مجله‌ی غدد درون‌ریز و متابولیسم ایران
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی شهید بهشتی
دوره‌ی دهم، شماره‌ی ۵، صفحه‌های ۵۴۱ ـ ۵۳۳ (دی ۱۳۸۷)

مقاله‌ی پژوهشی

اثر تجویز گابا بر بهبود علایم دیابت تجربی در موش نژاد CD1

دکتر نپتون سلطانی[۱]، دکتر منصور کشاورز[۲]، دکتر چینوا ونگ[۳]

۱) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی و مرکز تحقیقات پیشگیری از عوامل خطرساز قلبی ـ عروقی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی هرمزگان، ۲) گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی تهران؛ ۳) گروه غدد درون‌ریز و متابولیسم، دانشگاه تورنتو، کانادا. **نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول:** گروه فیزیولوژی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی ـ درمانی هرمزگان، دکتر نپتون سلطانی؛ e-mail: nsoltani@hums.ac.ir

چکیده

مقدمه: گاما آمینو بوتیریک اسید (گابا) یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مهاری در سیستم عصبی پستانداران است. مطالعه‌ها نشان داده‌اند که گابا با غلظتی مشابه مغز در جزایر پانکراس وجود دارد و از سلول‌های بتا ترشح می‌شود و اعمال سلول‌های بتا را تنظیم می‌نماید. غلظت گابا و تعداد سلول‌های ترشح‌کننده‌ی آن در بافت پانکراس بیماران دیابتی و مدل‌های تجربی دیابت کاهش پیدا می‌کند. هم‌چنین در مورد اثر گابا بر ترشح انسولین یافته‌های ضد و نقیضی وجود دارد. این مطالعه با هدف بررسی این موضوع که آیا تجویز گابا در مدل حیوانی دیابت می‌تواند ترشح انسولین و گلوکاگون را تغییر دهد و منجر به بهبود برخی از علایم دیابت شود یا خیر. مواد و روش‌ها: در این مطالعه از ۲۰ عدد موش نر نژاد CD1 با سن هفت هفته استفاده شد. همه‌ی حیوانات با تجویز داخل صفاقی ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین (STZ) به مدت پنج روز متوالی دیابتی شدند. دو ماه پس از القای دیابت حیوانات به دو گروه ده تایی تقسیم شدند. یک گروه از حیوانات روزانه ۲۰۰ میکرومول گابا که در PBS حل شده بود به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت و گروه دیگر به عنوان شاهد (حلال)، هم حجم گابا از محلول PBS دریافت کرد. هر دو گره به مدت دو ماه و نیم تحت کنترل قرار گرفتند. نتایج میزان قند خون در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا، ۴۲ روز پس از درمان نسبت به گروه حلال و همین‌طور نسبت به اولین روز درمان کاهش معنی‌داری پیدا کرد. گلوکاگون، حجم ادرار و آب مصرفی در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا دو ماه و نیم پس از درمان نسبت به گروه حلال کاهش معنی‌داری را نشان داد و غلظت انسولین پلاسما (۰/۶۷±۰/۹۸۹ و ۰/۱۱±۰/۷۷۹ نانوگرم بر میلی‌لتیر) در این زمان افزایش معنی‌داری و غلظت گلوکاگون (۴/۵۲±۹۱/۷۱ و ۱۸/۷۸±۱۳۰/۰۷ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه حلال پیدا کردند. هم‌چنین، آزمون تحمل گلوکز نیز نسبت به گروه حلال دو ماه و نیم پس از درمان به حالت طبیعی بازگشت. نتیجه‌گیری: تجویز گابا می‌تواند از طریق تنظیم ترشح انسولین و گلوکاگون بعضی علایم دیابت را بهبود بخشد و شاید بتوان در آینده برای درمان دیابت از آن کمک گرفت.

