

بررسی اثر گلايسين و ليزين خوراكي بر بيان ژن RAGE و TGFβ در بافت كليۀ رت‌های مبتلا شده به ديابت توسط استرپتوزوتوسين در مقايسه با رت‌های طبيعي

سميه سادات حيدري^۱، سیده زهرا بطحائي^۲، فرشته بهمني^۳، غلامرضا مشتاقی کاشانيان^{۴*}

خلاصه

مقدمه: نوروباتی دیابتی یکی از شایع‌ترین دلایل ایجاد مرحله نهایی بیماری کلیوی در جامعه امروزی به شمار می‌رود. قند خون بالا و کنترل نشده و به دنبال آن تولید محصولات نهایی گلیکۀ سبب فعال شدن مسيرهای می‌شود که در بروز نوروباتی دیابتی نقش کلیدی دارد. از میان مسيرهای منتهی شونده به این عارضه می‌توان به افزایش بیان ژن‌های RAGE (Receptor of advanced glycation end products) و TGFβ (Transforming growth factor beta) اشاره کرد. در مطالعه حاضر به منظور یافتن ترکیباتی که ممکن است سبب تأخیر در نوروباتی شود و یا از آن جلوگیری کند، اثر اسیدآمینۀ‌های گلايسين و ليزين بر میزان بیان ژن RAGE و TGFβ در بافت کلیۀ رت‌های مبتلا به دیابت بررسی گردید.

روش: موش‌های صحرایی پس از ابتلا به دیابت توسط استرپتوزوتوسين، در گروه‌های مجزای ۱۲ هفته با گلايسين ۱ درصد و ليزين ۰/۱ درصد در آب خوراکی تیمار شدند و میزان قند خون و محصولات نهایی گلیکۀ آن‌ها در این مدت ارزیابی گردید. میزان تغییرات بیان RAGE و TGFβ در بافت کلیۀ نیز با روش کمی RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction) مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان قند خون، محصولات نهایی گلیکۀ سرم، میزان بیان ژن‌های RAGE و TGFβ در بافت کلیۀ رت‌های مبتلا به دیابت تیمار شده با گلايسين و ليزين در مقايسه با رت‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار کاهش معنی‌داری پیدا کرد.

نتیجۀ گیری: بر طبق نتایج مطالعه حاضر، ملازم‌های گلايسين و ليزين خوراکی بدون ایجاد مسمومیت توانایی کاهش عوارض ابتلا به دیابت و مسدود کردن مسيرهای ابتلا به نوروباتی در رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ را دارد. این خصوصیت آن‌ها را می‌توان با اثر این ملازم‌ها در کاهش قند خون و محصولات نهایی گلیکۀ سرم مرتبط دانست. از آنجایی که در مطالعات دیگر نیز اثرات مثبت هر دو اسیدآمینۀ در نوروباتی مشاهده شده است، تعیین دوز مؤثر آن‌ها در مطالعات دیگر ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، AGE، RAGE، گلايسين، ليزين، ملازم‌های شیمیایی

۱- کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی افضلی‌پور، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران ۲- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران ۳- استادیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران ۴- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: moshtaghik@kmu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۱۰/۹ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۳/۳/۱۴ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۳/۲۸

مقدمه

دیابت شیرین یا قندی که به طور عمده با افزایش قند خون شناخته می‌شود، نوعی اختلال مزمن است که در اثر کمبود انسولین و یا مقاومت به آن به وجود می‌آید (۱). نفروپاتی دیابتی از شایع‌ترین دلایل ایجاد مرحله نهایی بیماری کلیوی است. این عارضه جانبی و بلند مدت یکی از دلایل ناتوانی و مرگ و میر بیماران مبتلا به دیابت در جهان محسوب می‌شود (۲). با پیشرفت دیابت و افزایش قند خون، عمل گلیکته شدن پروتئین‌های بدن افزایش می‌یابد. گلوکز به صورت غیر آنزیمی با گروه آمین در پروتئین‌ها واکنش نشان می‌دهد و در نهایت ساختارهای پیچیده‌ای به نام محصولات نهایی گلیکته شده پیشرفته (Advanced glycation end products یا AGEs) به وجود می‌آورد (۳). AGEs خارج سلولی با گیرنده خود RAGE (Receptor of advanced glycation end products) واکنش داده، موجب وقایع متعدد درون سلولی می‌شود (۴).

AGEهایی که با واسطه گیرنده پیام خود را به سلول داده‌اند به همراه AGEهایی که در سلول به وجود آمده‌اند از طریق فعال کردن پروتئین کیناز C، MAP کیناز (-Mitogen activated protein kinase) NF- κ B (Nuclear factor- κ B) باعث فعال‌سازی شاخص‌های مختلف رشد و از جمله TGF β (Transforming growth factor beta) می‌گردند. فعال‌سازی این شاخص رشدی سبب القای ساخت بیشتر کلاژن نوع ۱ و ۴ می‌شود و از بیان پروتئوگلیکان‌ها ممانعت می‌کند و در نتیجه پلیمریزاسیون و افزایش غیر معمول ماتریکس خارج سلولی رخ می‌دهد (۵). افزایش تعداد و حجم انواع سلول‌های گلوامرولی و توبولی و همچنین ایجاد بافت مزانژیالی به همراه ضخیم شدن غشای پایه توبولی و گلوامرولی سبب تظاهرات بالینی نفروپاتی دیابتی مانند کاهش پاک‌سازی و افزایش آلبومین ادراری می‌شود (۶). مطالعات انجام گرفته بر روی موش‌های مبتلا شده به دیابت

توسط استرپتوزوتوسین نشان داده است که تجویز آنتی‌بادی ضد TGF β از افزایش حجم بافت کلیه، ایجاد ماتریکس مزانژیالی، افزایش بیان فیبرونکتین و کلاژن و همچنین اختلال در عملکرد کلیوی جلوگیری می‌کند (۷). اختلالات حاصل از قند خون بالا تا حدودی با از بین بردن واکنش بین AGE:RAGE روند معکوس دارد (۸).

سرم گلیکته شده، میزان تولید RAGE را به صورت وابسته به دوز و زمان در سلول‌های بتای پانکراس افزایش می‌دهد و سبب استفاده از آنتی‌بادی علیه RAGE و سرکوب تولید آن و کاهش آپوپتوز در این سلول‌ها می‌شود (۹). همچنین استفاده از آنتی‌بادی علیه RAGE و یا حذف این ژن در مدل‌های موشی نفروپاتی دیابتی روند افزایش وزن کلیه، حجم گلوامرولی، مزانژیوم و ترشح آلبومین ادراری را کند کرده، در عین حال پاک‌سازی کراتینین و ضخامت غشای پایه را به حالت طبیعی بازمی‌گرداند (۱۱، ۱۰). RAGE به طور معمول به میزان کمی در اندوتلیوم، عضلات صاف، مزانژیوم و مونوسیت‌ها بیان می‌شود (۵)، اما میزان بالای بیان آن در شبکیه، مزانژیوم و آئورت هم‌زمان با افزایش میزان AGEs در پستانداران صورت می‌گیرد (۱۴-۱۲). بنابراین ترکیباتی که بتوانند میزان قند خون و محصولات گلیکته را کاهش دهند، از بیان ژن‌های دخیل در بروز نفروپاتی جلوگیری به عمل می‌آورند.

