابت، یائسگی، اواریکتومی، موش صحرایی

مقدمه

دیابت ملیتوس یکی از بیماری‌های متابولیک در انسان و حیوانات است که به علت کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس پانکراس یا به دنبال پیشرفت تدریجی مقاومت به انسولین موجب افزایش قند

مولف مسئول: عبدالرسول نامجو- شهرکرد: دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکی E-mail: ar.namjo72@gmail.com
۱. دانشیار، گروه پاتولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
۲. استاد، گروه بیوشیمی، مرکز تحقیقات بیوشیمی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۳. استاد، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران
۴. دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، 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 تنظیم کننده 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 تنظیم کننده‌های 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 درگردش 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، تری‌گلیسرید، 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 هورمون های 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 خانم های 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، کم تحرکی، تغذیه، ژنتیک وغیره 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 القاءشده بر قندخون، پروفایل های چربی، شاخص‌های آنزیمی کبد، کلیه و تغییرات هیستوپاتولوژیک پانکراس، کبد و کلیه در موش های صحرایی اواریکتومی شده با کاهش طولانی مدت استروژن بوده است.

مواد و روش ها

این مطالعه تجربی- مداخله‌ای روی ۳۲ سر موش صحرایی ماده نژاد ویستار با دامنه سنی ۱۲ تا ۱۴ هفته و میانگین وزنی ۲۰±۲۰۰ 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 شهرکرد در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰ درصد و چرخه روشنایی- تاریکی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد در قفس‌های پلی کربنات نگهداری شدند. تمام روش‌های 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 آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل دو هفته از استقرار موش های صحرایی انجام شد(۱۵).

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

موش‌های صحرایی ماده در ۴ گروه هشت‌تایی به صورت تصادفی تقسیم شدند(۱۶). سپس موش‌های صحرایی ماده قبل از جراحی با ترکیبی از داروهای کتامین و زایلازین به ترتیب با دوز ۸۰ و ۷ میلی‌گرم 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 میلی‌متر بر سطح پوست ایجاد و با برش‌های مورب به طول ۵ میلی‌متر روی عضلات ناحیه تهیگاهی چپ و راست عمل جراحی حذف تخمدان‌ها به روش صادقی و همکاران انجام شد(۱۷). جهت ایجاد دیابت تجربی درموش‌های صحرایی اواریکتومی و غیراواریکتومی، تزریق زیر جلدی یک نوبت آلوکسان (Sigma Aldrich، ساخت کشور آلمان) به مقدار ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در محلول سرم فیزیولوژی انجام شد. برای نتیجه‌گیری بهتر و مقابله با اثر رقابتی گلوکز با آلوکسان که ممکن بود مانع اثر قطعی دارو روی سلول‌های بتای پانکراس شود، تزریق مورد نظر در هریک از موش‌های 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 موش‌های صحرایی نمونه خون گرفته شد و با استفاده از دستگاه گلوکوکارد ساخت کشور ژاپن سطح گلوکز خون آن‌ها اندازه گیری و قند خون بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی لیتر، ملاک دیابتی شدن آن‌ها بود(۱۸).

گروه اول :گروه شاهد جراحی (شم)، چربی‌های 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 موش‌های 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 آنزیم‌های سرم

در پایان هفته ۵۵ موش‌ها 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 لوله‌های فاقد ماده ضد انعقاد جمع‌آوری و سرم توسط سانتریفوژ H-11N ساخت شرکت KOKUSAN کشور ژاپن با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰دقیقه جدا شد. سنجش سرمی قند خون، آنزیم‌های آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپارتات آمینوترانسفراز (AST ، کراتینین، اوره، کراتین–فسفوکیناز (CPK)، لاکتات- دهیدروژناز(LDH) توسط دستگاه اتوآنالایزرمدل BT-3000 ساخت شرکت بیوتکنیکا کشور ایتالیا با استفاده از کیت‌های پارس آزمون انجام گرفت. غلظت سرمی تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، لیپوپروتئین‌های با دانسیته

پایین با استفاده از کیت‌های شناساگر (پارس آزمون، ایران) و بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده مورد اندازه گیری 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= Triglycerides/5(

Atherogenic index =[Log(TG/ HDL cholesterol)]

خطر قلبی = [Total cholesterol]/ [HDL cholesterol]

Atherogenic coefficient=[Total cholesterol]-[HDL cholesterol]/[HDL cholesterol]

برای مطالعه تغییرات بافتی، بلافاصله بعد از خونگیری، بافت‌ها به منظور تثبیت درون فرمالین بافر ۱۰درصد 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 انحراف‌معیار 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 $p < ۰/۰۵$ مقایسه شدند.

