



بررسی اثرات مصرف رزوراترول بر روی میزان اوروتنسنین ۲ و گیرنده آن در بافت قلب رت‌های دیابتی

رها رحیمی کیان (MSc)^{۱*}، صمد اکبرزاده (PhD)^۲، رحیمه رحیمی (MSc)^۱، خلیل پورخلیلی (PhD)^۳، مرضیه محمودی (PhD)^۴، رامین سیدیان (PhD)^۵، خدیجه قاسمی (MD)^۶، علی موحد (PhD)^{۲**}

^۱ گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۲ مرکز تحقیقات طب گرمسیری و عفونی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۳ گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۴ گروه آمار زیستی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۵ گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

^۶ گروه اطفال، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران

(دریافت مقاله: ۹۸/۴/۱۵ پذیرش مقاله: ۹۸/۱۱/۱۶)

چکیده

زمینه: افراد مبتلا به دیابت به‌طور جدی در معرض بیماری‌های قلبی- عروقی قرار دارند. اوروتنسنین ۲ و گیرنده آن نقش اساسی در ایجاد بیماری‌های قلبی- عروقی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن دارند. رزوراترول به عنوان یک پلی فنول دارای خاصیت آنتی اکسیدانی و ضد دیابت می‌باشد. هدف از این مطالعه بررسی اثرات رزوراترول بر میزان اوروتنسنین ۲ و گیرنده آن با توجه به بیومارکرهای بیوشیمیایی در قلب رت‌های دیابتی بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه ۴۸ سر رت نر ویستارآلبینو ۸-۵ هفته‌ای به ۶ گروه تقسیم شدند. رزوراترول را در کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد حل کرده و به‌صورت خوراکی به رت‌ها داده شد. در پایان ۶۰ روز درمان با رزوراترول، بافت قلب رت‌ها جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: وزن رت‌های دیابتی تحت درمان با دوزهای (۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن) رزوراترول، در پایان تیمار در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. میزان قندخون، لیپیدها، MDA، CK-MB و LDH در سرم رت‌های گروه دیابتی با مصرف ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن رزوراترول، در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش نشان دادند. همچنین میزان اوروتنسنین ۲ و گیرنده آن در بافت رت‌ها با مصرف ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن رزوراترول نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری نشان داد.

نتیجه‌گیری: درمان با رزوراترول موجب کاهش قندخون، پروفایل لیپیدی، وزن، MDA و آنزیم‌های قلبی گردید. علاوه بر این رزوراترول موجب کاهش معنی‌دار اوروتنسنین ۲ و گیرنده در بافت قلب شد که نشان دهنده اثر تعدیلی این ترکیب در خصوص عوارض ناشی از دیابت می‌باشد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، قلب، رزوراترول، اوروتنسنین ۲، گیرنده اوروتنسنین ۲

** بوشهر، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

مقدمه

هر ساله تعداد بی‌شماری از افراد بزرگسال در اثر ابتلا به بیماری دیابت و عوارض فراگیر آن جان خود را از دست می‌دهند (۱). پیش‌بینی شده است که تعداد افراد مبتلا به دیابت در محدوده سنی ۷۹-۲۰ سال به ۶۴۲ میلیون نفر تا سال ۲۰۴۰ افزایش خواهد یافت (۲ و ۳). اوروتنسن ۲ یک پپتید حلقوی ۱۲ اسید آمینه‌ای با خواص تنگ‌کنندگی عروق می‌باشد (۴). این پپتید در ابتدا به عنوان یک نوروپپتید از سیستم عصبی ماهی جداسازی شد که فعالیت آن شامل تنظیم سیستم قلب و عروق و متابولیسم چربی در ماهی است (۵). تحقیقات بالینی، نشان دهنده نقش اوروتنسن ۲ در تنظیم فشارخون مرکزی و محیطی و ضربان قلب می‌باشد، همچنین به پاتولوژی بیماری‌های قلبی-عروقی، کلیوی و دیابت می‌توان اشاره کرد (۴، ۶ و ۷). در بسیاری از تحقیقات نشان داده شده است که میزان اوروتنسن ۲ و رسپتور آن در بیماری‌های متنوع قلبی عروقی، آترواسکلروز، فشارخون و هایپرتروفی سلول‌های قلبی افزایش یافته است (۸). از طرف دیگر مطالعاتی، بیانگر عملکرد اوروتنسن ۲ به عنوان عامل پاتولوژیکی، باعث الفاء هایپرتروفی هم راستا با آنژیوتانسین II توسط فسفریلاسیون AKT-Kinase می‌گردد (۹ و ۱۰). در موش‌ها افزایش بیان رسپتور اوروتنسن و شکل‌گیری گرفتگی عروق در اثر آترواسکلروز به طور چشمگیری دیده شده است (۱۱) و اثر عمده دیگر اوروتنسن بر روی آترواسکلروز افزایش بیان NADPH اکسیداز می‌باشد که منبع اصلی گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌باشد. ROS با تبدیل LDL به LDL اکسیده باعث غیرفعال شدن نیتریک اکساید می‌شود (۱۳). استرس اکسیداتیو در ایجاد دیابت و عوارض ناشی از آن، بسیار مؤثر است. تحقیقات اخیر

نشان دهنده این بوده که تخریب ناشی از استرس اکسیداتیو توسط گونه‌های فعال اکسیژن و نیترژن مشتق شده از هایپرگلیسمی نقش حیاتی را در ایجاد مشکلات در عضوهای مختلف حیاتی بدن ایفا می‌کنند (۱۴). امروزه در کشورهای مختلف محصولات دارویی سنتزی استفاده می‌شود که می‌توان به متفورمین و تiazولیدین دیونها و گلی‌بن‌کلامید اشاره کرد (۱۵)، در صورتی‌که اخیراً با گسترش داروهای گیاهی، علاقه مردم به سمت مصرف داروهای گیاهی سوق پیدا کرده است. این محصولات برگرفته از گیاهان غنی از ترکیبات پلی‌فنولیک، فلاونوئیدها، ترین‌ها و کومارین می‌باشند که اینها نقش چشمگیری در کاهش میزان قندخون نشان داده‌اند (۱۶).