اثرات سودمند برخی از اسیدهای آمینه در بهبود شرایط دیابت مشاهده شده است (۱۵). گزارش‌ها نشان داده‌اند که در نتیجه تجویز آرژنین میزان محصولات گلیکته (از جمله فروکتوز آمین) و بیان ژن RAGE در بافت کلیه کاهش یافته و در مجموع کاهش آسیب استرس اکسیداتیو در رت‌های مبتلا شده به دیابت توسط استرپتوزوتوسین مشاهده می‌شود (۱۶). سیستمین خوراکی نیز با جلوگیری از تشکیل محصولات گلیکته و بهبود پروفایل لیپیدی می‌تواند تمام عوامل خطر مرتبط با بروز عوارض دیابت را کاهش دهد

شدند. به اين منظور از استرپتوزوتوسين با دوز ۶۵ ميلي گرم بر كيلوگرم وزن بدن در بافر سدیم سترات ۰/۱ مولار و pH برابر با ۴/۵ به صورت درون صفاقي (Intraprotaneal) يا استفاده گرديد و ۷۲ ساعت پس از تزريق استرپتوزوتوسين و اندازه گيري گلوکز خون حيوانات، تنها موش های صحرايي که گلوکز خون آن ها ≥ 15 ميلي مول بر ليتر بود (۲۲)، استفاده شدند. موش های مبتلا به ديابت به طور تصادفي به دو گروه بدون درمان و تحت درمان و در هر گروه ۱۵ سر تقسيم گرديدند. موش های سالم پس از تزريق بافر سترات بدون استرپتوزوتوسين مانند موش های مبتلا به ديابت به دو گروه بدون درمان و تحت درمان و در هر گروه ۱۰ سر تقسيم شدند. موش های سالم و مبتلا به ديابت يك هفته پس از تزريق و اثبات ديابت تحت تیمار با گلايسين (سيگما-آلمان) ۱ درصد در آب خوراكي (۱۹) و ليزين (سيگما-آلمان) ۰/۱ درصد در آب خوراكي (۲۰) قرار گرفتند.

اندازه گيري گلوکز سرم و محصولات نهایی گليکيه

ميزان گلوکز سرم بر اساس روش رنگ سنجی آنزيمي (ELITech, SEES, France) و با استفاده از اتوآنالایزر مدل بيوتکنیکا (Biotechnica, Rome, Italy) BT ۳۵۰۰ تعيين شد. برای اندازه گيري مقدار محصولات نهایی گليکيه شده (AGEs) سرم، بر اساس روش Kalousova و همکاران (۲۳)، نمونه سرم به نسبت ۱ به ۵۰ توسط بافر فسفات با pH = ۷/۴ رقيق شد. سپس شدت فلورسانس در طول موج نشري ۴۴۰ نانومتر با طول موج تحريکی ۳۵۰ نانومتر توسط اسپكتروفلوريمتر شيماتزو مدل ۵۰۰۰ (Shimadzu, Kyoto, Japan) RF ثبت و به صورت درصد نشر فلورسانس (Fluorescence intensity يا FI) بيان گرديد.

(۱۷). در همين راستا مطالعات مرتبط با اسيد آمينه گلايسين نشان داد که اين اسيد آمينه موجب کاهش ميزان کليسترو، قند خون و هموگلوبين گليکيه شده در موش های مبتلا به ديابت می شود (۱۸). در مطالعه ای بيان شد که گلايسين خوراکی می تواند موجب کاهش محصولات نهایی گليکيه، کنترل قند خون و به تأخير افتادن شروع آب مرواريد وابسته به ديابت و کاهش ميزان پيشرفت آن در رت های مبتلا به ديابت نوع ۱ از طريق مهار استرس اکسيداتي و مسير پلي اول شود (۱۹).

نقش اسيد آمينه ليزين نيز به عنوان مهار کننده گليکيه شدن پروتئين ها و ملازم شيميایي در بهبود فعاليت و تاخوردگی پروتئين ها در مدل رت های مبتلا به ديابت نوع ۱ القا شده با استرپتوزوتوسين مؤثر بود. ليزين اثری روی سطح سرمی انسولين ندارد، اما قادر است برخی از شاخص های مرتبط با ديابت را بهبود بخشد (۲۰). در مطالعه ديگري گزارش شد که تجویز ليزين می تواند ميزان گليکيه شدن کلاژن غشای پایه گلوامرولی و آلبومين ادراری را در رت های مبتلا به ديابت کاهش دهد (۲۱). با در نظر گرفتن عملکرد مطلوب هر دو اسيد آمينه در کاهش عوارض ديابت و کند کردن روند پيشرفت برخی از عوارض، در اين مطالعه به بررسی تأثير اين دو ترکیب بر ميزان بيان دو ژن RAGE و TGFβ به عنوان شاخص های اصلی در بروز عارضه برگشت ناپذير نفروپاتی ديابتي (در ديابت نوع ۱) پرداخته شد.

روش بررسی

در مطالعه حاضر موش های صحرايي ويستار جنس نر به مدت ۴ هفته جهت سازگار شدن با محيط آزمایشگاه و رسيدن به میانگين وزنی مورد نظر ($227/9 \pm 14/2$ گرم) نگهداری و سپس به طور تصادفي به دو گروه تقسيم شدند. گروه اول با تزريق ترکیب استرپتوزوتوسين به ديابت مبتلا

اندازه‌گیری تغییرات میزان بیان ژن RAGE و TGFβ

پس از ۱۲ هفته تیمار با گلايسين و ليزين، رت‌ها توسط کتامین بیهوش و سپس کشته شدند. به منظور استخراج RNA (Ribonucleic acid) کل بافت با استفاده از ترايزول، مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه کلیه در ۱ میلی‌لیتر ترايزول روی یخ هموژن گردید. سپس در ۱۲۰۰۰g و ۴ دمای درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به ازای هر ۱ میلی‌لیتر ترايزول اولیه، ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به محلول رویی افزوده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰g و ۴ دمای درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. به فاز آبی حاوی RNA، ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل اضافه و پس از انکوبه شدن در دمای اتاق در ۱۲۰۰۰g و ۴ دمای درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. رسوب RNA حاصل با ۱ میلی‌لیتر اتانول ۷۵ درصد شستشو داده شد و پس از سانتریفیوژ در ۷۵۰۰g و ۴ دمای درجه سانتی‌گراد، در ۵۰ میکرولیتر آب عاری از نوکلئاز حل شد. بررسی کمی RNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ (Thermo scientific Nano drop 2000c Spectrophotometer, USA) و بررسی کیفی آن توسط الکتروفورز روی ژل آگاروز ۲ درصد انجام گرفت.

بلافاصله پس از استخراج RNA، ساخت DNA مکمل (Complementary DNA) توسط پرایمر ۱۵ oligo-p (dt) و AMV reverse transcriptase و سپس تکثیر قطعه موردنظر [واکنش PCR (Polymerase chain reaction)] با استفاده از پروتکل پیشنهادی شرکت فرمتاز به ترتیب توسط RevertAid H Minus First St cDNA Syn Kit, Fermentase, Germany و PCR Master Mix(2x)-2, Fermentase, Germany. توسط دستگاه Thermal cycler (Bio Rad-USA) انجام شد. برای اندازه‌گیری نسبت میزان بیان ژن‌ها از کنترل داخلی (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase) GAPDH استفاده گردید. پرایمرهای مناسب برای ژن RAGE و

TGFβ کنترل داخلی توسط نرم‌افزارهای Oligo نسخه ۶ و Gene Runner طراحی شدند.