یافته ها

مقدار گلوکز خون در موش‌های صحرایی ماده دیابتی به طور معنی‌داری بیش از موش‌های صحرایی اواریکتومی دیابتی بود ($p = ۰/۰۰۸$) (جدول شماره ۱). فعالیت سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز و گاما گلوتامیل ترانسفراز به ترتیب در موش‌های صحرایی ماده دیابتی نسبت به موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی افزایش یافته بود ($p = ۰/۰۵$)، ($p= ۰/۰۱$)، ($p = ۰/۰۵$) (جدول شماره ۱). هم چنین فعالیت سرمی آلانین آمینوترانسفراز در موش‌های صحرایی ماده دیابتی نسبت به موش‌های صحرایی اواریکتومی شده افزایش یافته بود ($p = ۰/۰۳۶$)(جدول شماره ۱). مقدار آلبومین سرم در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی و دیابتی کم‌تر از موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی بود ($p= ۰/۰۵$). 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 ($p= ۰/۰۰۱$)، ($p= ۰/۰۲۷$). آنزیم لاکتات دهیدروژناز در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده و اواریکتومی شده دیابتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد جراحی ($p = ۰/۰۰۱$) و گروه موش‌های صحرایی دیابتی نشان داد ($p = ۰/۰۴$)(جدول شماره ۱). آنزیم کراتین فسفوکیناز در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی بیش از گروه شاهد جراحی بود ($p= ۰/۰۰۱$) (جدول شماره ۱). نسبت درصد وزن کبد به وزن بدن در موش‌های اواریکتومی شده کاهش معنی‌دار را نسبت به گروه شاهد جراحی نشان داد ($p = ۰/۰۲۶$). 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 ($p=۰/۰۵$)(جدول شماره۱). مقدار کلسیم سرم در گروه موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به موش‌های صحرایی اواریکتومی شده داشت ($p = ۰/۰۰۰$)، اما نسبت به گروه شاهد جراحی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد ($p= ۰/۸۲۸$). هم‌چنین مقدار کلسیم سرمی در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی کاهش معنی‌داری نسبت به گروه شم جراحی نشان داد ($p=۰/۰۰۰$) (جدول شماره ۱). میزان فسفر سرم در گروه اواریکتومی، اواریکتومی دیابتی و دیابتی نسبت به گروه شاهد جراحی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان ندادند ($p >۰/۱$) (جدول شماره ۱). وزن بدن در موش‌های صحرایی

اواریکتومی شده بیش از موش‌های صحرایی شاهد جراحی، موش‌های صحرایی دیابتی و موش‌های صحرایی اواریکتومی دیابتی بود (p = ۰/۰۰۲) (جدول شماره ۱). غلظت سرمی اوره در موش‌های صحرایی ماده دیابتی بیش‌تر از گروه شاهد جراحی و موش‌های صحرایی اواریکتومی شده غیر دیابتی بود (p = ۰/۰۰۳) (جدول شماره ۲). غلظت سرمی کراتینین در موش‌های صحرایی گروه‌های تجربی نسبت به گروه شاهد جراحی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان ندادند (p > ۰/۱) (جدول شماره ۲). نسبت درصد وزن کلیه‌ها به وزن بدن در موش‌های ماده دیابتی بیش از گروه شاهد جراحی بود (p= ۰/۰۲۲)، هم‌چنین میانگین نسبت درصد وزن کلیه به وزن بدن در موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی نسبت به گروه اواریکتومی شده افزایش معنی‌داری را نشان داد(p = ۰/۰۰۱) (جدول شماره ۲). مقدار تری‌گلیسیرید سرم در موش‌های صحرایی اواریکتومی و موش‌های صحرایی دیابتی به ترتیب افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه موش‌های صحرایی شاهد جراحی نشان دادند (p = ۰/۰۰۷)، (p = ۰/۰۰۰). هم‌چنین مقدار تری‌گلیسیرید در موش‌های صحرایی ماده دیابتی شده بیش از گروه اواریکتومی شده بود (p=۰/۰۰۲) اما مقدار تری‌گلیسیرید در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی به‌طور معنی‌داری کم‌تر از موش‌های صحرایی دیابتی بود (p= ۰/۰۰۰) (جدول شماره ۳). مقدار کلسترول سرم در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده به طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد جراحی بود (p= ۰/۰۳۲) (جدول شماره ۳). مقدار لیپوپروتئین با دانسیته بالا در گروه موش‌های صحرایی اواریکتومی شده نسبت به گروه شاهد جراحی افزایش معنی‌داری را نشان داد (p =۰/۰۱۶) (جدول شماره ۳). مقدار لیپوپروتئین با دانسیته پایین در موش‌های صحرایی اواریکتومی و موش‌های 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 / پارامترهای بیوشیمیایی	کنترل	موش صحرایی اواریکوتومی شده	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی	سطح معنی داری
گلوکز (mg/dl)	۱۶۴/۳۳±۱۶^{c}	۱۵۹/۰۰ ±۱۱/۱۹۵^{c}	۸۷۴±۲۸/۰۹^{***a}	۶۹۱±۵۳/۲۷^{***b}	۰/۰۰۰
آسپارتات آمینو ترانسفراز (u/l)	۱۳۳/۶۶±۱۱/۵۳۴^{b}	۱۵۹/۳۳ ± ۱۴/۶۵۵^{b}	۲۸۲/۲۵±۶۶/۱۴۵^{a*}	۲۰۴/۴۰±۳۹/۸۵^{b}	۰/۰۳۷
آلانین آمینو ترانسفراز(u/l)	۶۷/۳۳±۵/۷۴^{b}	۸۴/۱۶۶ ± ۱۱/۵۴۲^{b}	۱۷۰/۲۵۰±۲۷/۱۴۲^{a*}	۱۱۴/۶۰۰±۲۶/۸۳^{b}	۰/۰۰۷
آسپارتات آمینو ترانسفراز آلانین آمینو ترانسفراز	۲/۳۳±۰/۲۷^{b}	۲/۰۰۸ ± ۰/۲۶۱^{ab}	۱/۴۹±/۰۵^{b}	۱/۸۶±/۱۸۷^{ab}	۰/۱۵۵
وزن کبد ×۱۰۰ (وزن بدن)	۴/۲۰±۰/۳۴۴^{a}	۳/۰۲۵ ± ۰/۱۸۴^{b}	۴/۶۵۷±۰/۲۵۹^{a}	۳/۹۳۷±۰/۱۸۴^{a}	۰/۰۰۲
گاما گلوتامیل ترانسفراز (u/L)	۲/۲۷۵±۰/۵۹۵^{b}	۳/۵۸۸ ± ۱/۲۵۳^{ab}	۷/۸۲۷±۱/۶۰۰^{a*}	۴/۹۲۰±۱/۹۷۲^{b}	۰/۰۷۸
آلبومین(g/dl)	۴/۳۵۰±۰/۱۸۲^{a}	۴/۶۸۳ ± ۰/۱۱۹^{a}	۳/۵۵۰±۰/۲۵۰^{b}	۳/۷۸۰±۰/۴۴۹^{b}	۰/۰۳۲
آلکالین فسفاتاز (u/L)	۶۰۷/۵۰۰±۱۱۵/۳۹۴^{b}	۶۰۵/۶۶۶ ± ۸۴/۴۱۹^{b}	۱۷۶۷/۰۰±۲۹۹/۶۳^{a**}	۱۳۴۸±۱۵۴/۴۸۰^{a}	۰/۰۰۰
لاکتات دهیدروژناز (u/L)	۱۴۵۵/۰۰±۲۱۹/۲۷۷^{b}	۲۹۰۲/۱۶۶ ± ۱۹۸/۷۵۰^{a**}	۱۹۰۵/۲۵۰±۹۲/۴۹۴^{b}	۲۹۶۰/۶۰۰±۲۴۹/۲۸۴^{a**}	۰/۰۰۰
کراتین فسفو کیناز (u/L)	۵۶۰/۸۳۳±۶۲/۲۹۰^{b}	۶۴۰/۵۰۰ ± ۷۸ /۸۱۵^{b}	۸۰۵/۷۵۰±۷۲/۶۹۸^{b}	۱۲۴۷/۵±۳۴۳/۵^{a**}	۰/۰۰۸
کلسیم (mg/dl)	۱۲/۷۰۰±/۳۷۲^{a}	۱۳/۱۶۶ ± ۰/۱۴۷^{a}	۹/۶۷۵±۰/۵۷۶^{b***}	۹/۶۶۰±/۴۰۴^{b***}	۰/۰۰۰
فسفر (mg/dl)	۶/۱۳۳±/۵۹۵^{a}	۶/۹۵۰±/۶۳۴^{a}	۶/۵۷۵±/۲۰۱^{a}	۶/۸۸۰±۰/۵۷۴^{a}	۰/۷۱۴
وزن (g)	۱۸۴/۲۹±۸/۴۸^{b}	۲۵۵/۸۲±۸/۸۹^{a}	۱۸۱/۷۵±۷/۴۴^{b}	۱۹۲/۱۲۵±۱۸/۳۳^{b}	۰/۰۰۰