یکی از این مواد مؤثره رزوراترول می‌باشد که ترکیبی است پلی‌فنلی و در انگور، بادام زمینی و چای سبز یافت می‌شود و دارای خواص بسیاری منجمله ضد سرطان، ضد رگ‌زایی، ایمن‌زایی، حفاظت‌کنندگی قلبی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (۱۷). رزوراترول به عنوان کاهش دهنده نشانه‌های استرس اکسیداتیو و همچنین افزایش دهنده محتوای گلوکاتیون بافتی در مغز موش‌های دیابتیک شناسایی شده است (۱۸). رزوراترول توانایی تنظیم آنزیم سوپراکسید دسموتاز را نیز دارد که کار اصلی این آنزیم خنثی کردن محصولات گونه‌های فعال اکسیژن حاصل از زنجیره انتقال الکترون در میتوکندری می‌باشد، و باعث افزایش بیان سنتز نیتریک اکسید اندوتلیومی می‌شود و تنظیم‌کننده داستیلاسیون سنتز نیتریک اکسید می‌باشد که منجر به افزایش میزان نیتریک اکسید در پلازما می‌شود. نیتریک اکساید به صورت یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند و با سوپراکسیدها و رادیکال‌های پراکسی نترات در موجود زنده واکنش می‌دهد. در این مطالعه اثر

شدند، که این فرایند به مدت ۷ روز به طول انجامید، دوره تیمار با دوزهای مورد نظر از رزوراترول در گروه های دیابتی شروع کردیم. درمان با رزوراترول (محلول در کربوکسی متیل سلولز ۰/۵ درصد)، روزانه و به مدت ۶۰ روز به صورت گاواژ دهانی به رت‌ها داده شد (۲۱ و ۲۲).

گروه‌ها به صورت زیر تقسیم شدند:

گروه ۱: کنترل سالم

گروه ۲: کنترل سالم + کربوکسی متیل سلولز (CMC)

گروه ۳: کنترل دیابتی

گروه ۴: کنترل دیابتی + کربوکسی متیل سلولز (CMC)

گروه ۵: دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن رزوراترول

گروه ۶: دیابتی تحت درمان با دوز ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن رزوراترول

در پایان مطالعه رت‌ها با ۵۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن کتامین به صورت داخل صفاقی بیهوش شده، و با استفاده از سرنگ ۱۰ میلی لیتر خون‌گیری از بطن قلب صورت گرفت. نمونه‌ها را در لوله‌های عاری از ضد انعقاد ریخته و سرم آن را در دور ۳۰۰۰rpm به مدت ۵ دقیقه جدا نموده و در برودت منفی ۲۰ درجه سلسیوس تا هنگام بررسی قرار داده شدند. بافت‌های قلب رت‌ها را بلافاصله پس از قربانی کردن رت‌ها در سرم فیزیولوژی شسته و در دمای منفی ۸۰ درجه سلسیوس نگه داشته شدند. برای تهیه نمونه‌ها ابتدا با سرنگ ۱۰ میلی لیتر خون‌گیری از بطن چپ قلب صورت گرفت، سپس نمونه‌ها را در لوله‌های عاری از ضد انعقاد ریخته و سرم آن را در دور ۳۰۰۰ rpm به مدت ۵ دقیقه جدا نموده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد فریز کردیم. سپس بافت قلب را جدا کرده و با سرم فیزیولوژی شسته و در دمای منفی ۸۰ نگهداری شد. برای استخراج

رزوراترول را بر سطوح استرس اکسیداتیو و شکل‌گیری هایپرتروفی با توجه به نقش عمده اینها در بیماری‌های قلبی - عروقی بررسی خواهیم کرد (۱۹). در این مطالعه اثرات رزوراترول بر میزان اوروتنسنین ۲ و گیرنده آن با توجه به بیومارکرهای بیوشیمیایی در قلب رت‌های دیابتی مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش‌ها

رزوراترول (۹۸ درصد خالص) مورد استفاده محصول کشور کانادا بوده که هر کپسول آن حاوی عصاره رزوراترول ۲۵۰ میلی‌گرم است. استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید از شرکت سیگما خریداری شد. برای اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی از کیت‌های پارس آزمون استفاده گردید. در این مطالعه تعداد ۴۸ رت نر سفید نژاد ویستار ۸ هفته‌ای با وزن حدود ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم از مرکز حیوانات دانشگاه علوم پزشکی اهواز خریداری شد و در دانشگاه علوم پزشکی بوشهر به مدت ۲ هفته در شرایط روشنایی / تاریکی طبیعی ۱۲ ساعته و در دمای ۲۴-۲۱ درجه سانتی‌گراد و رطوبت هوا بین ۶۰-۵۵ درصد برای حیوانات آزمایشگاهی و تهویه اتوماتیک نگه‌داری شدند، تا با شرایط آزمایشگاهی تطبیق داده شوند. تغذیه رت‌ها در این مدت با جیره غذایی استاندارد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد. حیوانات به‌طور تصادفی به ۶ گروه ۸ تایی تقسیم شده و جهت القای دیابت نوع ۲ در گروه‌های (۲، ۳ و ۴)، از پودر استرپتوزوتوسین و نیکوتین آمید استفاده گردید. به مدت ۱۵ دقیقه بعد از تزریق ۵۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین، نیکوتین آمید نیز با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن به صورت داخل صفاقی به رت‌ها تزریق شد (۲۰)، قندخون رت‌ها با گلوکومتر و در محدوده ۲۲۰-۱۸۰ (به‌عنوان رت‌های دیابتی شده) میلی‌گرم در دسی‌لیتر اندازه‌گیری