واژگان کلیدی: دیابت، گابا، قند خون، انسولین، گلوکاگون، استرپتوزوتوسین

دریافت مقاله: ۸۶/۱۰/۱۹. دریافت اصلاحیه: ۸۷/۳/۲۱ ـ پذیرش مقاله: ۸۷/۳/۲۳

مقدمه

گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) یکی از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مهاری در سیستم عصبی پستانداران است. گابا توسط آنزیم گلوتامات دکربوکسیلاز (GAD)[i] از گلوتامات ساخته می‌شود.[۱-۳] نشان داده شده که گابا با غلظتی مشابه مغز در جزایر پانکراس وجود دارد و از سلول‌های بتا ترشح می‌شود.[۴،۵]

i - Glutamic Acid Decarboxylase

Archive of SID
www.SID.ir

گابا به صورت گسترده در بافت‌های درون‌ریز شامل هیپوفیز، رحم و تخمدان وجود دارد.[۶] علاوه بر آن گابا در پاتوفیزیولوژی اختلال‌های آندوکرین مانند دیابت ملیتوس، بیماری‌های غده‌ی آدرنال و سیستم تولید مثل نقش دارد.[۶]

حضور گابا و آنزیم‌های سنتزکننده (GAD) و مهارکننده‌ی آن (گابا ترانس‌آمیناز) در سلول‌های بتای پانکراس نشان‌دهنده‌ی این موضوع است که گابا به عنوان یک مهارکننده‌ی پانکراس عمل می‌کند.[۴] مطالعه‌ها نشان داده‌اند که گابا به همراه انسولین از سلول‌های بتا ترشح می‌شود و سبب مهار ترشح گلوکاگون از سلول‌های آلفا می‌شود.[۷] بنابراین ترشح موضعی گابا می‌تواند اثر مهاری بر روی ترشح گلوکاگون و سوماتواستاتین داشته باشد.[۴] برخی مطالعه‌ها وجود رسپتورهای گابای نوع B را در سلول‌های بتای پانکراس نشان داده‌اند و معتقد هستند تحریک این رسپتورها منجر به کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتا می‌شود.[۸،۹] در حالی‌که مطالعه‌های دیگر حضور رسپتورهای گابای نوع A را در جزایر پانکراس نشان داده‌اند و بر این باور هستند که تحریک این رسپتورها منجر به افزایش ترشح انسولین می‌شود.[۷،۱۰]

لیگون و همکاران نشان دادند که رسپتور گابای نوع A به وسیله‌ی لنفوسیت‌های T بیان می‌شود و تجویز گابا می‌تواند با تأثیر بر این رسپتورها واکنش‌های التهابی را که منجر به تخریب سلول‌های بتا می‌شود را متوقف نماید.[۱۱] از سوی دیگر سایر مطالعه‌ها نشان داده‌اند که غلظت گابا و تعداد سلول‌های ترشح کننده‌ی آن در بافت پانکراس انسان و مدل‌های تجربی دیابت کاهش پیدا می‌کند.[۱۲]

با توجه به این‌که اثر گابا بر ترشح انسولین در مطالعه‌های قبلی تنها در سلول‌های بتای ایزوله شده و جزایر لانگرهانس ایزوله شده، انجام شده است و علاوه بر آن، یافته‌های به دست آمده یکسان نیستند،[۷-۱۰] این مطالعه قصد دارد نشان دهد که آیا تجویز گابا در مدل حیوانی دیابت می‌تواند ترشح انسولین و گلوکاگون را تغییر دهد و منجر به بهبود برخی از علایم دیابت شود یا خیر.

مواد و روش‌ها

حیوانات: در این مطالعه از ۲۰ عدد موش نر نژاد CD1 با سن هفت هفته و وزن ۳۸/۱±۰/۴ گرم (گروه دریافت‌کننده‌ی گابا) و ۳۸/۲ ±۰/۹ گرم (گروه شاهد) استفاده شد. وزن حیوانات دو ماه و نیم پس از مطالعه به ترتیب به ۴۳±۰/۴ در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و ۳۹/۸ ±۰/۵ گرم در گروه شاهد رسید. همه‌ی حیوانات در شرایط دمای ۲±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و چرخه‌ی نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. حیوانات دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند.