مقادیر به صورت انحراف معیار ± 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 ۹۵درصد می باشد (p <۰/۰۵)

***اختلاف آماری معنی دار (p < ۰/۰۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل.

**اختلاف آماری معنی دار (p < ۰/۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل.

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

گروه ها / پارامترهای بیوشیمیایی	کنترل	موش صحرایی ماده اواریکوتومی شده	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی ماده اواریکوتومی شده و دیابتی	سطح معنی داری
اوره (mg/dl)	۶۷/۵۰۰±۳/۱۳۸^{c}	۶۶/۸۳ ± ۲/۹۵۹^{c}	۲۲۴/۰۰۰±۵۸/۲۰^{a**}	۱۴۵/۶۰۰±۱۶/۱۵۴^{b}	۰/۰۰۱
کراتینین (mg/dl)	۰/۸۵۹±۰/۱۲۸^{a}	۱/۰۸۳±۰/۱۱۶^{a}	۱/۱۰۰±۰/۱۰۸^{a}	۰/۹۶۰±۰/۰۸۱^{a}	۰/۲۴۸
میانگین وزن کلیه ×۱۰۰ وزن بدن	۰/۷۴۹±۰/۰۱۸^{a}	۰/۶۱۴ ± ۰/۰۳۳^{a}	۱/۰۶۵±۰/۰۷۷^{a}	۰/۹۲۲±۰/۱۰۹^{a}	۰/۳۰۰

مقادیر به صورت انحراف معیار ± 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 ۹۵درصد می باشد (p <۰/۰۵)

**اختلاف آماری معنی دار (p < ۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل.

دیابتی نسبت به گروه شاهد جراحی افزایش معنی‌داری را نشان داد(p=۰/۰۱) (جدول شماره ۳). لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین در موش‌های صحرایی دیابتی شده افزایش معنی‌داری را نسبت به موش‌های صحرایی اواریکتومی شده (p =۰/۰۰۲) و موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی نشان داد (p =۰/۰۰۰). هم‌چنین لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده به‌طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد جراحی بود (p = ۰/۰۰۷) (جدول شماره ۳). نسبت تری گلیسیرید به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا در موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی بیش از گروه شاهد جراحی بود (p =۰/۰۱) (جدول شماره ۴). نسبت لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا به لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین در گروه اواریکتومی شده دیابتی به‌طور معنی‌داری کم‌تر از گروه شاهد جراحی بود (p= ۰/۰۲). هم‌چنین نسبت این دو پروفایل در گروه اواریکتومی شده دیابتی به‌طور معنی‌داری کم‌تر از موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بود (p =۰/۰۰۴) (جدول شماره ۴). نسبت کلسترول به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده کم‌تر از گروه شاهد جراحی بود (p =۰/۰۲۱). هم‌چنین این نسبت در موش‌های صحرایی دیابتی شده بیش از موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بود (p =۰/۰۲۲). نسبت کلسترول به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی بیش از موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بود (p =۰/۰۲۹) (جدول شماره ۴). محاسبه شاخص آتروژنیک پلاسما در موش‌های صحرایی ماده دیابتی به طور معنی‌داری بیش از سایر گروه‌ها بود (p =۰/۰۰) (جدول شماره ۴).