یافته‌ها

وزن رت‌های دیابتی شده در مقایسه با گروه کنترل به میزان معنی‌داری کاهش پیدا کرد ($P < 0/001$). مقدار وزن رت‌ها در گروه‌های دیابتی تحت درمان با دوزهای ۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن رزوراترول، در پایان زمان تیمار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش نشان دادند ($P < 0/05$). (جدول ۱)

قندخون در گروه کنترل تا پایان تیمار تغییر محسوسی نکرده است. تزریق STZ/NTC باعث افزایش قندخون در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل سالم شد ($P < 0/001$). در گروه‌های دیابتی تحت درمان با دوزهای ۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن و ۱۰ رزوراترول قندخون در پایان مطالعه کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان دادند ($P < 0/001$). در حالی که کاهش قندخون در گروه دیابتی تیمار شده به میزان گروه کنترل سالم نرسید. (جدول ۱)

RNA، ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت قلب در میکروتیوپ به همراه ۵۰۰ ناندا محلول RNAXPLUS در یخچال ۸۰- نگهداری گردیده، پس از گذشت ۲۴ ساعت ابتدا بافت را دستی بر روی یخ هموژنیزه نموده و سپس ۰/۵ میلی لیتر از محلول RNX-Plus دوباره به آن اضافه کردیم، و پس از سانتریفوژ جدا سازی نموده و در ویال‌های ۱ میلی لیتری در دمای -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری نمودیم. میزان فعالیت آنزیم‌های LDH و CK-MB در سرم رت‌ها در گروه‌های مختلف با استفاده از کیت‌های معتبر از شرکت پارس آزمون به روش آنزیمی با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شدند.

آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۶، بکارگیری آزمون‌های one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey's انجام گردید و وزن، قندخون، پروفایل لیپیدی، آنزیم‌های قلبی رت‌ها مورد سنجش قرار دادیم. مقدار $P < 0/05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. اندازه‌گیری MDA به روش Yagi و با اسپکتروفلوریمتری در طول موج تحریکی ۵۱۵ نانومتر و طول موج نشری ۵۵۳ نانومتر شدت فلورسانس اندازه‌گیری گردید.

جدول ۱) وزن و قندخون در گروه رت‌های مورد مطالعه

پارامترها / گروه	کنترل سالم (n=۸)	کنترل سالم + کربوکسی متیل سلولز (n=۸)	کنترل دیابتی (n=۸)	کنترل دیابتی + کربوکسی متیل سلولز (n=۸)	دیابتی تحت درمان با دوز ۹۰ (n=۸)	دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ (n=۸)
وزن اولیه (گرم)	۲۵۱/۶۲±۲۳/۰۲	۲۴۴/۱۲±۲۸/۵۹	۲۲۲/۰۰±۲۵/۹	۲۵۳/۸۷±۲۵/۵۸	۲۲۸/۱۲±۳۳/۸۸	۲۴۵/۰۰±۳۵/۴۶
وزن بین دوره (گرم)	۲۸۶/۱۲±۲۸/۹۳	۲۸۳/۸۷±۲۹/۳۲	۲۳۳/۵۰±۴۲/۰۳ ^{a*}	۲۶۲/۶۲±۳۴/۷۵	۲۴۲/۰۰±۴۱/۰۴	۲۹۷/۰۰±۴۳/۶۱
وزن نهایی (گرم)	۲۹۵/۱۲±۳۰/۲۷	۲۹۱/۸۷±۳۸/۴۱	۲۴۰/۲۵±۴۱/۴۱ ^{a*}	۲۷۲/۶۲±۳۶/۳۵ ^{a*}	۲۵۸/۳۷±۴۴/۶۳ ^{a*,b}	۳۱۸/۲۵±۴۱/۵۵ ^{a*,b†}
قندخون ناشنا پیش از درمان (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۹۷/۳۷±۸/۰	۹۴/۲۵±۹/۸	۳۲۸/۵۰±۱۳۴/۹	۲۷۴/۲۵±۷۳/۴	۲۰۷/۰۰±۷۵/۳	۱۳۱/۶۲±۲۰/۰
قندخون ناشنا شروع درمان (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۸۵/۷۵±۱۲/۳	۹۱/۳۷±۱۰/۲	۲۸۴/۸۷±۵۹/۷	۲۵۵/۱۲±۷۱/۷	۱۳۸/۵۸±۰/۱	۱۱۷/۷±۸۲/۷
قندخون ناشنا پایان درمان (میلی‌گرم/دسی‌لیتر)	۹۲/۰۰±۷/۹	۸۶/۲۵±۸/۶	۲۳۷/۵۰±۸۱/۱ ^{a*}	۲۶۳/۵۰±۳۱/۰۷ ^{a*}	۲۲۳/۶۲±۹۲/۱۴ ^{a*,b*}	۱۴۲/۶۸±۹۶/۲۱ ^{b*}

داده‌ها به صورت mean ± SD نشان داده شده‌اند. گروه C: کنترل سالم، CMC: کربوکسی متیل سلولز، D: دیابتی، R: رزوراترول. ^a: مقایسه با گروه کنترل سالم، ^b: مقایسه با گروه دیابتی، ^c: $P < 0/001$ نشان‌دهنده معنی‌دار بودن، [†] $P < 0/05$ و [‡] $P < 0/01$

وزن بدن رزوراترول بهبود معنی داری در پروفایل لیپیدی در مقایسه با گروه دیابتی نشان مشاهده گردید ($P < 0/001$). اما این میزان بهبود در پروفایل لیپیدی به حد گروه کنترل سالم نرسید. (جدول ۲)

بر اساس نتایج حاصله، در گروه دیابتی کنترل افزایش معنی داری در میزان تری گلیسرول، کلسترول و همچنین کاهش معنی داری در میزان HDL-C نسبت به گروه کنترل سالم دیده شد ($P < 0/001$). علاوه بر این در گروه‌های دیابتی تحت درمان با دوزهای ۹۰ و ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم

جدول ۲) داده‌های مربوط به پروفایل لیپیدی رت‌های مورد مطالعه

پارامترها/گروه	کنترل سالم (n=8)	کنترل سالم + کربوکسی متیل سلولز (n=8)	کنترل دیابتی (n=8)	کنترل دیابتی+ کربوکسی متیل سلولز (n=8)	دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ (n=8)	دیابتی تحت درمان با دوز ۹۰ (n=8)
کلسترول (میلی گرم/دسی لیتر)	106/87±37/9	107/50±37/7	171/0±37/5	173/12±37/2	145/50±17/7	163/12±27/64
تری گلیسرید (میلی گرم/دسی لیتر)	82/50±37/9	83/0±27/3	154/12±47/0	167/24±17/2	123/25±27/25	151/37±37/54
HDL-C (میلی گرم/دسی لیتر)	42/61±7/5	41/33±5/2	33/53±37/39	31/00±47/52	38/93±57/13	38/96±47/94
VLDL-C (میلی گرم/دسی لیتر)	16/50±07/6	16/60±07/4	30/82±07/8	30/82±07/3	24/65±07/4	30/27±07/7
LDL-C (میلی گرم/دسی لیتر)	47/76±107/1	49/56±57/1	106/63±47/5	111/30±67/4	81/88±37/4	93/88±77/3
ایندکس آتروژنیک (TG/HDL-C)	1/98±07/3	2/03±07/2	4/63±07/25	5/07±07/8	3/21±07/3	4/2/94±07/5

داده‌ها به صورت mean ± SD نشان داده شده‌اند. گروه C: کنترل سالم، CMC: کربوکسی متیل سلولز، D: دیابتی، R: رزوراترول. * $P < 0/001$ † $P < 0/05$ ‡ $P < 0/01$ § $P < 0/001$: مقایسه با گروه کنترل سالم C، †: مقایسه با گروه دیابتی D.

کنترل سالم نشان داد ($P < 0/001$). در گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم LDH نسبت به گروه دیابتی داشت ($P < 0/05$). در گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۹۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم LDH و CK-MB نسبت به گروه دیابتی مشاهده نشد ($P < 0/001$). هرچند، در مقایسه با گروه کنترل سالم تفاوت معنی وجود نداشت. (جدول ۳)

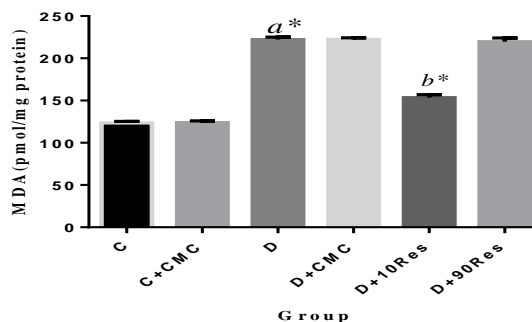
طبق نتایج گزارش شده در این جدول فعالیت آنزیم CK-MB در گروه دیابتی افزایش معنی داری نسبت به گروه کنترل سالم مشاهده شد ($P < 0/001$). در گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ میلی گرم در کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی داری در فعالیت آنزیم CK-MB نسبت به گروه دیابتی نشان داد ($P < 0/05$). اما در مقایسه با گروه کنترل سالم تفاوت معنی داری را نشان نداد. فعالیت آنزیم LDH در گروه دیابتی افزایش معنی داری را نسبت به گروه

جدول ۳) داده‌های مربوط به آنزیم‌های قلبی رت‌های مورد مطالعه						
پارامترها/گروه	کنترل سالم (n=۸)	کنترل سالم + کربوکسی متیل سلولز (n=۸)	کنترل دیابتی (n=۸)	کنترل دیابتی + کربوکسی متیل سلولز (n=۸)	دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ (n=۸)	دیابتی تحت درمان با دوز ۹۰ (n=۸)
CK-MB	۴۲۶/۰۱±۱۳/۲	۵۱۲/۹۷±۱۵/۴	۸۱۴/۲۸±۹۸/۲۴ ^{a*}	۸۰۴/۵۷±۶۵/۳۱ ^{a†}	۵۵۲/۲۶±۹۲/۲ ^{b†}	۶۲۰/۰۷±۹۲/۸۶ ^b
LDH	۴۶۳/۳۱±۲۱/۴	۴۵۴/۲۲±۳۰/۵	۸۶۸/۱۱±۶۲/۶ ^{a†}	۹۶۹/۰۷±۳۲/۶ ^{a†}	۵۵۱/۱۸±۸۲/۰۱ ^{b†}	۶۵۶/۷۶±۷۸/۴ ^b

داده‌ها به صورت mean ± SD نشان داده شده‌اند. گروه C: کنترل سالم، CMC: کربوکسی متیل سلولز، D: دیابتی، R: رزوراترول، *P<۰/۰۰۱، †P<۰/۰۰۱، ‡P<۰/۰۵ و ††P<۰/۰۰۱. مقایسه با گروه کنترل سالم C، †: مقایسه با گروه دیابتی D.

میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری در غلظت MDA نسبت به گروه دیابتی نشان داد (P<۰/۰۰۱). (نمودار ۱)

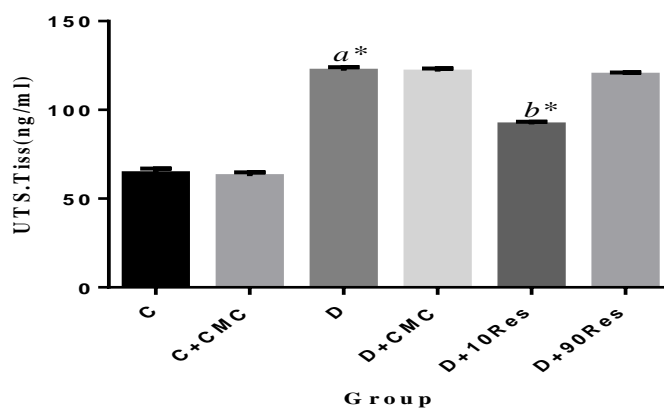
میزان MDA به عنوان شاخصی برای پراکسیداسیون چربی، افزایش معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) در بافت قلب رت‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل داشت. از طرفی دیگر غلظت MDA در گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰



نمودار ۱) داده‌های مربوط به سطح سرمی مالون دی آلدئید در رت‌های مورد مطالعه.
Fig 1) Data of malondialdehyde levels in serums of the rats under studied.