القای دیابت: همه‌ی حیوانات با تجویز داخل صفاقی ۴۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن استرپتوزوتوسین به مدت پنج روز متوالی دیابتی شدند.[۱۳-۱۵] قبل از القای دیابت به کمک گلوکومتر (Canada Ascensia ELITE XL metr) قند خون غیر ناشتای حیوانات از طریق ورید دمی اندازه‌گیری شد.[۱۳] پس از القای دیابت نیز هر سه روز یک بار قند خون و وزن حیوانات کنترل می‌شد. حیواناتی که قند خون بالاتر از ۱۷ میلی‌مول در لیتر داشتند (قند خون طبیعی حیوانات غیر ناشتا ۷ میلی‌مول در لیتر است) به عنوان دیابتی تلقی شدند.[۱۳]

دو ماه پس از القای دیابت (به خاطر اینکه عوارض دیابت کاملاً ایجاد شود[۱۶-۱۸]) حیوانات به دو گروه ده‌تایی تقسیم شدند. یک گروه روزانه ۲۰۰ میکرومول گابا که در PBS[i] حل شده بود به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند (این دوز بر اساس یک مطالعه مقدماتی انتخاب شد) و گروه دیگر به صورت تزریق داخل صفاقی هم‌حجم گابا از محلول PBS دریافت کردند و به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شدند. هر دو گروه به مدت ۷۵ روز بررسی قرار شدند.

آزمون تحمل گلوکز داخل صفاقی (IPGTT)[ii]: در حیوانات دو گروه قبل از تجویز گابا و PBS و سه، پنج و هشت هفته بعد از شروع درمان آزمون تحمل گلوکز انجام شد. برای انجام این آزمون حیوانات شب قبل از آزمایش ناشتا نگه داشته شدند (به مدت ۱۶ ساعت) و صبح روز بعد ابتدا قند خون ناشتا از طریق خون ورید دمی اندازه‌گیری می‌شد[۱۳] و سپس به آن‌ها ۱/۵ گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن گلوکز با حجم ۰/۲ تا ۰/۳ سی‌سی به صورت داخل صفاقی تزریق و قند خون ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه بعد از تزریق گلوکز از طریق خون ورید دمی اندازه‌گیری شد.[۱۳]

i- Phosphate Buffered saline
ii - Intraperitoneal Glucose Tolerance Test

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون پاسخ‌دهی به انسولین (ITT)[i]:

دو ماه و نیم بعد از تجویز گابا و PBS در حیوانات دو گروه ابتدا قند خون غیر ناشتا از طریق خون ورید دمی اندازه‌گیری شد و سپس ۲/۵ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، انسولین به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق شد و در زمان‌های ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۶۰، ۹۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق انسولین، قند خون اندازه‌گیری شد.[۱۹]

آنالیز متابولیک: حیوانات دو گروه قبل از اولین تزریق گابا و PBS و قبل از کشته شدن، به مدت ۲۴ ساعت داخل قفس متابولیک قرار داده شدند و میزان مصرف آب و غذا و هم‌چنین حجم ادرار آن‌ها به مدت ۲۴ ساعت مورد سنجش قرار گرفت.[۱۳،۲۰]

روش اندازه‌گیری انسولین و گلوکاگون: دو ماه پس از القای دیابت (قبل از تجویز گابا و PBS) ۲۰۰ میکرولیتر خون از طریق ورید صافن گرفته شد. دو ماه و نیم پس از درمان نیز همه‌ی حیوانات با تزریق داخل صفاقی ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم، کتامین به همراه گزیلازین بیهوش شده، سپس از قلب آن‌ها به میزان یک میلی‌لیتر خون گرفته شد. به ازای هر ۲۰۰ میکرولیتر خون ۲ میکرولیتر مهارکننده‌ی پروتئاز به خون اضافه، پس از سانتریفوژ کردن سرم آن جدا شده و در ۸۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. انسولین به روش الیزا توسط کیت انسولین موش (Crystal chem., Chicago, USA) و گلوکاگون به روش رادیو ایمونواسی توسط کیت گلوکاگون رت (Charles, Linco, St. MO, USA) اندازه‌گیری شد.[۱۳،۲۱،۲۲]