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

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

گروه ها / پارامترهای بیوشیمیایی	کنترل	موش صحرایی اواریکتومی	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی اواریکتومی و دیابتی	سطح معنی داری
تری گلیسیرید (mg/dl)	۴۲/۸۳±۳/۳۳^{c}	۱۰۴/۵۰۰ ± ۹/۷۰۴^{b**}	۱۸۲/۲۵۰±۲۴/۲۹۴^{a***}	۸۴/۰۰±۷/۴۶۳^{b}	۰/۰۰۰
کلسترول (mg/dl)	۵۳/۶۶±۵/۶۸۴^{b}	۸۴/۳۳±۷/۵۹۶^{a}	۶۳/۷۵۰±۴/۶۹۷^{ab}	۶۹/۶۰۰±۸/۵۸^{ab}	۰/۰۵۳
HDL کلسترول (mg/dl)	۴۲/۴۳±۷/۶۸۱^{b}	۸۷/۳۰۰ ± ۱۲/۱۰۷^{a}	۴۶/۷۷۵±۶/۱۴۴^{b}	۵۱/۴۲±۶/۴۸^{b}	۰/۰۰۸
LDL کلسترول (mg/dl)	۱۹/۸۳۳±۲/۲۴۳^{b}	۳۷/۳۱۶±۴/۲۶۰^{a**}	۲۵/۲۷۵±۱/۴۰۹^{b}	۳۶/۷۹۴±۵/۷۱۸^{a*}	۰/۰۲۷
VLDL (mg/dl)	۸/۵۶±۰/۶۶۶^{c}	۲۰/۹۰±۱/۹۴۰^{b}	۳۶/۴۵±۴/۸۵۷^{a}	۱۶/۸±۱/۴۹۲^{b}	۰/۰۰۰

مقادیر به صورت انحراف معیار ± 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 ۹۵درصد می باشد (p <۰/۰۵)

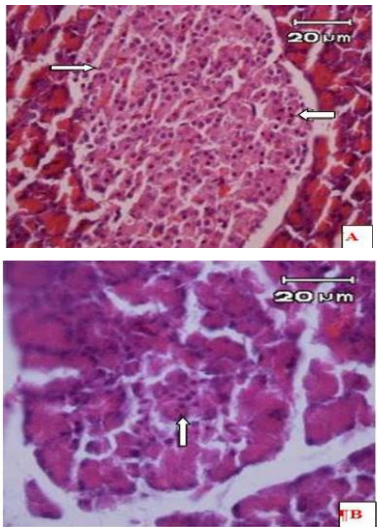
***اختلاف آماری معنی دار (p <۰/۰۰۰۱) در مقایسه با گروه کنترل.

** اختلاف آماری معنی دار (p <۰/۰۱) در مقایسه با گروه کنترل.

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

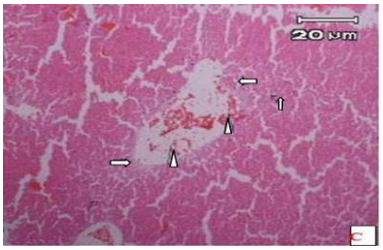
گروه ها / پارامترها بیوشیمیایی	کنترل	موش صحرایی اواریکتومی	موش صحرایی دیابتی	موش صحرایی اواریکتومی و دیابتی	سطح معنی داری
TG/HDL	۱/۱۸۶±۰/۲۰۴^{b}	۱/۲۵۹ ± ۰/۱۳۶^{b}	۳/۹۴۷±۰/۳۵۹a^{**}	۱/۴۵۵±۰/۱۳۳^{b}	۰/۰۰۰
HDL/LDL	۲/۳۳۸±۰/۱۹۲^{a}	۲/۳۲۰±۰/۱۲۸^{a}	۱/۸۸۷±۰/۳۱۲^{b}	۱/۴۳۰±۰/۰۹۵b	۰/۰۰۴
HDL / کلسترول	۱/۳۶۱±۰/۱۱۳^{a}	۰/۹۶۹ ± ۰/۰۳۶^{b*}	۱/۴۰۶±۰/۱۱۰^{a}	۱/۳۶۲±۰/۰۴۸^{a}	۰/۰۰۴
ضریب Atherogenic	۰/۳۲۵±۰/۱۰۶^{a}	۰/۰۵±۰/۰۶۷^{b}	۰/۴۰۷±۰/۱۱۲^{a}	۰/۳۵۸±۰/۰۴۷^{a}	۰/۰۱۱
شاخص Atherogenicپلاسما	۰/۰۳۳±۰/۰۹۲۰^{b}	۰/۰۸۸±۰/۰۴۴^{b}	۰/۵۹±۰/۰۴^{a}	۰/۲۲±۰/۰۲۳^{b}	۰/۰۰۰

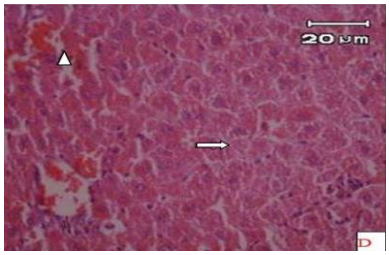
مقادیر به صورت انحراف معیار ±میانگین می باشند. تعداد نمونه های هر گروه ۶ سر موش است ، حروف غیرمشابه (a,b,c)در هر سطر جدول نشان دهنده وجود اختلاف معنی داری در سطح اطمینان ۹۵درصد می باشد (p <۰/۰۵).



تصویر شماره ۱ : (A) بافت پانکراس موش های صحرایی گروه کنترل. ساختار جزایر لانگرهانس طبیعی (پیکان) (H&E ×۴۰۰). (B) بافت پانکراس موش های صحرایی گروه دیابتی دارای تخمدان. نکروز جزایر لانگرهانس (پیکان) (H&E ×۴۰۰).