توالی پرایمرها برای ژن RAGE شامل CACTGGATAAAAAGATGGCAC-۵' پرایمر رهبر و GAGTCTGGGTTGTCGTTTTT-۵' پرایمر پیرو (اندازه محصول ۳۰۳ جفت باز - Gene Bank: NC_005119)، TCAGCTCCACAGAGAAGAACTG-۵' پرایمر رهبر و CGATCATGTTGGACAACTGCTC-۵' پرایمر پیرو برای ژن TGFβ (اندازه محصول ۲۹۴ جفت باز - Gene Bank: NC_005100) و AACGACCCCTTCATTGAC-۵' پرایمر رهبر و TCCACGACATACTCAGCAC-۵' پرایمر پیرو برای ژن GAPDH (اندازه محصول ۱۹۱ جفت باز - Gene Bank: NC_005103) بود.

مراحل چرخه دمایی به این صورت انجام شد: دمای ابتدایی جدا شدن دو رشته ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، جدا شدن دو رشته در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، هیبرید شدن پرایمرها به ژن‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ژن TGFβ، دمای ۵۳ درجه سانتی‌گراد برای ژن RAGE و در هر دو دمای ۵۳ و ۶۰ درجه سانتی‌گراد برای ژن GAPDH به مدت ۴۵ ثانیه به تعداد ۳۴ چرخه، دمای پیشروی آنزیم پلی‌مراز ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و دمای پیشروی نهایی آنزیم ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. پس از انجام واکنش PCR، محصولات برای اطمینان از تکثیر قطعه موردنظر و تعیین کمیت آن بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد برده شد و به وسیله دستگاه ژل داک بررسی گردید. در نهایت دانسیته باندهای ظاهر شده به وسیله یک نرم‌افزار آنالیز ژن (Fire reader) بررسی و اندازه‌گیری شد. میزان دانسیته ژن مورد مطالعه نسبت به کنترل داخلی به صورت درصد مبنای تغییرات میزان بیان ژن‌ها در مقایسه با گروه شاهد طبیعی قرار داده شد (۲۴، ۲۵).

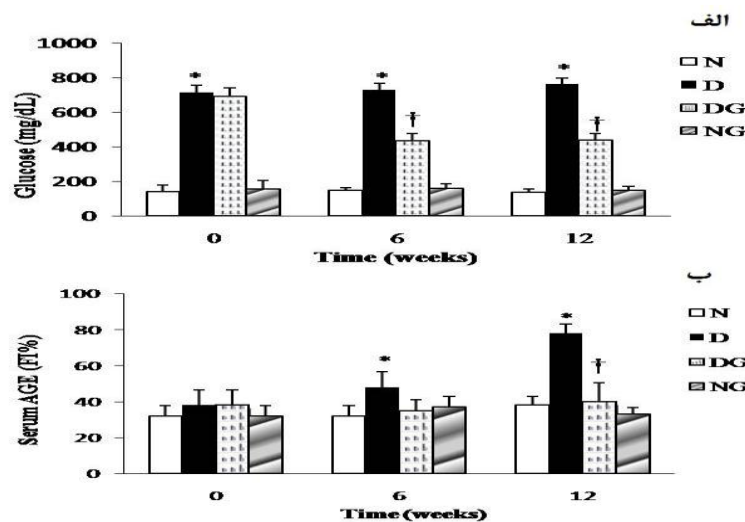
میزان گلوکز خون سرم در گروه‌های مبتلا به دیابت در ابتدای مطالعه بالاتر از میزان آن در گروه‌های سالم بود. پس از تجویز گلاسیسین به یک گروه از افراد مبتلا به دیابت، میزان غلظت گلوکز به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار کاهش یافت ($P < 0.05$). در شکل ۱، قسمت ب میزان تشکیل محصولات نهایی گلیکته در رت‌های مبتلا به دیابت تا انتهای مطالعه در مقایسه با سه گروه دیگر به تدریج افزایش یافت؛ اما میزان AGEs در سرم رت‌هایی که گلاسیسین دریافت کرده بودند، کاهش معنی‌داری پیدا کرد و مقدار آن به گروه‌های سالم نزدیک شد ($P < 0.05$).

تمام داده‌ها و نمودارها به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. داده‌های حاصل در گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون‌های ANOVA یک طرفه و Tukey (version 18, SPSS Inc., Chicago, IL) نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۸ تجزیه و تحلیل گردید. $P < 0.05$ مبنای معنی‌داری اختلاف بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی میزان گلوکز خون و AGEs سرم

شکل ۱، قسمت الف تغییرات میزان گلوکز خون سرم در گروه رت‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار با گلاسیسین و رت‌های بدون تیمار را در مدت انجام مطالعه نشان می‌دهد.



شکل ۱. قسمت الف: تغییرات میزان گلوکز خون در اثر تیمار با گلاسیسین و قسمت ب: تغییرات میزان محصولات نهایی گلیکته شده پیشرفته سرم در اثر تیمار با گلاسیسین

N: رت‌های سالم، D: رت‌های مبتلا به دیابت، DG: رت‌های مبتلا به دیابت تیمار شده با گلاسیسین، NG: رت‌های سالم تیمار شده با گلاسیسین

* وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مبتلا به دیابت و گروه‌های سالم ($P < 0.05$)

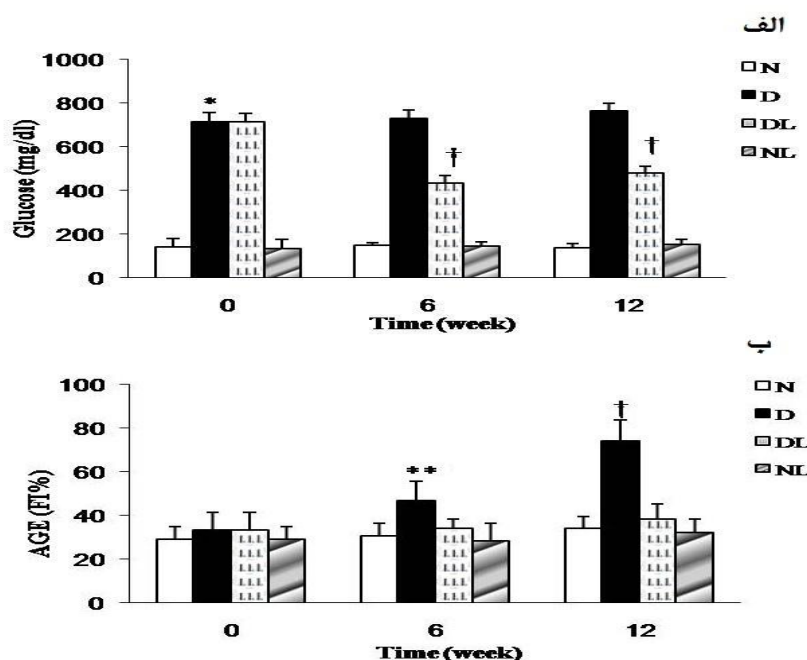
† وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه مبتلا به دیابت و گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با گلاسیسین ($P < 0.001$)

مدت ۱۲ هفته بالاتر از گروه سالم بود و با تجویز لیزین به گروه رت‌های مبتلا به دیابت میزان آن به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار

نمودار تغییرات میزان گلوکز خون سرم در گروه رت‌های مبتلا به دیابت و سالم تحت تیمار با لیزین نشان داد که میزان گلوکز خون در رت‌های مبتلا به دیابت طی

دیابت به طور معنی داری بیشتر از سایر گروه‌ها بود ($P < 0/001$) و تجویز لیزین سبب کاهش معنی دار این شاخص در رت‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار شد ($P < 0/001$) (شکل ۲، قسمت ب).

