

## اثر فلاونوئید نارینجین بر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای جدا شده از موش صحرایی دیابتی

فرامرز فلاحی<sup>۱</sup>، مهرداد روغنی<sup>۲\*</sup>، کمیل نصری<sup>۳</sup>

### خلاصه

مقدمه: با توجه به افزایش بروز بیماری‌های قلبی-عروقی در بیماری دیابت قندی و وجود شواهدی مبنی بر اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد دیابتی نارینجین، اثر مصرف خوراکی این ماده به مدت ۶ هفته بر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای جدا شده در مدل تجربی دیابت قندی در موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

روش: موش‌های صحرایی نر به پنج گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجین، دیابتی، دیابتی تحت درمان با نارینجین و تحت تیمار با گلین کلامید تقسیم شدند. برای دیابتی کردن موش‌ها از استرپتوزوتوسین به میزان ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استفاده شد. نارینجین نیز ۱ هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت ۶ هفته تجویز گردید. میزان گلوکز سرم قبل از تجویز نارینجین و پس از آن در هفته ۶ اندازه‌گیری شد و در پایان کار، پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین به صورت تجمعی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: میزان گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجین در هفته ۶ به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی بود ( $P < 0/01$ ). به‌علاوه، حداکثر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فنیل‌افرین در گروه دیابتی تحت درمان با نارینجین به‌طور معنی‌دار کمتر از گروه دیابتی درمان نشده بود ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، این کاهش معنی‌دار در مورد پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در گروه دیابتی تحت درمان با نارینجین نیز مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). از طرف دیگر، کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی به فنیل‌افرین در گروه شاهد تحت تیمار در مقایسه با گروه شاهد مشاهده گردید ( $P < 0/05$ ).

نتیجه‌گیری: تجویز تحت مزمن نارینجین به مدت ۶ هفته دارای اثر پایین‌آورنده قندخون بوده و موجب کاهش پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین می‌گردد.

واژه‌های کلیدی: نارینجین، دیابت قندی، آئورت، قابلیت انقباض

۱- استادیار، گروه داخلی و قلب و عروق، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران ۲- استاد، گروه فیزیولوژی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد

۳- دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران

\* نویسنده مسؤل، آدرس: تهران، بلوار کشاورز، خیابان شهید عبدا...زاده (دمکده)، دانشکده پزشکی شاهد، گروه فیزیولوژی • آدرس پست الکترونیک: mehjour@yahoo.com

پذیرش مقاله: ۱۳۸۹/۵/۶

دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۸۹/۴/۱۳

دریافت مقاله: ۱۳۸۸/۱۱/۲۲

## مقدمه

دیابت قندی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای بیماری‌های قلبی - عروقی محسوب می‌شود که شیوع آن در جامعه انسانی رو به افزایش است (۱). بر اساس مطالعات آینده‌نگر در ایران نیز شیوع بیماری صرف‌نظر از نوع آن در آینده در حدود ۷/۷٪ خواهد بود و پیش‌بینی می‌شود بر اساس معیارهای سازمان جهانی بهداشت، در سال ۲۰۲۵ میلادی حدود ۵/۲ میلیون نفر در ایران دارای دیابت آشکار و مستعد ابتلا به آن باشند (۲). در بیماری دیابت قندی عوامل مختلف شامل افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن به علت افزایش سطح گلوکز خون و تشدید پراکسیداسیون لیپیدی موجب افزایش بروز آترواسکلروز و بیماری‌های قلبی - عروقی می‌گردند (۳، ۱). با توجه به این که امکان تغییر برخی عوامل خطر شامل جنسیت، سن، و سابقه فامیلی عملاً وجود ندارد لذا تغییر دادن سایر عوامل خطر از طریق مصرف غذاهای کم‌چرب، کم‌کالری، و گیاهان دارویی از اهمیت بالینی زیادی برخوردار است (۴، ۵).

در طی سالیان اخیر توجه بسیاری از محققان به گیاهان دارویی و مواد مؤثره استخراج شده از آنها معطوف گردیده‌است. از جمله این مواد، پلی‌فنل‌ها هستند که در گیاهان، میوه‌ها و سبزیجات، روغن زیتون، و برگ چای یافت می‌شوند. فلاونوئیدها بزرگ‌ترین گروه از پلی‌فنل‌ها هستند و تاکنون بیشتر از ۲۰۰۰ نوع فلاونوئید خاص شناسایی شده‌است. فلاونوئیدها بر اساس ساختار مولکولی‌شان دستجات متنوعی از مواد از جمله فلاونوئید نارینجین را در بر می‌گیرند (۶). مشخص شده‌است که مصرف غذاها یا ترکیباتی که غنی از پلی‌فنل‌ها هستند می‌تواند سطح سرمی آنتی‌اکسیدان‌ها را در خون افزایش دهد (۶). در همین راستا مصرف ترکیبات پلی‌فنلیک، اثرات مفید بارزی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو دارد. تحقیقات سال‌های اخیر، توجه خاصی به جنبه‌های بالقوه درمانی و پیشگیری‌کننده این