بافت پانکراس در گروه اواریکتومی تغییرات پاتولوژیک خاصی را نشان نداد. در ارزیابی میکروسکوپیک بافت کبد در گروه کنترل در مرکز هر لبول سیاهرگ مرکز لبولی و سلول‌ها به صورت شعاعی و بین آن‌ها سینوزوئیدها قرار گرفته بود. در ناحیه پورتال شاخه‌هایی از آرتریول کبد، ورید پورتال، مجاری صفراوی و بافت همبند وجود داشتند که توسط هپاتوسیت‌ها احاطه شده بودند . سیتوپلاسم سلول‌های کبد با ائوزین به رنگ صورتی رنگ گرفته بود و برخی از سلول‌های کبد دارای دو هسته و هسته‌ها دارای بیش از دو هستک بودند. در بافت کبد گروه موش‌های صحرایی دیابتی اتساع سیاهرگ مرکزی کبد، دژنره شدن سلول‌های کبدی به صورت نامنظم در اطراف سیاهرگ مرکز کبدی، اتساع سینوزوئیدهای کبد و آسیب به سلول‌های آندوتلیال سیاهرگ مرکز کبدی مشاهده شد. بافت کبد موش‌های صحرایی اواریکتومی شده، تغییرات سیتوپلاسم در سلول‌های کبد و هیپرکروم شدن هسته تا ناپدید شدن هسته سلول‌های نزدیک ورید مرکزی کبد و آسیب به سلول‌های آندوتلیال عروق را نشان دادند (تصویر شماره۲).



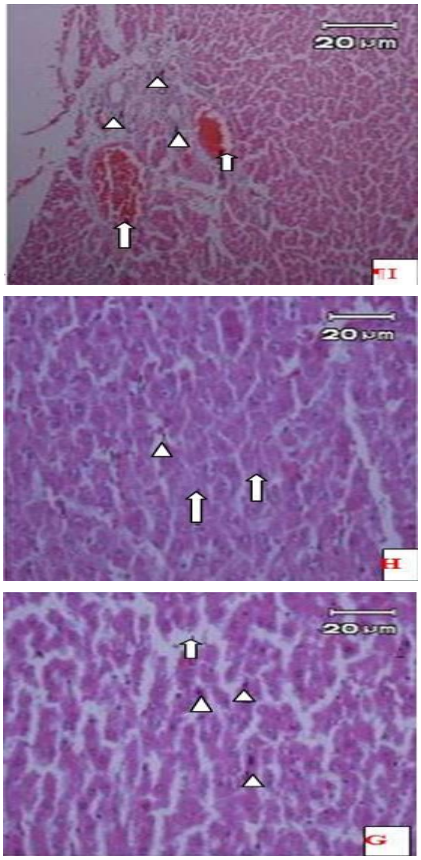


تصویر شماره ۲: (C) بافت کبد در موش های صحرایی دیابتی شده، اتساع سیاهرگ مرکزی کبد (سرپیکان)، دژنره شدن سلول های کبدی اطراف سیاهرگ مرکز کبدی (پیکان)، اتساع سینوزوئیدهای کبد (پیکان باریک) (H&E ×۱۰۰). (D) بافت کبد در موش صحرایی اواریکتومی شده، تغییرات سیتوپلاسم در سلول های کبد و ناپدید شدن هسته (پیکان) و آسیب به سلول های آندوتلیال عروق (سرپیکان) (H&E ×۴۰۰)

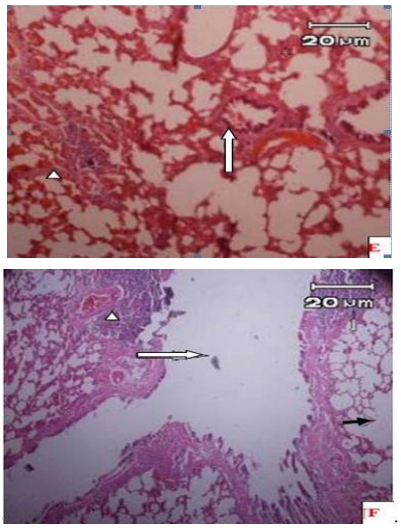
دربافت کبد موش‌های صحرایی اواریکتومی و دیابتی آسیب کبد نسبت به سایر گروه‌ها شدیدتر بود به‌طوری که هیپرکروم و متراکم شدن هسته و ائوزینوفیلیک شدن سیتوپلاسم و برهم خوردن نظم سلول‌های کبد و اتساع سینوزوئیدها، کانون های نکروتیک و افزایش مجاری صفراوی در ناحیه پورتال و نفوذ سلول‌های آماسی در اطراف مجاری صفراوی مشاهده شد (تصویر شماره ۳).

قسمت‌های مختلف بافت ریه گروه کنترل هم‌چون برونشیول‌ها، مجاری آلوئول‌ها و کیسه‌های آلوئولی در ظاهر طبیعی بودند و آلوئول‌ها و اجزاء مرتبط هم چون دیواره آلوئول، اپی‌تلیوم، کیسه هوایی و تیغه بین آلوئولی هیچ تغییر غیرطبیعی را نشان ندادند. پنوموسیت‌های تیپ یک از اپی‌تلیوم سنگفرشی با سیتوپلاسم بسیار نازک تشکیل شده بود. پنوموسیت تیپ ۲ که در بین پنوموسیت‌های تیپ یک قرار داشت به شکل مکعبی و سیتوپلاسم گرانولار با هسته مدور مرکزی مشاهده شد. در ریه موش‌های صحرایی دیابتی وضعیت غیر طبیعی پارانشیم ریه

مشاهده شد و تغییراتی هم‌چون هیپرپلازی برونشیول، تخریب دیواره آلوئول‌ها، حضور فیبروز در برخی نواحی ریه، کاهش فضای آلوئول و پاره شدن تیغه بین آلوئولی مشاهده شد. ریه موش‌های صحرایی اواریکتومی شده تمام وضعیت‌های غیر طبیعی شبیه گروه دیابتیک و افزایش ضخامت بافت فیبروز و حضور سلول‌های آماسی تک هسته‌ای بین دیواره آلوئولی را نشان دادند. در موش‌های صحرایی اواریکتومی دیابتی تغییرات شبیه موش‌های صحرایی اواریکتومی شده بود (تصویر شماره۴).