کاهش یافت ($P < 0/05$) (شکل ۲، قسمت الف). میزان AGEs سرمی نیز از زمان شروع مطالعه تا انتهای آن به تدریج در گروه مبتلا به دیابت افزایش یافت؛ به گونه‌ای که در پایان ۱۲ هفته مطالعه، میزان AGEs گروه مبتلا به



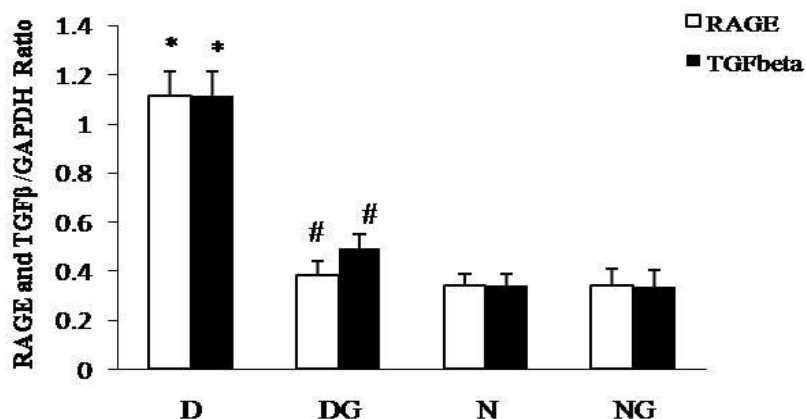
شکل ۲. قسمت الف: تغییرات میزان گلوکز خون در اثر تیمار با لیزین و قسمت ب: تغییرات میزان محصولات نهایی گلیکته شده پیشرفته سرم در اثر تیمار با لیزین

N: رت‌های سالم، D: رت‌های مبتلا به دیابت، DL: رت‌های مبتلا به دیابت تیمار شده با لیزین، NL: رت‌های سالم تیمار شده با لیزین
* وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مبتلا به دیابت و گروه‌های سالم ($P < 0/05$)
** وجود اختلاف معنی دار بین گروه‌های مبتلا به دیابت و گروه‌های سالم ($P < 0/001$)
† معنی داری تفاوت بین گروه مبتلا به دیابت با گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزین ($P < 0/001$)

نتایج در رابطه با تغییرات بیان ژن TGF β در گروه مبتلا به دیابت و گروه تحت تیمار با گلایسین به دست آمد؛ در حالی که میزان بیان ژن TGF β در گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار افزایش معنی داری داشت ($P < 0/001$). میزان بیان این ژن در گروه‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار با گلایسین نسبت به گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار کاهش معنی داری را نشان داد ($P < 0/001$) (شکل‌های ۳ و ۴).

بررسی تغییرات بیان ژن RAGE و TGF β

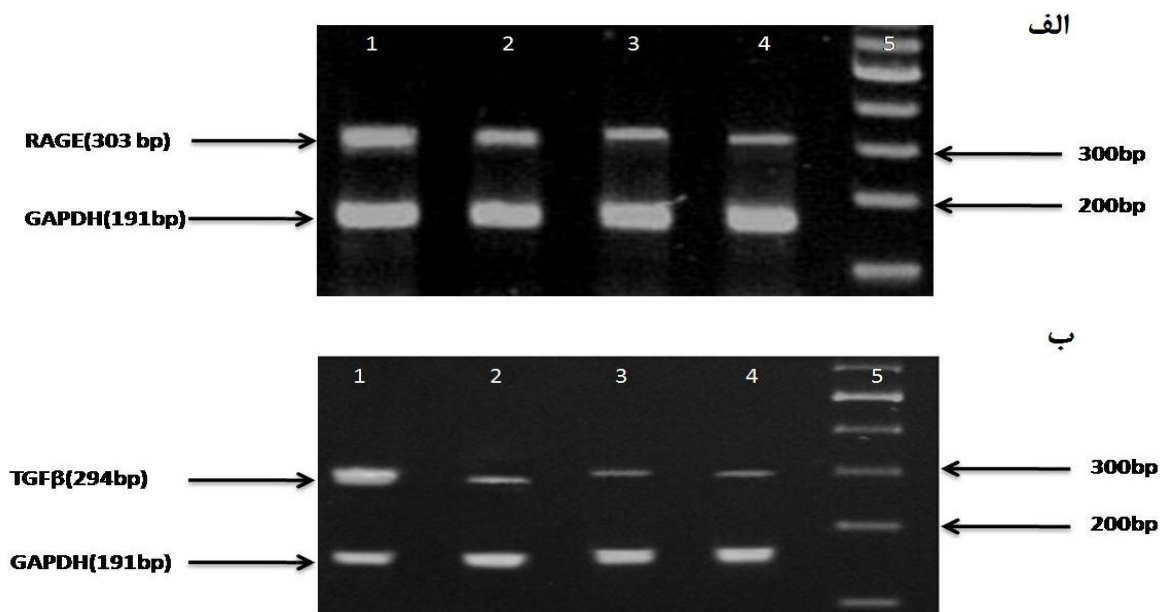
در انتهای مطالعه میزان بیان ژن RAGE در گروه رت‌هایی که مبتلا به دیابت بودند، نسبت به سایر گروه‌ها افزایش یافت ($P < 0/001$) و کاهش معنی داری در میزان بیان آن در رت‌های مبتلا به دیابت دریافت کننده گلایسین در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت مشاهده گردید و میزان آن به گروه‌های سالم نزدیک شد ($P < 0/001$). همین



شکل ۳. مقایسه تغییرات بیان ژن *RAGE* (Receptor of advanced glycation end products) و *TGFβ* (Transforming growth factor beta) نسبت به کنترل داخلی *GAPDH* (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) در بافت کلیه رت‌های سالم، مبتلا به دیابت و رت‌های سالم و مبتلا به دیابت تیمار شده با گلاسیسین

D: رت‌های مبتلا به دیابت، DG: رت‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار با گلاسیسین، N: رت‌های سالم، NG: رت‌های سالم تحت تیمار با گلاسیسین
* وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با سایر گروه‌ها ($P < 0.001$)

وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه مبتلا به دیابت تیمار شده با گلاسیسین در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار ($P < 0.001$)