اوروتنسنین ۲ و گیرنده اوروتنسنین ۲ در گروه دیابتی تحت درمان با دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی نشان داد (P<۰/۰۰۱).

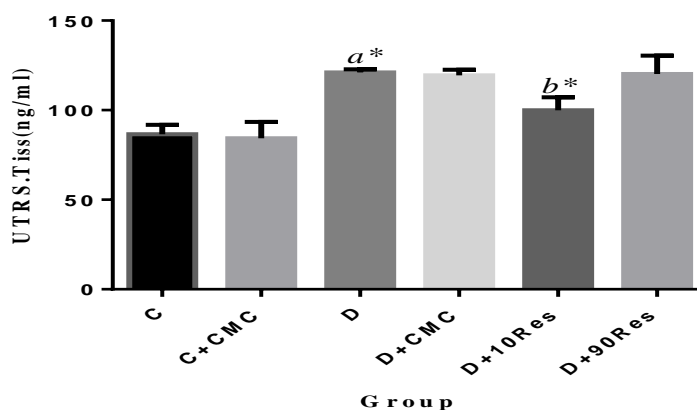
میزان اوروتنسنین ۲ (نمودار ۲) و گیرنده اوروتنسنین ۲ (نمودار ۳) افزایش معنی‌داری در بافت قلب رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل نشان داد (P<۰/۰۰۱). میزان



نمودار ۲) میزان سطوح اوروتنسنین ۲ دریافت هموژنیزه رت‌ها

Fig 2) Urotensin 2 levels in homogenized tissue of rats

داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده‌اند. گروه C: کنترل سالم، CMC: کربوکسی متیل سلولوز، D: دیابتی، R: رزوراترول، $P < 0.01$ ‡، $P < 0.001$ *، $P < 0.05$ † و $P < 0.05$ †^a: مقایسه با گروه کنترل سالم C، ^b: مقایسه با گروه دیابتی D.



نمودار ۳) میزان سطوح گیرنده اوروتنسنین ۲ دریافت هموژنیزه رت‌ها

Fig 3) Levels of urotensin2 receptors in the homogenized tissue of rats

داده‌ها به صورت $\text{mean} \pm \text{SD}$ نشان داده شده‌اند. گروه C: کنترل سالم، CMC: کربوکسی متیل سلولوز، D: دیابتی، R: رزوراترول، $P < 0.01$ ‡، $P < 0.001$ *، $P < 0.05$ † و $P < 0.05$ †^a: مقایسه با گروه کنترل سالم C، ^b: مقایسه با گروه دیابتی D.

بحث

بالینی بیماران دیابتی با افزایش بیش از حد گلوکز و چربی خون شناسایی می‌شوند (۲۳). نرخ ابتلا به دیابت در تمامی کشورهای جهان به ویژه کشورهای توسعه یافته، رو به افزایش است، و شمار مبتلایان به این بیماری در ایران بالغ بر ۴/۵ میلیون نفر می‌باشد. بنابراین در ایران نیز دیابت با

بیماری دیابت یک اختلال متابولیکی است که با هیپرگلیسمی مزمن و اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی‌ها و پروتئین‌ها همراه می‌باشد، و ناشی از اختلال در عملکرد انسولین یا کمبود آن، و یا هر دو می‌باشد. از لحاظ

شیوع بیش از ۸ درصد، تهدیدی جدی برای سلامت افراد به شمار می‌رود (۲۴). نقش بالقوه گیاهان دارویی به عنوان عوامل کاهش‌دهنده قندخون در بسیاری از مطالعات گیاه‌شناسی و کاربرد گیاهان دارویی در فرهنگ‌ها مختلف گزارش شده است (۲۵ و ۲۶). دیابت نوع دوم القاء شده توسط استرپتوزوتوسین در رت‌ها، موجب کاهش وزن به دلیل تحلیل عضلانی و از دست رفتن پروتئین عضله می‌شود به همین دلیل وزن رت‌های مورد مطالعه در این پژوهش، در طول دوره آزمایش در گروه‌های کنترل دیابتی کاهش نشان داد که معنی‌دار بود (۲۷ و ۲۸). همچنین نتایج نشان داد که وزن رت‌ها در گروه‌های دیابتی تحت درمان با دوزهای مختلف رزوراترول (۹۰ و ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن)، در پایان زمان تیمار در مقایسه با گروه دیابتی افزایش داشت. در پایان مطالعه، درمان با دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن رزوراترول موجب بهبود قندخون در مقایسه با گروه دیابتی کنترل شد. در تحقیقاتی که توسط موریدی و اوزتورگ در بررسی اثرات رزوراترول انجام گرفته گزارش شده است که درمان رت‌های دیابتی با رزوراترول سبب بهبود قندخون، افزایش ترشح انسولین و بهبود HOMA-IR می‌شود، که این خود با نتایج مطالعه ما همسو است (۲۹ و ۳۰). در این مطالعه، میزان HDL-C در گروه تحت درمان با رزوراترول افزایش معنی‌داری نشان داده HDL یک محافظت‌کننده قوی در برابر ایجاد آترواسکلروز می‌باشد و مکانیسم عمل آن به صورت حذف بیش از حد کلسترول از بافت‌های محیطی می‌باشد (۳۱). در مطالعه حاضر نیز نتایج نشان داد که رزوراترول در دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن باعث بهبود پروفایل لیپیدی در گروه دیابتی تحت درمان نسبت به گروه دیابتی کنترل شد. در واقع رادیکال‌های آزاد با حمله به لیپیدها و افزایش پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع، باعث تولید MDA می‌گردند. افزایش سطح این بیومارکر