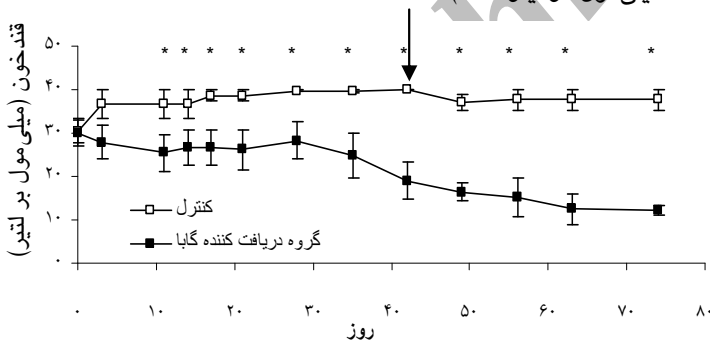
توزیع چربی در بدن: بعد از کشتن حیوانات دو گروه، چربی نواحی شکم و مزانتر جدا و به کمک ترازوی دقیق وزن شد.[۲۳] هدف از سنجش چربی بدن بررسی غیر مستقیم اثر انسولین بر مهار آنزیم لیپاز حساس به هورمون بود.

آنالیز آماری: همه‌ی یافته‌های این پژوهش به صورت میانگین±خطای معیار گزارش و برای مقایسه‌ی میانگین‌ها از آزمون تی استفاده شده است. برای مقایسه‌ی قند خون در دو گروه از آزمون آنووای دو طرفه استفاده و P< ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بین دو گروه قبل از تزریق گابا و PBS از نظر وزن، قند خون غیر ناشتا، یافته‌ها آزمون تحمل گلوکز، میزان آب و غذای مصرفی و حجم ادرار تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (یافته‌ها نشان داده نشده است).

تغییرات قند خون: نمودار ۱ تغییرات قند خون غیر ناشتای حیوانات دیابتی دریافت‌کننده‌ی گابا و PBS را نشان می‌دهد. همانطور که در منحنی دیده می‌شود، در روز صفر قبل از شروع تجویز گابا بین دو گروه تفاوتی وجود ندارد که به ترتیب در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه شاهد (۲/۹۹±۲۹/۹ و ۲/۸±۳۰/۵ میلی مول بر لیتر) است. اما از روز هجدهم به بعد بین دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد و در چهل و دو روز پس از تجویز گابا (این روز در نمودار با فلش مشخص شده است) میانگین قند خون در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا (۴/۱±۱۹/۰۴ میلی‌مول بر لیتر) به صورت معنی‌داری (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه شاهد (۰/۲±۳۸/۵ میلی‌مول بر لیتر) کاهش یافته، این کاهش تا پایان روز هفتاد و پنجم ادامه داشت. قند خون در روز هفتاد و پنجم در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب قند خون (۱/۱±۱۲/۳۵ و ۲/۳±۳۷/۶ میلی‌مول بر لیتر) بود (P<۰/۰۰۱) و در حقیقت از هفته‌ی ششم قند خون به مقادیر طبیعی نزدیک شد (قند خون طبیعی حیوانات غیر ناشتا ۷ میلی‌مول در لیتر است).