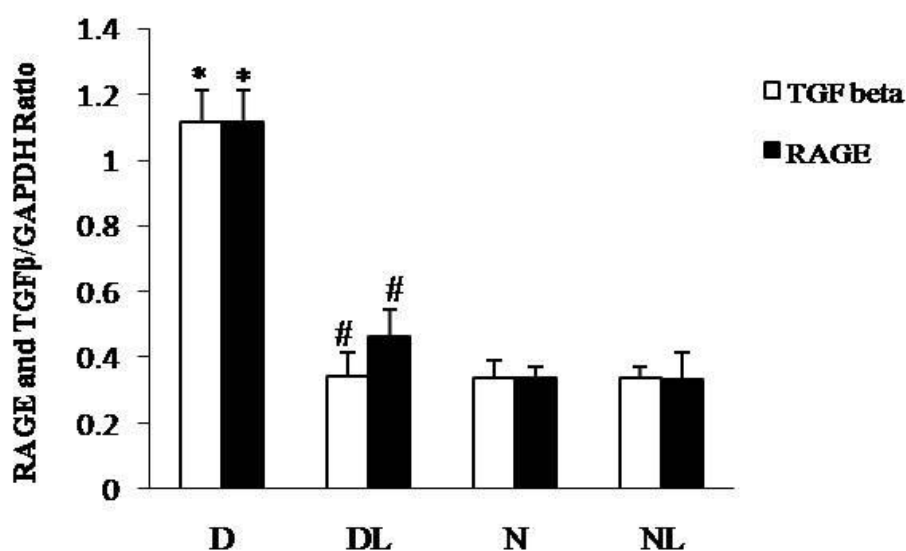


شکل ۴. الکتروفورز روی ژل آگارز مربوط به محصول *PCR* (Polymerase chain reaction): قسمت الف: تکثیر قطعه ژنی *RAGE* (Receptor of advanced glycation end products) و کنترل داخلی *GAPDH* (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) و قسمت ب: تکثیر قطعه ژنی *TGFβ* (Transforming growth factor beta) و کنترل داخلی *GAPDH*

ستون ۱: گروه مبتلا به دیابت، ستون ۲: گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با گلاسیسین، ستون ۳: گروه سالم، ستون ۴: گروه سالم تیمار شده با گلاسیسین، ستون ۵: نشانگر جایگاه وزنی باندها

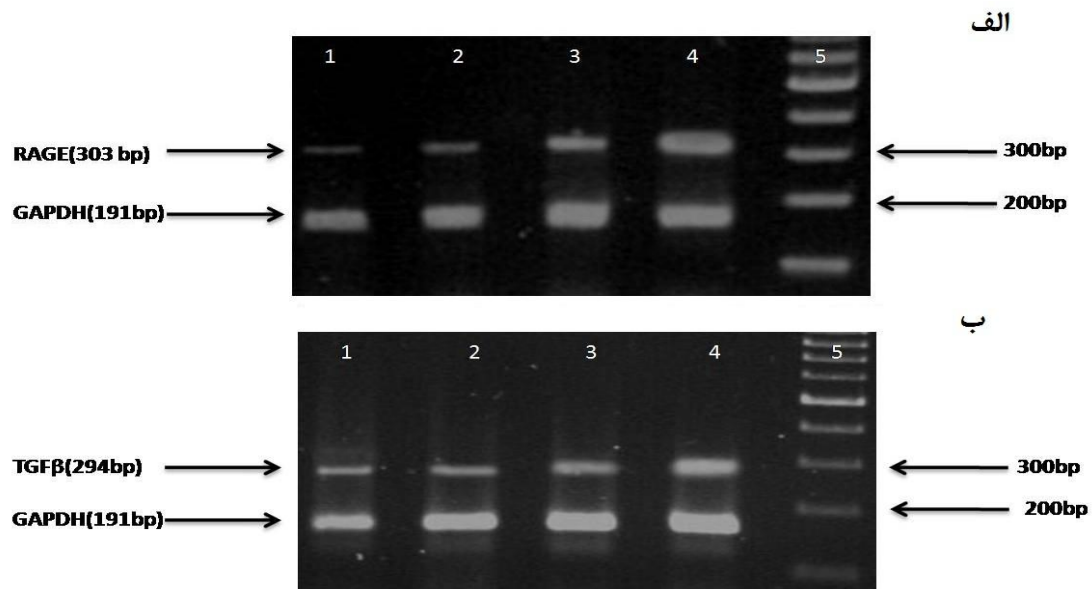
رت‌های مبتلا به دیابت که لیزین دریافت کردند با کاهش معنی‌دار نسبت به گروه مبتلا به دیابت همراه بود و میزان بیان ژن TGF β در اثر دیابت افزایش معنی‌داری را نسبت به سایر گروه‌ها نشان داد. تیمار گروه‌های سالم با گلايسين و ليزين هيچ گونه تغيير معنی‌داری در میزان بیان ژن‌های RAGE و TGF β در مقایسه با گروه سالم بدون تیمار نداشت ($P > 0.05$) (شکل‌های ۵ و ۶).

ادامه روند دیابت تا ۱۲ هفته در رت‌های مبتلا به دیابت بدون تیمار که سبب شده بود میزان بیان ژن RAGE در این گروه نسبت به سایر گروه‌ها افزایش معنی‌داری پیدا کند ($P < 0.001$)، در گروه شاهد تحت درمان با لیزین نتایج دیگری را نشان داد و تیمار رت‌های مبتلا به دیابت با لیزین منجر به کاهش معنی‌دار این ژن در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار شد. میزان بیان ژن TGF β در گروه



شکل ۵. مقایسه تغییرات بیان ژن RAGE (Receptor of advanced glycation end products) و TGF β (Transforming growth factor beta) نسبت به کنترل داخلی GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) در بافت کلیه رت‌های سالم، مبتلا به دیابت و رت‌های سالم و مبتلا به دیابت تیمار شده با لیزین

D: رت‌های مبتلا به دیابت، DL: رت‌های مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزین، N: رت‌های سالم، NL: رت‌های سالم تحت تیمار با لیزین
* وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با سایر گروه‌ها ($P < 0.001$)
وجود اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های مبتلا به دیابت تیمار شده با لیزین در مقایسه با گروه مبتلا به دیابت بدون تیمار ($P < 0.001$)



شکل ۶. الکتروفورز روی ژل آگارز مربوط به محصول PCR (Polymerase chain reaction): قسمت الف: تکثیر قطعه ژنی RAGE (Receptor of advanced glycation end products) و کنترل داخلی GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) و قسمت ب: تکثیر قطعه ژنی TGFβ (Transforming growth factor beta) و کنترل داخلی GAPDH

ستون ۱: گروه سالم بیمار شده با لیزین، ستون ۲: گروه سالم، ستون ۳: گروه مبتلا به دیابت تحت تیمار با لیزین، ستون ۴: گروه مبتلا به دیابت، ستون ۵: نشانگر جایگاه وزنی باندها

بحث

می‌شوند که دلیل اصلی آن کنترل نامناسب قند خون است. افزایش قند خون به طرق مختلفی موجب ایجاد نوروپاتی دیابتی می‌شود که از میان آن‌ها می‌توان به تولید محصولات نهایی گلیک و واکنش با گیرنده آن اشاره کرد (۲). ملازم‌های شیمیایی نیز از جمله ترکیباتی هستند که با تغییر در وضعیت یونی، حرارت، pH و همچنین استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش قند خون می‌توانند مانع از تجمع محصولات گلیک و شکل‌گیری ناصحیح پروتئین‌ها شوند (۲۶). اثر کاهندگی میزان گلوکز و محصولات نهایی گلیک سرم توسط گلیسین ۱ درصد و لیزین ۰/۱ درصد پس از تنها ۶ هفته تیمار در رت‌های مبتلا به دیابت در مطالعه حاضر مشاهده شد و تا انتهای ۱۲ هفته ادامه یافت. این یافته همسو با نتایجی است که در مطالعات پیشین در این خصوص صورت گرفته است (۲۰، ۱۹).

در مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار گلوکز خون، محصولات نهایی گلیک سرم، گیرنده محصولات نهایی گلیک و فاکتور رشد تبدیلی بتا در بافت کلیه رت‌های مبتلا به دیابت شده با استرپتوزوتوسین در اثر سه ماه تیمار با اسیدهای آمینه گلیسین و لیزین خوراکی در مقایسه با سایر گروه‌ها مشاهده شد. با تجویز ملازم‌های شیمیایی گلیسین و لیزین (به علت داشتن گروه‌های آمین موجود در ساختار خود) بین گروه سالم و گروه سالمی که گلیسین و لیزین دریافت کردند، در هیچ کدام از شاخص‌ها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد. بنابراین دوز انتخابی برای گلیسین و لیزین فارغ از اثرات سمی بود.

۲۵-۱۵ درصد افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ و ۴۰-۳۰ درصد افراد مبتلا به دیابت نوع دو دچار نوروپاتی دیابتی

لیزین اضافه‌ای که به کبد وارد شده است با مقدار بیشتری از آلفا کتوگلو تارات حاصل از متابولیسم گلوکز کاتابولیزه می‌گردد و بنابراین می‌توان انتظار داشت که میزان گلوکز خون و محصولات گلیک که کاهش یابد (۲۰).

بررسی اثر گلایسین و لیزین خوراکی در مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار میزان بیان ژن‌های RAGE و TGFβ را در بافت کلیه رت‌های مبتلا به دیابت در مقایسه با گروه شاهد نشان داد. نمونه موفقیت‌آمیز اثر تجویز گلایسین و لیزین در کاهش گلوکز سرم، مهار گلیک که شدن پروتئین‌ها و تشکیل اتصالات عرضی در آلفا کریستالین لنز چشمی و جلوگیری از آب مروارید دیابتی در رت‌ها می‌باشد و نشان می‌دهد که گلایسین و لیزین به دلیل کاهش که در میزان گلوکز خون و محصولات نهایی گلیک که ایجاد کرده‌اند، می‌توانند در جلوگیری از فعال شدن مسیرهای نفروپاتی دیابتی مؤثر باشند (۲۲، ۱۹).

در جستجوهای صورت گرفته مطالعه‌ای مبنی بر اثر این دو اسید آمینه بر روی بیان ژن‌های مورد مطالعه یافت نشد، اما مطالعات متعددی اثرات محافظتی گلایسین و لیزین را روی بافت کلیه نشان داده‌اند. گلایسین با دوز مناسب موجب کاهش گلیک که شدن غشای پایه گلو مری و کاهش نفروپاتی دیابتی می‌گردد (۳۱). مطالعه مورفولوژی سلول‌های کلیوی رت‌های تیمار شده با گلایسین حاکی از ضخامت کمتر کلیه و اسکروزه شدن آن در مقایسه با رت‌های مبتلا به دیابت درمان شده است. همچنین محصولات نهایی گلیک که شده بر روی اسکروزه شدن نفرون‌ها و افزایش ساخت کلاژن نوع چهار اثر مثبتی دارند و کاهش اسکروزه شدن بافت کلیه ناشی از اثرات کاهش بر روی گلیک که شدن پروتئین‌ها می‌باشد (۲۷). اثر مثبت گلایسین در کاهش فیروزه شدن بافت کبد به دنبال

پیش از این در مطالعه دیگری، تجویز گلایسین با دوز ۱ درصد به مدت ۶ ماه در رت‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ موجب کاهش میزان هموگلوبین گلیک که و بهبود پروفایل لیپیدی و همچنین کاهش میزان افزایش حجم غشای پایه گلو مری در بافت کلیه شد و بر همین اساس گزارش شد که گلایسین به دلیل خاصیت ضد گلیک که کنندگی خود می‌تواند از عوارض دیابت جلوگیری کند (۱۸). کاهش میزان AGE‌های سرمی، HbA1c (Hemoglobin A1c) و فروکتوز آمین حتی پس از ۲۵ روز تیمار با گلایسین خوراکی در موش‌های مبتلا به دیابت نوع ۱ نیز مشاهده شده است (۲۷).

لیزین نیز علاوه بر کاهش گلوکز سرم، AGE‌های سرمی و HbA1c، با افزایش سطح پروتئین شوک حرارتی در شرایط استرس‌زای دیابت می‌تواند به عنوان ملازم شیمیایی در شرایط دیابت عمل کند (۲۰). مکانیسم عمل گلایسین و لیزین در کاهش قند خون به خوبی مشخص نیست، اما ممکن است این اثر به دلیل واکنش بین گلوکز و این دو اسید آمینه باشد (۲۸). اثر افزایش پاسخ به انسولین در پاسخ به تجویز گلایسین مشاهده شده است (۲۹). گلایسین خوراکی به طور مستقیم و یا غیر مستقیم با تحریک ترشح هورمون روده‌ای، برداشت گلوکز از گردش خون توسط انسولین را تقویت و اثر گلوکاگون در تولید گلوکز اندوژن را مهار می‌کند (۳۰). علاوه بر این، گلایسین به صورت رقابتی به گلوکز متصل می‌شود و با تولید گلوکوزیل - گلایسین روند ایجاد محصولات گلیک که را مهار می‌کند (۲۷). متابولیسم لیزین نیز می‌تواند مسوول کاهش میزان گلوکز و محصولات نهایی گلیک که در مطالعه حاضر باشد. در مسیر کاتابولیسم لیزین در کبد، آلفا کتوگلو تارات به عنوان کوسوبسترا مصرف می‌شود.

بین زیرواحدهای فیبرینوژن در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در شرایط آزمایشگاهی (۳۸) نشان دهنده ارتباط معنی دار بین کاهش گلوکز خون و محصولات نهایی گلیکته و کاهش تظاهرات بالینی نفروپاتی دیابتی در اثر تجویز لیزین خوراکی و پتانسیل بالای لیزین در کاهش عوارض دیابت می باشد. با توجه به مطالعات مذکور، کاهش بیان ژن های RAGE و TGFβ در بافت کلیه رت های مبتلا به دیابت نیز می تواند به دلیل کاهش محصولات نهایی گلیکته و گلوکز خون در اثر دریافت لیزین در مطالعه حاضر باشد.