ترکیبات در بیماری‌های مختلف از جمله انواع سرطان‌ها، بیماری‌های قلبی - عروقی، بیماری‌های التهابی و متابولیک شامل دیابت قندی و بیماری‌های تحلیل‌برنده عصبی داشته‌اند (۶). به علاوه، مطالعات اپیدمیولوژیک حاکی از آن است که تغییر عادات غذایی و مصرف آنتی‌اکسیدان‌های غذایی می‌تواند از شیوع بیماری‌های متابولیک کم کند (۷). یکی از فلاونوئیدهای مهم در گروه فلاوانون‌ها، نارینجین می‌باشد که به علت دارا بودن خواص آنتی‌اکسیدانی، حذف‌کنندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن، ضدالتهابی، بهبوددهنده متابولیسم کربوهیدرات‌ها و تعدیل‌کننده سیستم ایمنی بدن اثر مهمی بر سلامت انسان به جا می‌گذارد. این ماده به فراوانی در گریپ‌فروت، پرتقال و گوجه‌فرنگی یافت می‌شود (۸، ۹). در یکی از بررسی‌ها در مورد نارینجین نشان داده شده که تجویز نارینجین از بروز دیس لیپیدی، افزایش تولید آپو B و افزایش سطح انسولین در مدل تجربی مقاومت به انسولین جلوگیری می‌کند و در جهت افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب در بافت کبد عمل می‌کند (۱۰). در مطالعه دیگری نشان داده شد که گنجاندن برخی فلاونوئیدها نظیر نارینجین در لیپوپروتئین‌ها با دانسیته پایین موجب تعدیل اکسیداسیون LDL و کاهش گلیکولیزه شدن مواد هدف در محیط آزمایشگاه می‌گردد که این می‌تواند در درمان برخی عوارض بیماری‌های متابولیک نظیر دیابت قندی و هیپرلیپیدمی کاربرد داشته باشد (۱۱). هم‌چنین مشخص شده که نارینجین در موش‌های طبیعی و موش‌های مبتلا به دیابت نوع II دارای اثرات ضددیابتی است (۱۲) و مصرف آب پرتقال سرشار از نارینجین موجب کاهش تولید رادیکال‌های اکسیژن به نحو مؤثر می‌گردد که این در جهت کاهش آسیب بافتی عمل می‌کند (۱۳). در بررسی دیگری نیز نشان داده شده که عصاره برخی گیاهان سرشار از فلاونوئیدها نظیر نارینجین می‌تواند دارای اثرات پایین‌آورندگی قندخون، گشاد‌کنندگی عروقی و

سرم آنها کمتر از ۲۵۰ میلی گرم بر دسی لیتر بود. خون گیری از طریق شبکه رترواوربیتال و لوله موئینه تحت بی هوشی ملایم با اتر انجام شد. حجم خون اخذ شده از هر حیوان نیز حدود ۱ میلی لیتر بود. موش‌ها به طور تصادفی (الگوی تصادفی ساده) به ۵ گروه شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجین (سیگما، آمریکا)، دیابتی، دیابتی تحت تیمار با گلیبن کلامید (سیگما، آمریکا) به عنوان شاهد مثبت و تحت تیمار با نارینجین تقسیم شدند. با انجام بررسی آماری (آنووا یک طرفه)، در صورت تأیید شدن عدم وجود تفاوت معنی دار بین گروه‌ها از نظر وزن، کار ادامه می‌یافت و در غیر این صورت گروه بندی مجدداً انجام می‌شد. برای دیابتی نمودن موش‌ها، از داروی استرپتوزوتوسین (فارماشیا-آپجون، آمریکا) به صورت تک دوز و داخل صفاقی به میزان ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم حل شده در محلول سرم فیزیولوژی سرد استفاده شد (۱۷). داروی نارینجین نیز ۱ هفته پس از القای دیابت به میزان ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت داخل صفاقی و یک روز در میان به مدت ۶ هفته تجویز شد (۱۲). داروی گلیبن کلامید نیز به میزان ۶۰۰ میکروگرم بر کیلوگرم در روز تجویز شد (۱۸). یک هفته پس از تزریق، برای اطمینان از دیابتی بودن حیوانات، قند ادرار به روش نوار ادراری (شرکت گلوکویاب، تهران) کنترل شد و فقط حیوانات دیابتی به مرحله بعدی برای شروع تیمار راه یافتند. البته در روزهای بعد علایم بارز دیابت نظیر پرخوری، پرنوشی، دیورز، و کاهش وزن نیز در برخی موش‌ها دیده شد. اندازه گیری میزان گلوکز سرم توسط روش آنزیمی گلوکز اکسیداز (شرکت زیست شیمی، تهران) قبل از تجویز نارینجین و در هفته ۶ با استفاده از اسپکتروفتومتر (اسپکترونیک ۲۰، آمریکا) انجام شد.