در بافت‌های بدن ناتوانی دفاع آنتی‌اکسیدان‌ها در افراد دیابتی را نشان می‌دهد. افزایش سطح آنتی‌اکسیدان‌ها در بدن بیمار می‌تواند به عنوان یک سیستم دفاعی برای مقابله با استرس اکسیداتیو به کار رفته و موجب کاهش اکسیداسیون لیپیدها و کاهش سطح MDA گردد (۳۲) و (۳۳). در مطالعه حاضر نیز هم راستا با مطالعات ذکر شده میزان MDA افزایش معنی‌داری در بافت قلب رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل نشان داد. از طرفی غلظت MDA در گروه دیابتی تحت درمان با رزوراترول به صورت معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش نشان داد. سطوح سرمی CK-MB و LDH به‌طور معمول به عنوان بیومارکرهای سنجش صدمات به بافت قلب محسوب می‌شوند، و میزان فعالیت کراتین فسفوکیناز موجود در سرم نشان‌دهنده مرحله اولیه ایسکمی قلبی بوده، در حالی که اوج افزایش LDH متناسب با میزان گسترش تخریب بافت قلب می‌باشد (۳۴). طبق نتایج مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های CK-MB و LDH در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل سالم نشان دادند. در گروه دیابتی تحت درمان با دوزهای ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن کاهش معنی‌داری در فعالیت آنزیم‌های CK-MB و LDH نسبت به گروه دیابتی مشاهده گردید. اوروتنسن ۲ (U-II)، یک پپتید وازواکتیو و به‌عنوان آگونیست گیرنده اوروتنسن ۲ (UTR) و از طریق اتصال با یک G پروتئین واکنش می‌دهد. در شرایط سلامت فرد، اتصال اوروتنسن ۲ با گیرنده خود، نقش مهمی را در تعیین فشارخون و آزادسازی انسولین دارد. مطالعات زیادی، افزایش سطح U-II/UTR را در بیماری‌های دیابت نوع دو، نارسایی قلبی و آترواسکلروز نشان می‌دهد (۳۵). در سال ۲۰۱۶ پژوهشگران در بررسی‌های خود نشان دادند که سطح اوروتنسن ۲ در بیماران دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد و بنابراین سطح U-II ممکن است به‌عنوان

U-II/UTR هنوز ناشناخته است و نیاز به بررسی‌های بیشتر در آینده دارد. استفاده از رزوراترول تنها با دوز ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن و در گروه‌های دیابتی تحت درمان نتایج معنی‌داری را در تعدیل عوارض ناشی از دیابت نوع دو در رت‌های دیابتی داشت. که این خود می‌تواند با خواص آنتی‌اکسیدانی این ترکیب مرتبط باشد. از محدودیت‌های طرح می‌توان به کمبود بودجه تحقیقاتی، مرگ و میر رت‌ها و همچنین مشکلات تهیه و خریداری کیت‌ها و مواد مورد نیاز خارجی نام برد.

نتیجه‌گیری

درمان با رزوراترول موجب بهبود میزان قندخون، پروفایل لیپیدی، وزن، سطح سرمی MDA و آنزیم‌های قلبی گردید. همچنین رزوراترول موجب کاهش معنی‌دار اوروتنسنین ۲ و گیرنده آن در بافت قلب شد که نشان دهنده اثر تعدیلی رزوراترول در عوارض ناشی از دیابت می‌باشد.

سپاس و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر که در اجرای این طرح همکاری لازم داشته‌اند کمال تشکر دارند.

تضاد منافع

هیچ‌گونه تعارض منافع توسط نویسندگان بیان نشده است.

References:

1. Zamani F, Bakhtiyari M, Mansournia MA, et al. Is Incident Type 2 Diabetes Associated With Cumulative Excess Weight And Abdominal

یک عامل مهم در عوارض قلبی، عروقی دیابت محسوب شود. مطالعات نشان می‌دهند که آنتاگونیست‌های UTR و یا مواد مؤثره گیاهان ممکن است به عنوان روش‌های درمانی جدید برای بیماری‌های قلبی-عروقی فراهم آورند. آنتاگونیست‌های UTR به طور قابل توجهی اثرات اوروتنسنین ۲ را مهار می‌کنند و U-II در قلب، سلول‌های اندوتلیال، سلول‌های عضلات صاف، و فیبروبلاست قلبی وجود دارد (۳۶). در موازات مطالعه ما، زینکی - چنگ از ترکیب گیاهی بنام TFR^۱ بر روی رت‌ها استفاده گردیده است. این گیاه حاوی فلاونوئیدهایی است که خاصیت آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی و ضد فیروز دارند. نتایج این تحقیق نشان داد که TFR از طریق کاهش بیان سیستم U-II/UTR موجب محافظت قلب رت‌ها در برابر سکنه قلبی^۲ می‌شود (۳۷ و ۳۸).

با توجه به اهمیت اختلالات قلبی در بیماران دیابتی، و اهمیت داشتن ترکیبات، مخصوصاً با منبع گیاهی برای پیشگیری از اختلالات حاصل از بیماری دیابت، مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر رزوراترول به عنوان آنتاگونیست سیستم U-II/UTR در رت‌های دیابتی انجام شد. سطوح U-II/UTR در بافت رت‌های تحت درمان با رزوراترول به‌طور چشمگیری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی کاهش پیدا کرد. این نتیجه با پژوهش‌های ذکر شده هم راستا بود. کاهش معنی‌دار U-II/UTR در بافت قلب رت‌های دیابتی تحت درمان ممکن است به دلیل اثر آنتاگونیستی رزوراترول بر روی گیرنده اوروتنسنین ۲ باشد. اما مکانیسم اثر دقیق رزوراترول بر روی سیستم

Adiposity? Tehran Lipid And Glucose Study. Diabetes Res Clin Pract 2018; 136: 134-42.