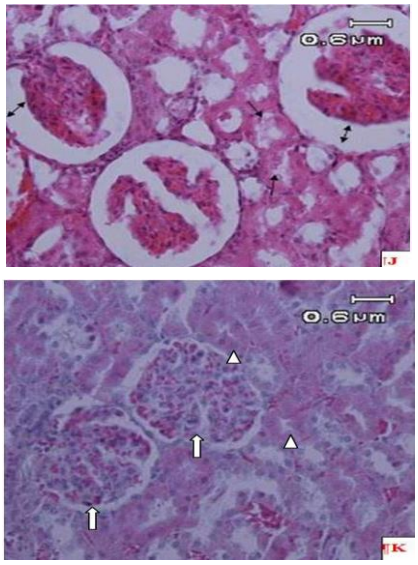


تصویر شماره ۳ : (G) بافت کبد در موش صحرایی ماده اواریکتومی شده و دیابتی، هیپرکروم و متراکم شدن هسته و ائوزینوفیلیک شدن سیتوپلاسم (سرپیکان) و برهم خوردن نظم سلول های کبد و اتساع سینوزوئیدها(پیکان) (H&E ×۴۰۰). (H) بافت کبد در موش صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی، اتساع سینوزوئیدها (سرپیکان) و دژنره و نکروز شدن سلول های کبد (پیکان) (H&E ×۴۰۰). (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 (سرپیکان) و پرخونی عروق سیاهرگی (پیکان) (H&E ×۱۰۰)



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

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



تصویر شماره ۵ : (J) کلیه گروه اواریکتومی و دیابتی، افزایش فضای ادرای در اطراف گلومرول (پیکان دو سر) و نکروز توبول‌های کلیه (سرپیکان) (H&E×۴۰۰).

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بعد از تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات با دوز ۱۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در موش‌های صحرایی تحت مطالعه باعث القاء دیابت وافزایش قندخون شد که تا پایان دوره مطالعه این افزایش قندخون وجود داشت. هم‌چنین قندخون موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از قندخون موش‌های صحرایی ماده دیابتی بود. با این حال عدم وجود تخمدان در موش‌های صحرایی ماده دیابتی موجب افزایش قندخون نسبت به گروه دیابتی دارای تخمدان نشده بود. مطالعات تجربی نشان داده‌اند که اواریکتومی روی سطح گلوکز در موش‌های صحرایی دیابتی القاء شده با استرپتوزوتوسین اثر ندارد و اواریکتومی به سختی روی متابولیسم گلوکز تاثیر گذار است(۲۱،۷) و اواریکتومی نمودن موش‌های صحرایی دیابتی باعث تشدید مقاومت به انسولین می‌شود(۷). مقاومت به انسولین شرایطی است که در آن سلول‌های بدن پاسخ مناسبی به انسولین نمی‌دهند و به دنبال آن جذب گلوکز دچار اختلال شده و به طور ثانویه باعث افزایش قندخون می‌شود(۲۲). با این حال مکانیسم سلولی مشخصی در پشت پرده حالت مقاومت به انسولین و نقش کاهش هورمون‌های جنسی زنانه به‌طور کامل روی گلوکز خون شناخته نشده است(۲۳). جذب سریع آلوکسان توسط سلول‌های ترشح‌کننده انسولین (سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس پانکراس) و تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب نکروز جزایر در پانکراس می‌شود. سلول های بتا نسبت به سایر بافت‌ها هم‌چون کبد به رادیکال‌های آزاد اکسیژن بسیار حساسند و باعث کاهش غلظت انسولین پلاسما می‌شوند. از این جهت آلوکسان به عنوان یک ترکیب دیابت زا شناخته شده است(۲۴). در موش‌های صحرایی ماده دیابتی و موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی، تخریب و نکروز جزایر لانگرهانس و هم‌چنین کاهش تعداد جزایر بافت پانکراس در مقایسه با موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی شده مشاهده شد. در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده درصد نسبت وزن کبد به وزن بدن در مقایسه با سایر گروه‌ها از کاهش معنی‌داری برخوردار بود. دلیل این کاهش می تواندآسیب‌های غیر قابل برگشت هم‌چون نکروز و مرگ برنامه ریزی شده (آپوپتوز) سلول‌های بافت کبد باشد(۱۸). دلیل دوم می‌تواند افزایش وزن بدن موش‌های صحرایی اواریکتومی شده باشد. Musatov و همکاران نشان دادند در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده جذب غذا، وزن بدن و تجمع چربی‌های داخل شکمی افزایش می‌یابدکه با تجویز استرادیول این وضعیت معکوس می‌شود و خاموش کردن گیرنده‌های استرادیول آلفا در نواحی شکمی میانی هیپوتالاموس (ventromedial hypothalamus) موجب پرخوری، چاقی و کاهش تحمل گلوکز و کاهش مصرف انرژی می‌شود(۲۵) که در مطالعات حاضر از عمده‌ترین دلایل افزایش وزن بدن موش های صحرایی اواریکتومی شده است. هم‌چنین کمبود استروژن در خانم‌ها بعد از یائسگی از دلائل بیش‌تر شدن چربی‌های احشائی و مقاومت به انسولین و افزایش خطر بیماری‌های قلبی- عروقی است(۲۶). استروژن به عنوان یک تنظیم کننده متابولیسم چربی محسوب می‌شود و در حیوانات اواریکتومی شده تجزیه چربی‌ها کاهش می‌یابد(۲۷). هم‌چنین در مطالعه حاضر تغییر معنی‌داری در سطح گلوکز موش‌های 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). درمطالعه حاضر تغییر در تعدادی از پروفایل‌های چربی شامل تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین، لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، نسبت تری‌گلیسیرید به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، نسبت کلسترول به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا، ضریب آتروژنیک و شاخص آتروژنیک در موش‌های صحرایی