محافظت کنندگی کبد باشد (۱۴). در یک مطالعه در حالت برون تن (*in vitro*) مشخص شده که اضافه نمودن نارینجین در سلول‌های عضلاتی صاف موجب باز شدن کانال‌های پتاسیمی فعال شده بر اثر کلسیم می‌شود. این بررسی بر روی بافت حلقه‌های آئورتی به انجام رسیده و مشخص شده که نارینجین به فرم وابسته به غلظت و غیروابسته به اندوتلیوم موجب شل شدن عضله صاف می‌گردد (۱۵). اثرات گشاد کنندگی عروقی نارینجین به صورت وابسته به غلظت در حلقه‌های آئورتی موش صحرائی توسط Orallo و همکاران (۲۰۰۵) در حالت برون تن نیز مجدداً مورد تأیید قرار گرفته است (۱۶). لذا با توجه به اثبات اثربخشی شل کنندگی نارینجین در حالت برون تن بر پاسخ شل کنندگی بافت عضله صاف آئورت، هدف این بررسی، ارزیابی اثر تجویز تحت مزمن نارینجین (در حالت درون تن) در مدل تجربی دیابت قندی القا شده توسط استرپتوزوتوسین به مدت ۶ هفته بر پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای موش‌های صحرائی نر می‌باشد تا بدین وسیله اثرات این ماده ارزشمند بر عوارض عملکردی عروق در مبتلایان به دیابت در مراحل اولیه مشخص شود.

### روش بررسی

در این مطالعه از ۴۰ سر موش صحرائی نر سفید نژاد ویستار (انستیتو پاستور، تهران) در محدوده وزنی ۲۳۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. تمام حیوان‌ها در دمای ۲۴-۲۲ درجه سانتی گراد در گروه‌های ۳ تا ۴ تایی در هر قفس قرار داده شدند و آزادانه به آب لوله کشی و غذای مخصوص موش (شرکت خوراک دام پارس، کرج) دسترسی داشتند. در ضمن، این بررسی بر اساس دستورالعمل‌های توصیه شده توسط انستیتو ملی بهداشت آمریکا (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی و راهکارهای عملی موجود در داخل کشور به انجام رسید.

در این بررسی از موش‌های صحرائی استفاده شد که در شرایط طبیعی، بدون حالت ناشتا، میزان گلوکز

## اندازه‌گیری پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای (۱۹)

در پایان کار، موش‌ها با استفاده از اتر بی‌هوش شده و با باز کردن قفسه سینه آئورت سینه‌ای جدا شده و در داخل محلول کربس (که به‌طور مداوم به‌داخل آن گاز کربوژن دمیده می‌شد) قرار داده شد. ترکیب شیمیایی محلول کربس مورد استفاده در تمام آزمایش‌ها به‌قرار زیر بود (بر حسب میلی‌مولار):

NaCl: ۱۱۸/۵; KCl: ۴/۷۴; CaCl<sub>2</sub>: ۵/۲; MgSO<sub>4</sub>: ۱/۱۸;  
NaHCO<sub>3</sub>: ۲۴/۹; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>: ۱/۱۸; Glucose: ۱۰

در داخل محلول کربس سرد (به منظور کاهش دادن متابولیسم بافت و کاهش مرگ‌ومیر سلولی)، آئورت به دقت از بافت پیوندی اطراف پاک شده، سپس به حلقه‌هایی به طول حدوداً ۴ میلی‌متر تقسیم می‌گردید. برای حصول اطمینان از سلامت آندوتلیوم، پس از ایجاد انقباض با غلظت  $10^{-6}$  مولار فنیل‌افرین، استیل‌کولین با غلظت  $10^{-5}$  مولار به حمام بافت اضافه می‌شد. مشاهده پاسخ شل‌شدگی بیشتر از ۳۰٪ در حلقه‌های آئورت به‌عنوان ملاک سالم بودن آندوتلیوم در نظر گرفته شد. برای ثبت پاسخگویی حلقه‌های آئورتی، آنها به کمک سیم‌های پلاتینی L شکل که به‌موازات هم قرار می‌گرفتند، از یک طرف به قلاب فلزی و از طرف دیگر به ترانس دیوسر ایزومتریک F-60 (نارکو بیوسستم، آمریکا) متصل می‌شدند. در این بررسی کشش استراحتی اعمال شده به حلقه‌های آئورتی ۱/۵ گرم بود. پس از اعمال این کشش، ۶۰ تا ۹۰ دقیقه به بافت اجازه داده می‌شد تا وضعیت ثابت پیدا کند. محلول کربس داخل حمام بافت هم هر ۳۰ دقیقه تعویض می‌شد. پس از حصول حالت تعادل، سلامت بافت در ابتدا با استفاده از غلظت‌های افزایش‌یابنده کلرور پتاسیم (۱۰ تا ۵۰ میلی‌مولار) جهت سلامت و تمامیت بافت بررسی شده و بافت‌های با پاسخ انقباضی ضعیف (کمتر از ۰/۲ گرم) در غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرور پتاسیم در ادامه بررسی نشدند. سپس، حلقه‌ها در معرض غلظت‌های افزایش‌یابنده فنیل‌افرین ( $10^{-9}$  تا  $10^{-5}$  مولار) قرار می‌گرفتند. برای ثبت و تحلیل

داده‌ها از نرم‌افزار فیزیوگراف نسخه ۱ (شرکت بهینه آرمان، تهران) استفاده گردید. پاسخ انقباضی در تمامی بررسی‌ها به‌صورت گرم به ازای واحد سطح بافت بیان شد.