مطالعات نشان داده اند، ترکیباتی که مانع از گلیکته شدن و ایجاد اتصالات عرضی در پروتئین ها می شوند موجب کاهش بیان گیرنده محصولات نهایی گلیکته و نیز TGFβ در بافت کلیه شده، از پیشرفت نفروپاتی جلوگیری می کنند (۴۱-۳۹). به کار گرفتن ملازم های شیمیایی گلیسین و لیزین در مطالعه حاضر توانست میزان گلوکز خون و محصولات نهایی گلیکته سرمی را کاهش دهد. به احتمال زیاد کاهش میزان بیان RAGE و TGFβ در مطالعه حاضر را می توان به کاهش میزان AGEs سرمی و قند خون رت های مبتلا به دیابت نسبت داد. از آنجایی که ملازم های شیمیایی ترکیبات طبیعی مطابق با شرایط فیزیولوژیکی بدن انسان هستند و واکنش ایمنی ایجاد نمی کنند، بنابراین عوارض ایمونولوژیک ناشی از ترکیبات مصنوعی را ندارند (۴۳)، (۴۲). با توجه به اثبات غیر سمی بودن گلیسین و لیزین خوراکی در مطالعه حاضر، می توان از آنها با اطمینان بیشتری در اهداف درمانی دیابت استفاده کرد و به عنوان گزینه ای برای جلوگیری از بروز و پیشرفت نفروپاتی دیابتی مورد بررسی قرار داد.

کاهش میزان TGFβ سرمی و بافتی و همچنین کاهش ساخت کلاژن نوع آلفا یک در نمونه های آزمایشگاهی نیز مشاهده شده است (۳۳، ۳۲).

یکی از دلایل روشن شدن مسیر التهابی توسط TGFβ، به وجود آمدن گونه های فعال اکسیژن علاوه بر سایر عوامل است (۳۴). از آنجایی که مصرف گلیسین از ایجاد هیپوکسی و تشکیل رادیکال های آزاد ممانعت به عمل می آورد و با اثر بر سلول های التهابی مانند ماکروفاژها مانع از فعال شدن سیتوکین های التهابی می گردد (۳۵)، می توان گفت که گلیسین ممکن است اثرات مطلوب خود را از طریق فعال سازی کانال های کلریدی که در غشای پلاسمایی قرار دارند، اعمال کند و با کاهش میزان کلسیم سیتوزولیک در سلول های کوپفر کبد و سلول های سفید موجب کاهش فعالیت سلول های سیستم ایمنی شامل ماکروفاژها، نوتروفیل ها و لنفوسیت ها شود و به دنبال آن تولید مولکول های التهابی مانند سیتوکین ها و ایکوزانوئیدها را کاهش دهد (۳۶، ۳۲). در مطالعه حاضر نیز این مکانیسم ها با احتمال بالایی منجر به کاهش بیان TGFβ در بافت کلیه رت های مبتلا به دیابت تیمار شده با گلیسین گردید.

اثرات درمانی لیزین در دیابت نیز شبیه به گلیسین است. کاهش میزان گلیکته شدن کلاژن غشای پایه گلوامرولی و میزان آلبومین ادراری در رت های مبتلا به دیابت (۲۱)، کاهش میزان پاک سازی گلوامرولی، پاک سازی اسید هیپوریک و پروتئین ادراری همراه با کاهش معنی دار سطح گلوکز پلاسما در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ (۳۷) و همین طور کاهش اتصالات عرضی

References

1. Rathmann W, Giani G. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27(10): 2568-9.
2. Remuzzi G, Schieppati A, Ruggenti P. Clinical practice. Nephropathy in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2002; 346(15): 1145-51.
3. Stitt AW. Advanced glycation: an important pathological event in diabetic and age related ocular disease. *Br J Ophthalmol* 2001; 85(6): 746-53.
4. Tan AL, Forbes JM, Cooper ME. AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2007; 27(2): 130-43.
5. Kanwar YS, Wada J, Sun L, Xie P, Wallner EI, Chen S, et al. Diabetic nephropathy: mechanisms of renal disease progression. *Exp Biol Med (Maywood)* 2008; 233(1): 4-11.
6. Ward DT, Yau SK, Mee AP, Mawer EB, Miller CA, Garland HO, et al. Functional, molecular, and biochemical characterization of streptozotocin-induced diabetes. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12(4): 779-90.
7. Ziyadeh FN. Mediators of diabetic renal disease: the case for tgf-Beta as the major mediator. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(Suppl 1): S55-S57.
8. Thallas-Bonke V, Lindschau C, Rizkalla B, Bach LA, Boner G, Meier M, et al. Attenuation of extracellular matrix accumulation in diabetic nephropathy by the advanced glycation end product cross-link breaker ALT-711 via a protein kinase C-alpha-dependent pathway. *Diabetes* 2004; 53(11): 2921-30.
9. Zhu Y, Shu T, Lin Y, Wang H, Yang J, Shi Y, et al. Inhibition of the receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) protects pancreatic beta-cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404(1): 159-65.
10. Flyvbjerg A, Denner L, Schrijvers BF, Tilton RG, Mogensen TH, Paludan SR, et al. Long-term renal effects of a neutralizing RAGE antibody in obese type 2 diabetic mice. *Diabetes* 2004; 53(1): 166-72.
11. Myint KM, Yamamoto Y, Doi T, Kato I, Harashima A, Yonekura H, et al. RAGE control of diabetic nephropathy in a mouse model: effects of RAGE gene disruption and administration of low-molecular weight heparin. *Diabetes* 2006; 55(9): 2510-22.
12. Gill PS, Wilcox CS. NADPH oxidases in the kidney. *Antioxid Redox Signal* 2006; 8(9-10): 1597-607.
13. Li JM, Shah AM. ROS generation by nonphagocytic NADPH oxidase: potential relevance in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14(8 Suppl 3): S221-S226.
14. Tanji N, Markowitz GS, Fu C, Kislinger T, Taguchi A, Pischetsrieder M, et al. Expression of advanced glycation end products and their cellular receptor RAGE in diabetic nephropathy and nondiabetic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11(9): 1656-66.
15. Anuradha CV. Aminoacid support in the prevention of diabetes and diabetic complications. *Curr Protein Pept Sci* 2009; 10(1): 8-17.
16. Huang KH, Pai MH, Wu CH, Liu JJ, Yeh SL. Supplemental dietary arginine reduces renal RAGE expression and oxidative