² MI: Myocardial infarction

¹ Total flavones from *Rhododendron simsii* Planch. flower

2. Ogurtsova K, Da Rocha Fernandes JD, Huang Y, et al. IDF Diabetes Atlas: Global Estimates For The Prevalence Of Diabetes For 2015 And 2040. *Diabetes Res Clin Prac* 2017; 128: 40-50.
3. Abdul-Ghani M, Defronzo RA, Del Prato S, et al. Cardiovascular Disease And Type 2 Diabetes: Has The Dawn Of A New Era Arrived? *Diabetes Care* 2017; 40(7): 813-20.
4. Vaudry H, Leprince J, Chatenet D, et al. International Union Of Basic And Clinical Pharmacology. XCII. Urotensin II, Urotensin II-Related Peptide, And Their Receptor: From Structure To Function. *Pharmacol Rev* 2015; 67(1): 214-58.
5. Liu JC, Chen CH, Chen JJ, et al. Urotensin II Induces Rat Cardiomyocyte Hypertrophy Via The Transient Oxidization Of Src Homology 2-Containing Tyrosine Phosphatase And Transactivation Of Epidermal Growth Factor Receptor. *Mol Pharmacol* 2009; 76(6): 1186-95.
6. Yoshimoto T, Matsushita M, Hirata Y. Role Of Urotensin II In Peripheral Tissue As An Autocrine/Paracrine Growth Factor. *Peptides* 2004; 25(10): 1775-81.
7. Stirrat A, Gallagher M, Douglas SA, et al. Potent Vasodilator Responses To Human Urotensin-II In Human Pulmonary And Abdominal Resistance Arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2001; 280(2): H925-8.
8. Gruson D, Ginion A, Lause P, et al. Urotensin II And Urocortin Trigger The Expression Of Myostatin, A Negative Regulator Of Cardiac Growth, In Cardiomyocytes. *Peptides* 2012; 33(2): 351-3.
9. Gruson D, Ginion A, Decroly N, et al. Urotensin II Induction Of Adult Cardiomyocytes Hypertrophy Involves The Akt/GSK-3 β Signaling Pathway. *Peptides* 2010; 31(7): 1326-33.
10. Djordjevic T, Belaiba RS, Bonello S, et al. Human Urotensin II Is A Novel Activator Of NADPH Oxidase In Human Pulmonary Artery Smooth Muscle Cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25(3): 519-25.
11. Libby P, Ridker PM, Hansson GK, et al. Inflammation In Atherosclerosis: From Pathophysiology To Practice. *J Am Coll Cardiol* 2009; 54(23): 2129-38.
12. Watanabe T, Suguro T, Kanome T, et al. Human Urotensin II Accelerates Foam Cell Formation In Human Monocyte-Derived Macrophages. *Hypertension* 2005; 46(4): 738-44.
13. Tsoukas P, Kane E, Giaid A. Potential Clinical Implications Of The Urotensin II Receptor Antagonists. *Front Pharmacol* 2011; 2: 38.
14. Liu Q, Wang S, Cai L. Diabetic Cardiomyopathy And Its Mechanisms: Role Of Oxidative Stress And Damage. *J Diabetes Investig* 2014; 5(6): 623-34.
15. Roglic G. WHO Global Report On Diabetes: A Summary. *Int J Noncommunicable Dis* 2016; 1(1): 3-8.
16. Rao MU, Sreenivasulu M, Chengaiah B, et al. Herbal Medicines For Diabetes Mellitus: A Review. *Int J Pharmtech Res* 2010; 2(3): 1883-92.
17. Ma DSL, Tan LT, Chan KG, et al. Resveratrol-Potential Antibacterial Agent against Foodborne Pathogens. *Front Pharmacol* 2018; 9: 102.
18. Sadi G, Konat D. Resveratrol Regulates Oxidative Biomarkers And Antioxidant Enzymes In The Brain Of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Pharm Biol* 2016; 54(7): 1156-63.
19. Wang H, Yang YJ, Qian HY, et al. Resveratrol In Cardiovascular Disease: What Is Known From Current Research?. *Heart Fail Rev* 2012; 17(3): 437-48.
20. Strunz CMC, Roggerio A, Cruz PL, et al. Down-Regulation Of Fibroblast Growth Factor 2 And Its Co-Receptors Heparan Sulfate Proteoglycans By Resveratrol Underlies The Improvement Of Cardiac Dysfunction In Experimental Diabetes. *J Nutr Biochem* 2017; 40: 219-27.
21. Li G, Wang G, Shi J, et al. Trans-Resveratrol Ameliorates Anxiety-Like Behaviors And Fear Memory Deficits In A Rat Model Of Post-Traumatic Stress Disorder. *Neuropharmacology* 2018; 133: 181-8.
22. Su D, Wu S, Guo J, et al. Protective Effect Of Resveratrol Against Pseudorabies Virus-Induced Reproductive Failure In A Mouse Model. *Food Sci Biotechnol* 2016; 25(1): 103-6.
23. Thomson M, Al-Amin ZM, Al-Qattan KK, et al. Anti-Diabetic And Hypolipidaemic Properties Of Garlic (*Allium Sativum*) In Streptozotocin-