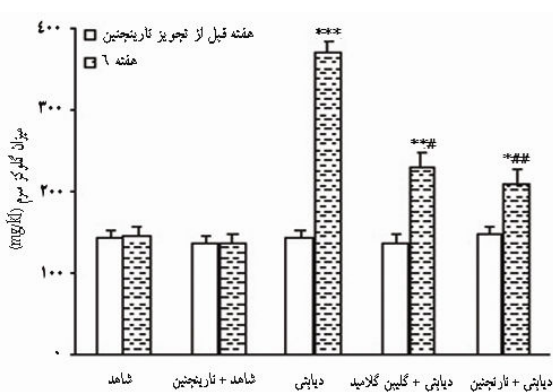
## تحلیل آماری

نتایج به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان گردید. پس از تأیید پارامتریک بودن توزیع داده‌ها، برای مقایسه نتایج هر پارامتر در هر یک از گروه‌ها قبل و بعد از بررسی از آزمون آنووا با اندازه‌گیری مکرر (در مورد وزن حیوان) و t تست زوجی (در مورد میزان گلوکز سرم) و برای مقایسه گروه‌ها با هم در هر یک از دوره‌های زمانی یا غلظت‌ها از آزمون آنووا یک‌طرفه و پست تست توکی استفاده گردید. تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از برنامه آماری Sigma Stat نسخه ۳/۵ انجام شد و سطح معنی‌داری  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

## نتایج

## وزن حیوانات

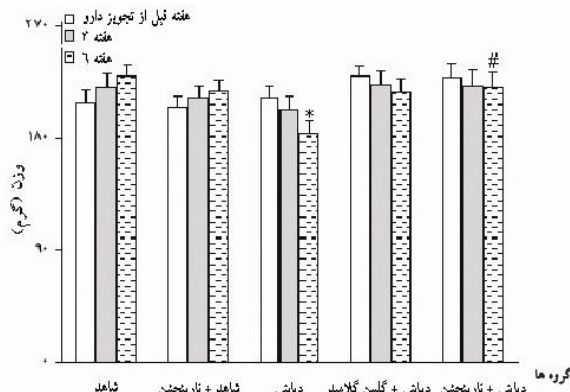
هیچ‌گونه تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها در هفته قبل از تجویز نارینجین مشاهده نگردید. در گروه دیابتی در هفته ششم یک کاهش معنی‌دار در مقایسه با هفته قبل از بررسی ( $P < 0/05$ ) مشاهده گردید. از طرف دیگر، تفاوت موجود بین دو گروه دیابتی و دیابتی تحت درمان با گیاه در هفته ششم در حد معنی‌دار بود ( $P < 0/05$ ) و میزان وزن در گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجین در مقایسه با گروه دیابتی کاهش کمتری نشان داد. به‌علاوه، کاهش وزن در گروه دیابتی تحت درمان با گلین کلامید نیز مشابه گروه دیابتی تیمار شده با نارینجین از گروه دیابتی کمتر بود. از سوی دیگر، تیمار گروه شاهد با نارینجین تغییر معنی‌دار در مقایسه با گروه شاهد از نظر وزن ایجاد نمود و این گروه مشابه گروه شاهد یک افزایش وزن در حد منطقی و قابل انتظار را نشان داد (نمودار ۱).



**نمودار ۲.** اثر تجویز دراز مدت نارینجین به مدت ۶ هفته بر

میزان گلوکز سرم در موش‌های صحرائی شاهد و دیابتی

\* $P < 0.05$ ، \*\* $P < 0.01$ ، \*\*\* $P < 0.001$  در مقایسه با هفته قبل از بررسی، # $P < 0.01$  و ## $P < 0.05$  در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته (تعداد نمونه در هر گروه = ۸)



**نمودار ۱.** اثر تجویز دراز مدت نارینجین به مدت ۶ هفته بر

میزان وزن در موش‌های صحرائی شاهد و دیابتی

\* $P < 0.05$  در مقایسه با هفته قبل از تجویز دارو و # $P < 0.05$  گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجین در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته (تعداد نمونه در هر گروه = ۸)