اواریکتومی شده ملایم‌تر از موش‌های صحرایی دیابتیک بود. تغییرات در برخی از پروفایل‌های چربی شامل تری‌گلیسیرید، لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین، نسبت تری‌گلیسیرید به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار بالا و شاخص آتروژنیک در موش‌های صحرایی با کاهش طولانی مدت استروژن و دیابتی پایین‌تر از موش‌های صحرایی غیراواریکتومی دیابتی بود. ترکیب دو حالت اواریکتومی و القاء دیابت در موش‌های صحرایی تاثیر معنی‌داری در وزن موش‌های صحرایی نسبت به گروه شاهد جراحی ایجاد نکرد. افزایش آنزیم‌های سرمی آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین آمینوترانسفراز، گاما گلوتامیل ترانسفراز در موش‌های صحرایی ماده دیابتی نسبت به گروه شاهد جراحی می‌تواند به عنوان مارکر اختلال درعملکردکبدی باشد. نتایج هیستوپاتولوژی نشان داد که در موش‌های صحرایی دیابتی افزایش قند خون با افزایش دژنراسیون و نکروز هپاتوسیت‌های کبدی همراه است که این افزایش می‌تواند به دلیل کاهش فعالیت آنتی اکسیدان‌های کبدی باشد. به طوری که فعالیت آنزیم سرمی آسپارتات آمینو ترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، گاما گلوتامیل ترانسفراز (GGT) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه دیابتی اواریکتومی نشده نسبت به گروه‌های دیگر تحت مطالعه افزایش یافته بود. این یافته با گزارشات دیگر مطابقت دارد به‌طوری‌که Chaudhry و همکاران گزارش کردند که آلوکسان از فعالیت آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیداز دیسموتاز (SOD) و کاتالاز ممانعت کرده و اختلال در عملکرد کبد منجر به نشت این آنزیم‌ها از سلول‌های کبدی به جریان خون می‌شود(۲۸).گاما گلوتامیل ترانسفراز یکی از متابولیت‌های اصلی آنتی‌اکسیدان گلوتاتیون است(۲۹). در موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی دیابتی شده سطح گاما گلوتامیل ترانسفراز بیش از گروه شاهد جراحی بود که می‌تواند به علت افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان بافت کبد و متابولیسم این آنتی اکسیدان باشد(۱۸). هم‌چنین مقدار آلبومین سرم در موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی کم‌تر از موش‌های صحرایی گروه شاهد جراحی و اواریکتومی شده بود که با توجه به تغییرات در سیتوپلاسم و هسته سلول‌های بافت کبد و آسیب به ساختارهای شبکه آندوپلاسمی دانه‌دار این کاهش آلبومین سرم قابل توجیه است و با مطالعات Nagae و همکاران مطابقت دارد(۳۰). مطالعات نشان دادند مصرف مکمل‌های استروژن در موش‌های صحرایی دیابتی اواریکتومی شده به‌طور معنی‌داری موجب کاهش مالون دی آلدئید پلاسما شده و ثابت شده که استرادیول به تنهائی ۷۰ درصد از مجموعه آسیب‌های استرس اکسیداتیو را بلوکه نموده و استروژن بیش از یک هورمون جنسی عمل می‌کند(۳۱). مطالعات Hernandez و همکاران نشان داد که موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دچار کاهش وضعیت آنتی‌اکسیدان تام پلاسما، کاهش گروه های تیول و افزایش لیپوپراکسیدهای پلاسما می‌شوند و با درمان استروژن این وضعیت بهبود می‌یابد(۳۲). در مطالعه حاضر سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز در موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی به طور معنی‌داری بیش‌تر از موش‌های 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. هم‌چنین افزایش فعالیت آنزیمی لاکتات دهیدروژناز در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده و دیابتی نسبت به گروه شم می تواند ناشی از آسیب‌های سلولی به ویژه در پارانشیم ریه(۳۳)، کبد، کلیه و ماهیچه ای(۳۴) باشد. در مطالعه حاضر بافت ریه در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده، افزایش سلول‌های آماسی تک هسته‌ای، بافت فیبروز بین آلوئول‌های ریه و پرخونی عروق خونی مشاهده شد که این تغییرات پاتولوژیک ریه با مطالعات Dogru و همکاران مطابقت دارد(۱۶). در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده به علت فقدان هورمون‌های جنسی و کاهش انسولین که نقش آنتی‌اکسیدانی در