- Induced Diabetic Rats. *Int J Diabetes Metab* 2007; 15: 108-15.
24. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, et al. Global Estimates Of Diabetes Prevalence For 2013 And Projections For 2035. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 103(2): 137-49.
25. Schoenfelder T, Cirimbelli TM, Citadini-Zanette V. Acute Effect Of *Trema Micrantha* (Ulmaceae) On Serum Glucose Levels In Normal And Diabetic Rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 107(3): 456-9.
26. Paiz RC, Juárez-Flores BI, Ortega C, et al. Glucose-Lowering Effect Of *Xoconostle* (*Opuntia Joconostle* A. Web., Cactaceae) In Diabetic Rats. *J Med Plants Res* 2010; 4(22): 2326-33.
27. Ng CS, Lee JY, Toh MP, et al. Cost-of-Illness Studies of Diabetes Mellitus: A Systematic Review. *Diabetes Res Clin Pract* 2014; 105(2): 151-63.
28. Swanston-Flatt SK, Day C, Bailey CJ, et al. Traditional Plant Treatments For Diabetes. Studies In Normal And Streptozotocin Diabetic Mice. *Diabetologia* 1990; 33(8): 462-4.
29. Öztürk E, Arslan AKK, Yerer MB, et al. Resveratrol and Diabetes: A Critical Review Of Clinical Studies. *Biomed Pharmacother* 2017; 95: 230-4.
30. Moridi H, Karimi J, Sheikh N, et al. Resveratrol-Dependent Down-Regulation Of Receptor For Advanced Glycation End-Products And Oxidative Stress In Kidney Of Rats With Diabetes. *Int J Endocrinol Metab* 2015; 13(2): e23542.
31. Zhu L, Luo X, Jin Z. Effect Of Resveratrol On Serum And Liver Lipid Profile And Antioxidant Activity In Hyperlipidemia Rats. *Asian Austral J Anim Sci* 2008; 21(6): 890-5.
32. Dallak MM, Mikhailidis DP, Haidara MA, et al. Oxidative Stress As A Common Mediator For Apoptosis Induced-Cardiac Damage In Diabetic Rats. *Open Cardiovasc Med J* 2008; 2: 70-8.
33. Alabdan MA. Silymarin Ameliorates Metabolic Risk Factors And Protects Against Cardiac Apoptosis In Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. *Biomed Biotechnol* 2015; 3(2): 20-7.
34. Thangasamy G, Pari L, Ellappan P, et al. Effect Of Pterostilbene On Cardiac Oxidative Stress On High-Fat Diet-Fed And Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Mice. *Asian J Pharm Pharmacol* 2019; 5(4): 827-33.
35. Bousette N, Giaid A. Urotensin-II And Cardiovascular Diseases. *Curr Hypertens Rep* 2006; 8(6): 479-83.
36. Leprince J, Chatenet D, Dubessy C, et al. Structure-Activity Relationships Of Urotensin II And URP. *Peptides* 2008; 29(5): 658-73.
37. Cheng X, Zhang J, Chen Z. Effects Of Total Flavone From *Rhododendron Simsii* Planch. Flower On Postischemic Cardiac Dysfunction And Cardiac Remodeling In Rats. *Evid-Based Compl Alt Med* 2017; 2017: 9.
38. Movahed A. Beneficial Effects Of Resveratrol, Present In Grapes In The Prevention And Treatment Of Heart Disease And Failure. *Iran South Med J* 2015; 18(1): 183-99. (Persian)

Original Article

Effects of Resveratrol on the Level of Urotensin II and its Receptors in the Homogenized Tissue of Diabetic Rats

R. Rahimikian (BSc)^{1}, S. Akbarzadeh (PhD)², R. Rahimi (MSc)¹,
Kh. Pourkhalili (PhD)³, M. Mahmoodi (PhD)⁴, R. Seyedian (PhD)⁵
Kh. Ghasemi (MD)⁶, A. Movahed (PhD)^{2**}*

¹ Department of Biochemistry, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

² The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

³ Department of Physiology, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁴ Biological statistical group, School of Health, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁵ Department of Pharmacology School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

⁶ Pediatric Department, School of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 6 Jul, 2019 Accepted 5 Feb, 2020)

Abstract

Background: Individuals with diabetes mellitus are at serious risk of a wide range of cardiovascular complications. Urotensin 2 and its receptors play an important role in the development of cardiovascular diseases through production of reactive oxygen species (ROS). Resveratrol is a polyphenol with antioxidant and anti-diabetic properties. The present study aimed to investigate the effects of resveratrol on urotensin 2 and its receptors in the heart tissues of diabetic rats.

Materials and Methods: In this experimental study, 48 male Wistar rats were divided into six groups (N= 8 in each group). Resveratrol was prepared in 0.5% carboxymethyl cellulose and given to the rats through oral gavage. At the end of the 60 days of treatment with resveratrol, rats' heart tissue was collected.

Results: The weight of diabetic rats treated with 10 and 90 mg/kg bw of resveratrol significantly increased compared with the diabetic group. Furthermore, the serum levels of FBS, lipids, MDA, CK-MB and LDH decreased in the treated diabetic rats compared with the control group. Moreover, concentration of urotensin 2 and its receptors significantly decreased in the heart tissues of the diabetic rats treated with resveratrol at the dose of 10 mg/kg bw compared with the control group.

Conclusion: The current study indicated that resveratrol decreased FBS, lipids, weight, MDA and cardiac enzymes. Furthermore, resveratrol significantly reduced urotensin 2 and its receptors, which indicates its moderating effect on diabetes complications.

Keywords: Type 2 diabetes, heart disease, resveratrol, Urotensin 2, Urotensin 2 receptor

©Iran South Med J. All right reserved

Cite this article as: Rahimikian R, Akbarzadeh S, Rahimi R, Pourkhalili Kh, Mahmoodi M, Seyedian R, Ghasemi Kh, Movahed A. Effects of Resveratrol on the Level of Urotensin II and its Receptors in the Homogenized Tissue of Diabetic Rats. Iran South Med J 2020; 23(3): 236-247

Copyright © 2020 Rahimikian, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, provided the original work is properly cited.

**Address for correspondence: The Persian Gulf Tropical Medicine Research Center, The Persian Gulf Biomedical Sciences Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, and Bushehr, Iran. Email: amovahed58@gmail.com

*ORCID: 0000-0002-2328-3299

**ORCID: 0000-0002-1988-4091

Website: <http://bpums.ac.ir>

Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>