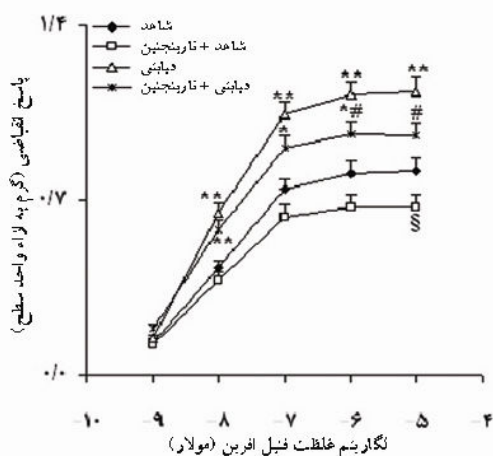
### میزان گلوکز سرم

از نظر میزان گلوکز سرم در هفته قبل از بررسی تفاوت معنی دار بین گروه‌ها وجود نداشت و در گروه دیابتی در هفته‌های ۳ و ۶ میزان گلوکز سرم به صورت معنی داری ( $P < 0.001$ ) بیشتر از هفته پیش از بررسی بود. همچنین در هفته‌های ۳ و ۶ سطح سرمی گلوکز هر چند در گروه دیابتی تحت تیمار با گیاه در حد معنی دار ( $P < 0.01$ ) بیشتر از هفته پیش از بررسی بود ولی سطح گلوکز در این گروه در همین هفته‌ها در مقایسه با گروه دیابتی به طور معنی دار کمتر بود (به ترتیب  $P < 0.01$  و  $P < 0.05$ ). در ضمن، هر چند میزان افزایش گلوکز سرم در گروه دیابتی تحت درمان با نارینجین در مقایسه با گروه دیابتی تحت درمان با گلین گلاید بیشتر بود ولی تفاوت موجود بین این گروه‌ها در همین هفته‌ها معنی دار نبود. به علاوه، گروه شاهد تحت تیمار با نارینجین نیز کاهش محسوس و معنی دار گلوکز سرم را در مقایسه با گروه شاهد نشان نداد (نمودار ۲).

### پاسخ انقباضی آنورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم

نمودار ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارای اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش یابنده کلرور پتاسیم در گروه‌های شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجین، دیابتی و دیابتی تحت تیمار با نارینجین نشان می‌دهد. در این رابطه، پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم در مورد این گروه‌ها از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده است. به این صورت که دیابت درازمدت موجب افزایش پاسخگویی حلقه‌های آنورتی به کلرور پتاسیم از غلظت ۳۰ میلی مولار به بالا به طور معنی دار در مقایسه با گروه شاهد گردید ( $P < 0.01$ ). همچنین درمان موش‌های دیابتی با نارینجین موجب کاهش معنی دار این پاسخ انقباضی نسبت به گروه دیابتی درمان نشده از غلظت ۴۰ میلی مولار به بالا گردید ( $P < 0.05$ ). در ضمن، درمان موش‌های گروه شاهد با نارینجین موجب کاهش محسوس و معنی دار این پاسخ انقباضی در مقایسه با گروه شاهد نگردید.

از غلظت  $10^{-8}$  مولار به بالا گردیده است ( $P < 0/01$ ). هم‌چنین درمان موش‌های دیابتی با نارینجین موجب کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی در مقایسه با گروه دیابتی از غلظت  $10^{-6}$  مولار به بالا گردید ( $P < 0/05$ ). هم‌چنین، درمان موش‌های گروه شاهد با نارینجین موجب کاهش معنی‌دار حداکثر پاسخ انقباضی به فیل‌افرین در مقایسه با گروه شاهد در غلظت  $10^{-5}$  مولار گردید.



**نمودار ۲:** پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم به غلظت‌های افزایش‌یافته (تجمعی) فیل‌افرین در گروه‌های مختلف

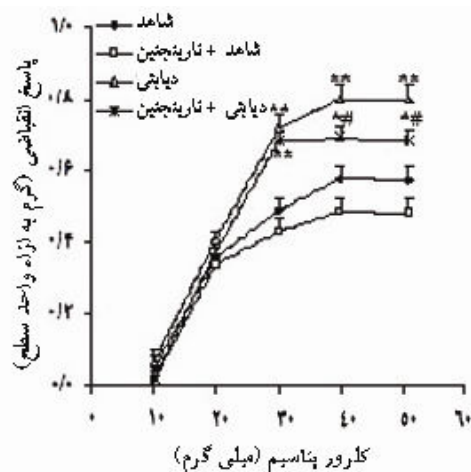
$P < 0/05^*$ ،  $P < 0/01^{**}$  در مقایسه با گروه شاهد و  $P < 0/05\#$  گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجین در مقایسه با گروه دیابتی،  $P < 0/05\&$  گروه شاهد تحت تیمار با نارینجین در مقایسه با گروه شاهد تیمار نشده (تعداد نمونه در هر یک از گروه‌های شاهد=۶ و در هر یک از گروه‌های دیابتی=۷)

کاهش معنی‌دار در حداکثر پاسخ انقباضی به کلرور پتاسیم و فیل‌افرین در مقایسه با گروه دیابتی درمان نشده می‌گردد. به‌علاوه، حداکثر پاسخ انقباضی نسبت به فیل‌افرین در گروه شاهد تحت درمان با نارینجین در مقایسه با گروه شاهد کاهش نشان داد.

در افزایش پاسخ انقباضی عروق در حالت دیابت قندی عوامل گوناگون از جمله تشدید تولید اندوتلین به‌عنوان یک

### پاسخ انقباضی آئورت سینه‌ای به فیل‌افرین

نمودار ۳، پاسخ انقباضی حلقه‌های دارای اندوتلیوم را به غلظت‌های افزایش‌یافته فیل‌افرین در گروه‌های شاهد، شاهد تحت تیمار با نارینجین، دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با نارینجین نشان می‌دهد. همان‌طور که مشخص است پاسخ انقباضی به فیل‌افرین در مورد این گروه‌ها از یک طرح وابسته به غلظت تبعیت نموده‌است و دیابت موجب افزایش معنی‌دار پاسخگویی حلقه‌های آئورتی به فیل‌افرین



**نمودار ۳:** پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای دارای اندوتلیوم به غلظت‌های افزایش‌یافته (تجمعی) کلرور پتاسیم در گروه‌های مختلف