حفاظت سلولی بازی می کنند، تولید متابولیت‌های واکنش پذیر اکسیژن افزایش یافته و باعث آسیب های بافتی مختلف می‌شوند(۱۶). استرادیول به وسیله اثرات آنتی اکسیدان موجب کاهش گونه‌های فعال اکسیژن و انسولین با اثرات هیپوگلیسیمیک و کاهش گلوکز خون اثرات سینرژیسمی داشته و جذب گلوکز محیطی، مارکرهای اکسیداتیوو سطح مالون دی آلدئیدپلاسما کاهش می‌یابد(۳۵). هم‌چنین این باور وجود دارد که استرادیول نه تنها ترشح انسولین از سلول های بتا را افزایش می‌دهد بلکه حساسیت ارگان‌های هدف به انسولین را افزایش می‌دهد(۳۶). در مطالعه حاضر بالا رفتن فعالیت آنزیمی لاکتات دهیدروژناز و کراتین فسفوکیناز در موش‌های صحرایی دیابتی و اواریکتومی شده دیابتی می تواند به علت آسیب به میوکارد قلب باشد(۳۷). بعد از منوپوز با کاهش تولید استروژن، افزایش توده چربی احشائی، تجمع لیپید، کاهش مصرف لیپید، افزایش خطر پیشرفت بیماری‌های قلبی عروقی و افزایش مقاومت به انسولین اتفاق می‌افتد(۳۸). نتایج مطالعه حاضر نشان داد القاء دیابت در موش‌های صحرایی با افزایش میانگین وزن کلیه به وزن بدن، افزایش اوره و عدم تغییر کراتینین سرم همراه است. افزایش اوره و کراتینین سرم در موش‌های صحرایی دیابتی می تواند به علت افزایش کاتابولیسم پروتئین‌ها و به عنوان یک شاخص برای عدم کارایی کلیه محسوب شود(۳۹). در مطالعات آسیب‌شناسی بافت کلیه موش‌های صحرایی ماده گروه شاهد جراحی، ساختارهای کلیه شامل گلومرول‌ها، توبول‌های کلیه و عروق خونی طبیعی بود اما در موش‌های صحرایی ماده دیابتی شده آسیب های کلافه گلومرولی شامل نکروز گلومرول، فیبروز گلومرول‌ها و تغییرات توبول‌های کلیه شامل تورم سیتوپلاسمی لوله‌ها، تغییرات نکروز توبول‌ها و افزایش بافت همبندی در بین لوله‌های کلیه مشهود بود که این تغییرات با مطالعات Kambel و همکاران مطابقت داشت(۴۰). افزایش قند خون فاکتور اصلی برای تغییر در ساختار کلیوی می‌باشد. سلول‌های مزانژیال در شرایط هیپرگلایسمی تولید TGF-β1 درونی می کنند(۴۱) که در پیشرفت بیماری کلیه نقش دارد(۴۲). در خانم‌های یائسه، افزایش غلظت تری گلیسیریدها، کلسترول، لیپوپروتئین‌های با دانسیته پایین و کاهش لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا گزارش شده است(۴۳). در این مطالعه برخی از پروفایل‌های چربی در گروه‌های تحت مطالعه تجربی نسبت به گروه شم دچار تغییرات معنی‌داری بودند به‌طوری که مقدار تری گلیسرید، لیپوپروتئین‌های با دانسیته بسیار پایین و نسبت تری گلیسیرید به لیپوپروتئین‌های با دانسیته بالا در موش‌های صحرایی دیابتی شده به طور معنی‌دار بیش از موش‌های صحرایی اواریکتومی شده دیابتی بود که به‌عنوان یک معیار پیش‌بینی کننده مناسب برای بیماری کرونری قلب(۴۴) و از ویژگی‌های اصلی مقاومت به انسولین و سندرم متابولیک است(۴۵). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد بیماری کرونر قلبی در موش‌های صحرایی دیابتی بیش از موش‌های صحرایی اواریکتومی دیابتی است. هم‌چنین کلسترول و لیپو پروتئین‌های با دانسیته پایین در موش‌های صحرایی اواریکتومی شده به‌طور معنی‌داری بیش از گروه شاهد جراحی بود. در مطالعه حاضر شاخص‌های آتروژنیک در موش‌های دیابتی افزایش یافته بود. شاخص‌های آتروژنیک از عوامل پیش‌بینی کننده وضعیت بیماری‌های قلبی است و با افزایش این شاخص عوارض قلبی عروقی پیشرفت می کند(۴۶،۴۷). پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی سطح سرمی انسولین و فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان‌های کاتالاز، سوپر اکسیداز وگلوتاتیون پراکسیداز در بافت‌های کبد و کلیه اندازه‌گیری شود.

در پایان می‌توان نتیجه‌گیری کرد که کاهش طولانی مدت استروژن در موش‌های دیابتی می‌تواند تغییرات سودمندی روی کاهش گلوکز، آسپارتات آمینوترانسفراز، آلانین‌آمینوترانسفراز، اوره، گاماگلوتامیل ترانسفراز، لیپوپروتئین با دانسیته بسیار پایین و تری‌گلیسیرید نسبت به موش‌های 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 بدین‌وسیله 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 مشهدی‌زاده و کارشناسان مرکز تحقیقات بیوشیمی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به ویژه آقای اسماعیل اکبریان و سرکار خانم زهرا نورمحمدیان اعلام می‌دارند.

References

1. 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.
2. Suthagar E, Soudamani S, Yuvaraj S, Ismail Khan A, Aruldhas MM, Balasubramanian K. Effects of streptozotocin (STZ)-induced diabetes and insulin replacement on rat ventral prostate. Biomed Pharmaco ther 2009; 63(1): 43-50.
3. 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.
4. 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.
5. 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.
6. Yoshihara R, Utsunomiya K, Gojo A, Ishizawa S, KanazawaY, 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.
7. 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.
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.
9. 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.
10. 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 sative extract and gentamicin in treatment of urinary tract infection caused by Ecoli. 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 JI, 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. 17β-Estradiol prevents oxidative stress and decreases blood pressure in ovariectomized rats. Am J Physio 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. 17beta-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 (supp1): 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.