- damage in rats with streptozotocin-induced type 2 diabetes. *e-SPEN the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism* 2010; 5(2): e77-e84.
17. Mahdavi S, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Heidarzadeh H. l-cysteine is a potent inhibitor of protein glycation on both albumin and LDL, and prevents the diabetic complications in diabetic-atherosclerotic rat. *Food Research International* 2014; 62: 909-16.
 18. Alvarado-Vasquez N, Zamudio P, Ceron E, Vanda B, Zenteno E, Carvajal-Sandoval G. Effect of glycine in streptozotocin-induced diabetic rats. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2003; 134(4): 521-7.
 19. Bahmani F, Bathaie SZ, Aldavood SJ, Ghahghaei A. Glycine therapy inhibits the progression of cataract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Mol Vis* 2012; 18: 439-48.
 20. Jafarnejad A, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Hassan MZ, Banasadeh S. The improvement effect of L-Lys as a chemical chaperone on STZ-induced diabetic rats, protein structure and function. *Diabetes Metab Res Rev* 2008; 24(1): 64-73.
 21. Jyothirmayi GN, Modak R, Reddi AS. L-lysine reduces nonenzymatic glycation of glomerular basement membrane collagen and albuminuria in diabetic rats. *Nephron* 2001; 87(2): 148-54.
 22. Bahmani F. Mechanisms of the effects of chemical chaperones on prevention of cataract in diabetic rats and their inhibitory effects on related-proteins' glycation [Thesis]. Tehran, Iran: Tarbiat Modares University 2012. [In Persian].
 23. Kalousova M, Skrha J, Zima T. Advanced glycation end-products and advanced oxidation protein products in patients with diabetes mellitus. *Physiol Res* 2002; 51(6): 597-604.
 24. Ashrafi M, Bathaie SZ, Abroun S. High Expression of Cyclin D1 and p21 in N-Nitroso-N-Methylurea-Induced Breast Cancer in Wistar Albino Female Rats. *Cell J* 2012; 14(3): 193-202.
 25. Hoshyar R, Bathaie SZ, Sadeghizadeh M. Crocin triggers the apoptosis through increasing the Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in human gastric adenocarcinoma, AGS, cells. *DNA Cell Biol* 2013; 32(2): 50-7.
 26. Jafarnejad A, Bathaie SZ, Nakhjavani M, Hassan MZ. Effect of spermine on lipid profile and HDL functionality in the streptozotocin-induced diabetic rat model. *Life Sci* 2008; 82(5-6): 301-7.
 27. Arreortua Noe S, Mario GL, Reyes GD, Edgar Iván VJ, Francisco Javier AA, José Luis O. Effect of Glycine on Protein Oxidation and Advanced Glycation End Products Formation. *Journal of Experimental & Clinical Medicine* 2013; 5(3): 109-14.
 28. Ramakrishnan S, Sulochana KN, Punitham R. Two new functions of inositol in the eye lens: antioxidation and antiglycation and possible mechanisms. *Indian J Biochem Biophys* 1999; 36(2): 129-33.
 29. Gonzalez-Ortiz M, Medina-Santillan R, Martinez-Abundis E, von Drateln CR. Effect of glycine on insulin secretion and action in healthy first-degree relatives of type 2 diabetes mellitus patients. *Horm Metab Res* 2001; 33(6): 358-60.

30. Gannon MC, Nuttall JA, Nuttall FQ. The metabolic response to ingested glycine. *Am J Clin Nutr* 2002; 76(6): 1302-7.
31. Alvarado-Vasquez N, Lascurain R, Ceron E, Vanda B, Carvajal-Sandoval G, Tapia A, et al. Oral glycine administration attenuates diabetic complications in streptozotocin-induced diabetic rats. *Life Sci* 2006; 79(3): 225-32.
32. Youssef AI, Abou-Shamaa LA, Fadaly GA. Effect of Glycine and Vitamins on COX-2, TNF- and TGF-1 in CCl4 Induced Liver Fibrosis. *Journal of the Medical Research Institute* 2006; 27(3): 215-23.
33. Rivera CA, Bradford BU, Hunt KJ, Adachi Y, Schrum LW, Koop DR, et al. Attenuation of CCl(4)-induced hepatic fibrosis by GdCl(3) treatment or dietary glycine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281(1): G200-G207.
34. Leask A, Abraham DJ. TGF-beta signaling and the fibrotic response. *FASEB J* 2004; 18(7): 816-27.
35. Zhong Z, Wheeler MD, Li X, Froh M, Schemmer P, Yin M, et al. L-Glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6(2): 229-40.
36. Ikejima K, Iimuro Y, Forman DT, Thurman RG. A diet containing glycine improves survival in endotoxin shock in the rat. *Am J Physiol* 1996; 271(1 Pt 1): G97-103.
37. De CS, Earle K, Morocutti A, Walker J, Ruggenti P, Remuzzi G, et al. Glucose-induced changes in renal haemodynamics in proteinuric type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: inhibition by acetylsalicylic acid infusion. *Diabetologia* 1993; 36(7): 622-7.
38. Mirmiranpour H, Bathaie SZ, Khaghani S, Nakhjavani M, Kebriaeezadeh A. Investigation of the mechanism(s) involved in decreasing increased fibrinogen activity in hyperglycemic conditions using L-lysine supplementation. *Thromb Res* 2012; 130(3): e13-e19.
39. Nakamura S, Li H, Adijiang A, Pischetsrieder M, Niwa T. Pyridoxal phosphate prevents progression of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(8): 2165-74.
40. Forbes JM, Thorpe SR, Thallas-Bonke V, Pete J, Thomas MC, Deemer ER, et al. Modulation of soluble receptor for advanced glycation end products by angiotensin-converting enzyme-1 inhibition in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16(8): 2363-72.
41. Lu L, Peng WH, Wang W, Wang LJ, Chen QJ, Shen WF. Effects of atorvastatin on progression of diabetic nephropathy and local RAGE and soluble RAGE expressions in rats. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12(8): 652-9.
42. Hansen PA, Waheed A, Corbett JA. Chemically chaperoning the actions of insulin. *Trends Endocrinol Metab* 2007; 18(1): 1-3.
43. Chaudhuri TK, Paul S. Protein-misfolding diseases and chaperone-based therapeutic approaches. *FEBS J* 2006; 273(7): 1331-49.

Assessment of Oral Glycine and Lysine Therapy on Receptor for Advanced Glycation End Products and Transforming Growth Factor Beta Expression in the Kidney of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats in Comparison with Normal Rats

Somayeh Sadat Heidary, M.Sc.¹, Sayedeh Zahra Bathaie, Ph.D.², Fereshteh Bahmani, Ph.D.³,
Gholamreza Moshtaghi Kashanian, Ph.D.^{4*}

1. Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour School of Medicine, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
2. Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
3. Assistant Professor, Department of Clinical Biochemistry, School of Medical Sciences, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
4. Associate Professor, Department of Clinical Biochemistry, Afzalipour School of Medicine & Physiology Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

* Corresponding author; e-mail: moshtaghik@kmu.ac.ir

(Received: 30 Dec. 2013 Accepted: 18 June 2014)

Abstract

Background & Aims: Today, diabetic nephropathy is considered to be one of the most common causes of end stage renal disease. Uncontrolled hyperglycemia, and consequently, production of advanced glycation end products activate pathways which play key roles in diabetic nephropathy. Among these pathways, high expression of receptor for advanced glycation end products (RAGE) and transforming growth factor beta (TGF β) are notable. In this study, in order to find compounds which can prevent the incidence or progression of diabetic nephropathy, we examined the effects of glycine and lysine amino acids on expression of RAGE and TGF β in kidney tissue of diabetic rats.

Methods: After rendering rats with diabetes with streptozotocin (STZ), they were divided into different groups and were treated with oral 1% glycine and 0.1% lysine in drinking water for 12 weeks. Blood glucose and serum AGEs were measured during this time. Changes in RAGE and TGF β expression were assessed by semi quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) method.

Results: Results show that both glycine and lysine administration for 12 weeks not only caused a significant reduction in blood glucose and AGEs in diabetic rats, but also led to a significant reduction in RAGE and TGF β expression in comparison to non-treated diabetic rats.

Conclusion: These results show that oral glycine and lysine, as chemical chaperones, have the ability to prevent diabetic nephropathy by decreasing RAGE and TGF β expression. This may be due to the effect of these chemical chaperones in the reduction of hyperglycemia and serum AGEs in diabetic rats. Since the positive effects of these amino acids in diabetic nephropathy have been observed in previous studies, the determination of their dose in future studies seems necessary.

Keywords: Receptor for advanced glycation end products (RAGE), Advanced glycation end products (AGEs), Glycine, Lysine, Chemical chaperones