$P < 0/05^*$ ،  $P < 0/01^{**}$  در مقایسه با گروه شاهد و  $P < 0/01\#\#$  گروه دیابتی تحت تیمار با نارینجین در مقایسه با گروه دیابتی در همان هفته (تعداد نمونه در هر یک از گروه‌های شاهد=۶، و در هر یک از گروه‌های دیابتی=۷)

### بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که تجویز تحت مزمن نارینجین به میزان ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن حیوان به مدت ۶ هفته در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌تواند از کاهش وزن این حیوانات جلوگیری کند، دارای اثر پایین‌آورندگی قندخون بارز و معنی‌دار بوده، و درمان موش‌های دیابتی با این ماده موجب

منقبض کننده قوی عضلات صاف عروق، افزایش سنتر و ترشح برخی از پروستاگلاندین‌های تنگ کننده عروقی، افزایش غلظت داخل سلولی دی‌آسیل گلیسرول و افزایش متعاقب کلسیم داخل سلولی به‌عنوان عامل محرک انقباض در عضله صاف عروقی و کاهش توانایی تولید فاکتورهای گشاد کننده عروقی با منشأ اندوتلیال نظیر نیتریک اکسید می‌تواند مطرح باشد (۲۰، ۱۹). هم‌چنین، ظرفیت آندوتلیوم عروق در سنتر سایر گشاد کننده‌های عروقی نظیر پروستاگلاندین نیز کاهش می‌یابد. به‌علاوه، برخی از تحقیقات نشان داده که بالابودن قندخون و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن نیز می‌تواند دلیل بروز این عوارض باشد (۲۰). از طرف دیگر، برخی مطالعات نشان می‌دهند که در دیابت قندی اختلال متابولیسم گلوکز و گلیکوزیلاسیون پروتئین‌ها نقش مهمی در ایجاد برخی عوارض عروقی دیابت دارد. به‌علاوه در بیماران دیابتی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اتواکسیداسیون گلوکز افزایش می‌یابد (۲۱، ۲۰). نتایج به‌دست آمده از این مطالعه نشان داد که پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورتی دارای آندوتلیوم به فیل‌فرین و کلرور پتاسیم در موش‌های صحرایی نر دیابتی به‌طور معنی‌داری نسبت به حیوانات سالم افزایش یافته است که این با نتایج مطالعه Abebe و همکاران مطابقت دارد (۱۹).

در مورد اثرات سودمند نارینجین گفته شده که نارینجین در موش‌های سالم و موش‌های مبتلا به نوع ۲ دارای اثرات ضد دیابتی است (۱۲). هر چند در تحقیق حاضر مدل تجربی نوع ۱ با استفاده از داروی استریپتوزوتوسین به‌صورت تک دوز ایجاد شد و در این مدل بخش اعظم سلول‌های بتای پانکراس عملاً توانایی ترشحی خود از نظر انسولین را بعد از چند روز به‌دنبال تزریق دارو از دست می‌دهند ولی بر اساس شواهد موجود نارینجین قادر به اعمال اثرات خارج پانکراسی در جهت کاهش قندخون می‌باشد (۱۲). در این رابطه مشخص شده

که تجویز دراز مدت نارینجین قادر به کاهش دادن مقاومت بافتی به انسولین بوده و نیازمندی بافت به هورمون انسولین را از طریق تشدید فعالیت ناقالین گلوکز در دو بافت عضلانی و چربی کاهش می‌دهد. به‌علاوه، نارینجین از طریق تعدیل فعالیت آنزیم‌های کبدی مسئول متابولیسم کربوهیدرات‌ها از جمله کاهش فعالیت آنزیم فسفریلاز کبدی و افزایش فعالیت گلوکو کیناز و گلیکوژن سنتاز در جهت کاهش قندخون عمل می‌نماید (۱۲، ۱۴). ضمناً، تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که نارینجین به‌صورت تک‌دوز و یا چنددوز قادر به اعمال اثرات کاهنده قندخون می‌باشد که این اثر نارینجین از طریق راه‌های خارج پانکراسی از جمله مهار جذب روده‌ای کربوهیدرات‌ها به انجام می‌رسد (۱۲). بخش دیگری از اثرات سودمند نارینجین در تحقیق حاضر را می‌توان به اثرات کاهش‌دهندگی استرس اکسیداتیو این ماده نسبت داد (۱۳). در این خصوص فلاونوئیدها نظیر نارینجین می‌توانند موجب افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن و تشدید فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردند که این موجب کاهش تولید رادیکال‌های اکسیژن و در جهت کاهش آسیب بافتی عمل می‌کند (۱۳). با توجه به اینکه خود هیپرگلیسمی و تشدید استرس اکسیداتیو ناشی از آن نیز می‌تواند دلیل عوارض عملکردی عروق در حالت دیابت از جمله تشدید پاسخ انقباضی به عوامل غیراختصاصی نظیر کلرور پتاسیم و آگونیست‌های اختصاصی آلفا آدرنژیک نظیر فنیل‌فرین باشد (۲۰)، نارینجین در این تحقیق با کاهش دادن استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدی در جهت کاهش این عوارض عمل نموده است. هر چند اثربخشی نارینجین در بررسی حاضر در حالت آندوتلیوم سالم تأیید شده است ولی نتایج تحقیقات قبلی نشان می‌دهد که بخشی از اثرات سودمند نارینجین به‌صورت وابسته به آندوتلیوم و بخش دیگر به‌صورت غیروابسته به آندوتلیوم به انجام می‌رسد (۲۲). در این مورد Ajay و همکاران (۲۰۰۳)

آئورت سینه‌ای جدا شده به عوامل منقبض کننده کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین ثبت شد. احتمالاً مشابه بررسی Ajay و همکاران، در این بررسی نیز هر دو مسیر وابسته و غیروابسته به اندوتلیوم در اثرات سودمند عروقی نارینجین می‌توانند نقش داشته باشند که این به مطالعات بیشتر نیاز دارد.

به‌طور خلاصه، تجویز تحت مزمن نارینجین به مدت ۶ هفته دارای اثر پایین آورنده قندخون بوده و موجب کاهش پاسخ انقباضی حلقه‌های آئورت سینه‌ای به کلرور پتاسیم و فنیل‌افرین می‌گردد.

#### سپاسگزاری

پژوهش حاضر حاصل طرحنامه دانشجویی مصوب دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد (تهران) در سال ۱۳۸۷ می‌باشد. ضمناً نویسندگان مقاله مراتب تشکر وافر خود را از سرکار خانم فریبا انصاری کارشناس گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی شاهد در کمک به انجام آزمایشات ابراز می‌دارند.

در بررسی خود اثربخشی فلاونوئیدهای مختلف از جمله نارینجین و کوئرستین را در حالت برون‌تن بر روی عضله صاف عروقی آئورت سینه‌ای ایزوله موش صحرایی نرمال مورد بررسی قرار دادند. در بررسی مذکور، حلقه‌های آئورتی پیش منقبض شده با کلرورپتاسیم یا فنیل‌افرین در معرض غلظت‌های افزایش یافته از فلاونوئید نارینجین (۰/۰۱ تا ۱۰۰ میکرومولار) قرار گرفتند و یک پاسخ گشادشدگی وابسته به غلظت مشاهده شد. در این خصوص مشخص شد که پاسخ گشادکنندگی نارینجین تا حدودی با وساطت دو سیستم نیتریک‌اکسید و پروستاگلاندین‌ها به انجام می‌رسد. همچنین معلوم شد که بخشی از اثرات سودمند نارینجین به‌طور مستقیم از راه اثر بر عضله صاف رگی به انجام می‌رسد که احتمالاً مهار کانال‌های کلسیم عضله صاف عروقی نقش مهمی در این رابطه می‌تواند داشته باشد (۲۲). در بررسی حاضر، بر خلاف مطالعه مذکور که به‌صورت کاملاً برون‌تن انجام شد، نارینجین به‌صورت تحت مزمن به مدت ۶ هفته به موش‌ها تجویز شد و سپس پاسخ انقباضی

### The Effect of Flavonoid Naringenin on Contractile Response of Thoracic Aorta Isolated from Diabetic Rats

Fallahi F. M.D.<sup>1</sup>, Roghani M. Ph.D.<sup>2\*</sup>, Nasri K.<sup>3</sup>

1. Assistant Professor, Department of Cardiology, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran
2. Professor, Department of Physiology, School of Medicine and Medicinal Plant Research Center, Shahed University, Tehran, Iran
3. Student of Medicine, School of Medicine, Shahed University, Tehran, Iran

\* Corresponding author; e-mail: mehjour@yahoo.com

(Received: 11 Feb. 2010 Accepted: 28 July 2010)

#### Abstract

**Background & Aims:** Considering increasing incidence of cardiovascular disorders in diabetes mellitus and some evidence on antioxidant and antidiabetic potentials of naringenin, this study was conducted to evaluate the beneficial effects of 6-week administration of naringenin on contractile reactivity of isolated thoracic aorta in diabetic rats.

**Methods:** Male Wistar rats were divided into control, naringenin-treated control, diabetic and glibenclamide-treated, and naringenin-treated diabetic groups. For induction of diabetes, streptozotcin (STZ) was administered (60 mg/Kg). Naringenin (10 mg/kg) was administered i.p. one week after diabetes induction in every other day intervals for 6 weeks. Serum glucose level was measured before naringenin



administration and at 6<sup>th</sup> week. Finally, contractile reactivity of thoracic aortic rings to KCl and phenylephrine (PE) was cumulatively determined.

**Results:** Serum glucose level at week 6 showed a significant decrease in naringenin-treated diabetic group compared to diabetics ( $P < 0.01$ ). In addition, naringenin-treated diabetic group showed a significantly lower contraction to PE ( $P < 0.05$ ) as compared to diabetic group and such significant reduction was also observed for KCl ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, there was also a significant difference between control and naringenin-treated control groups regarding their contractile reactivity to PE ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion:** Subchronic administration of naringenin for 6 weeks could exert an anti-hyperglycemic effect and lowers contractile responsiveness of thoracic aorta rings to KCl and phenylephrine.

**Keywords:** Naringenin, Diabetes mellitus, Aorta, Contractility

Journal of Kerman University of Medical Sciences. 2011; 18(2): 144-153

## References

1. Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006; 12(7): RA130-47.
2. Amini M, Parvaresh E. Prevalence of macro- and microvascular complications among patients with type 2 diabetes in Iran: a systematic review. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 83(1): 18-25.
3. Wandell PE. Quality of life of patients with diabetes mellitus: an overview of research in primary health care in the Nordic countries. *Scand J Prim Health Care* 2005; 23(2): 68-74.
4. Suji G, Sivakami S. Approaches to the treatment of diabetes mellitus: an overview. *Cell Mol Biol* 2003; 49(4): 635-9.
5. Shapiro K, Gong WC. Natural products used for diabetes. *J Am Pharm Assoc* 2002; 42(2): 217-26.
6. Buer CS, Imin N, Djordjevic MA. Flavonoids: new roles for old molecules. *J Integr Plant Biol* 2010; 52(1): 98-111.
7. Tang H, Dong X, Day RS, Hassan MM, and Li D. Antioxidant Genes, Diabetes and Dietary Antioxidants in Association with Risk of Pancreatic Cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31(4): 607-13.
8. Krogholm KS, Bredsdorff L, Knuthsen P, Haraldsdóttir J, Rasmussen SE. Relative bioavailability of the flavonoids quercetin, hesperetin and naringenin given simultaneously through diet. *Eur J Clin Nutr* 2010; 64(4): 432-5.
9. Jayaraman J, Veerappan M, Namasivayam N. Potential beneficial effect of naringenin on lipid peroxidation and antioxidant status in rats with ethanol-induced hepatotoxicity. *J Pharm Pharmacol* 2009; 61(10): 1383-90.
10. Mulvihill EE, Allister EM, Sutherland BG, Telford DE, Sawyez CG, Edwards JY, et al. Naringenin prevents dyslipidemia, apoB overproduction and hyperinsulinemia in LDL-receptor null mice with diet-induced insulin resistance. *Diabetes* 2009; 58(10): 2198-210.
11. Wu CH, Lin JA, Hsieh WC, Yen GC. Low-density-lipoprotein (LDL)-bound flavonoids increase the resistance of LDL to oxidation and glycation under pathophysiological concentrations of glucose *in vitro*. *J Agric Food Chem* 2009; 57(11): 5058-64.

12. Ortiz-Andrade RR, Sánchez-Salgado JC, Navarrete-Vázquez G, Webster SP, Binnie M, García-Jiménez S, et al. Antidiabetic and toxicological evaluations of naringenin in normoglycaemic and NIDDM rat models and its implications on extra-pancreatic glucose regulation. *Diabetes Obes Metab* 2008; 10(11): 1097-104.
13. Ghanim H, Mohanty P, Pathak R, Chaudhuri A, Sia CL, Dandona P. Orange juice or fructose intake does not induce oxidative and inflammatory response. *Diabetes Care* 2007; 30(6): 1406-11.
14. Sánchez-Salgado JC, Ortiz-Andrade RR, Aguirre-Crespo F, Vergara-Galicia J, León-Rivera I, Montes S, et al. Hypoglycemic, vasorelaxant and hepatoprotective effects of *Cochlospermum vitifolium* (Willd.) Sprengel: a potential agent for the treatment of metabolic syndrome. *J Ethnopharmacol* 2007; 109(3):400-5.
15. Saponara S, Testai L, Iozzi D, Martinotti E, Martelli A, Chericoni S, Sgaragli G, Fusi F, Calderone V. (-/+)- aringenin as large conductance Ca(2+)-activated K+ (BKCa) channel opener in vascular smooth muscle cells. *Br J Pharmacol* 2006; 149(8): 1013-21.
16. Orallo F, Camiña M, Alvarez E, Basaran H, Lugnier C. Implication of cyclic nucleotide phosphodiesterase inhibition in the vasorelaxant activity of the citrus-fruits flavonoid (+/-)-naringenin. *Planta Med* 2005; 71(2): 99-107.
17. Baluchnejadmojarad T, Roghani M. Garlic extract attenuates time-dependent changes in the reactivity of isolated aorta in streptozotocin-diabetic rats. *Life Sci* 2003; 73(18): 2281-9.
18. Eidi A, Eidi M, Esmaeili E. Antidiabetic effect of garlic (*Allium sativum* L.) in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytomedicine* 2006; 13(9-10): 624-9.
19. Abebe W, Harris KH, MacLeod KM. Enhanced contractile responses of arteries from diabetic rats to alpha1-adrenoceptor stimulation in the absence and presence of extracellular calcium. *J Cardiovas Pharmacol* 1990; 16(2): 239-48.
20. Mori S, Takemoto M, Yokote K, Asaumi S, Saito Y. Hyperglycemia-induced alteration of vascular smooth muscle phenotype. *J Diabetes Complications* 2002; 16(1): 65-8.
21. Yildirim O, Buyukbingol Z. Effect of cobalt on the oxidative status in heart and aorta of streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct* 2003; 21(1): 27-33.
22. Ajay M, Gilani AU, Mustafa MR. Effects of flavonoids on vascular smooth muscle of the isolated rat thoracic aorta. *Life Sci* 2003; 74(5): 603-12.