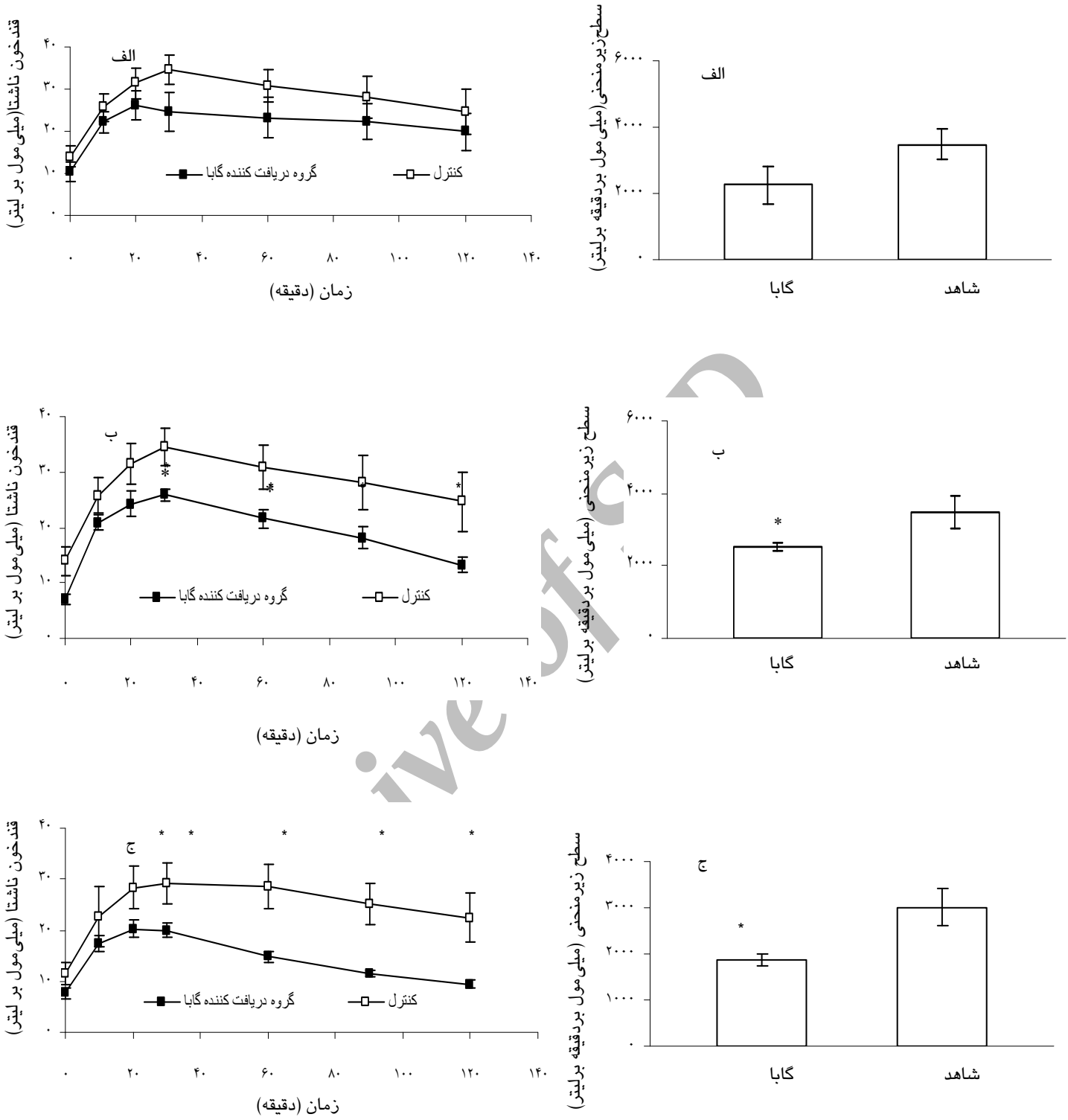


نمودار ۱- تغییرات میزان قند خون غیر ناشتا در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به مدت هفتاد و پنج روز؛ * نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد می‌باشد (p<۰/۰۰۱)

آزمون تحمل گلوکز داخل صفاقی: نمودار ۲ یافته‌های آزمون تحمل گلوکز داخل صفاقی را نشان می‌دهد. نمودار الف ـ ۲ مربوط به یافته‌های این آزمون سه هفته پس از تجویز گابا و PBS و همینطور سطح زیر منحنی مربوط به

i- Insulin Tolerance Test

www.SID.ir

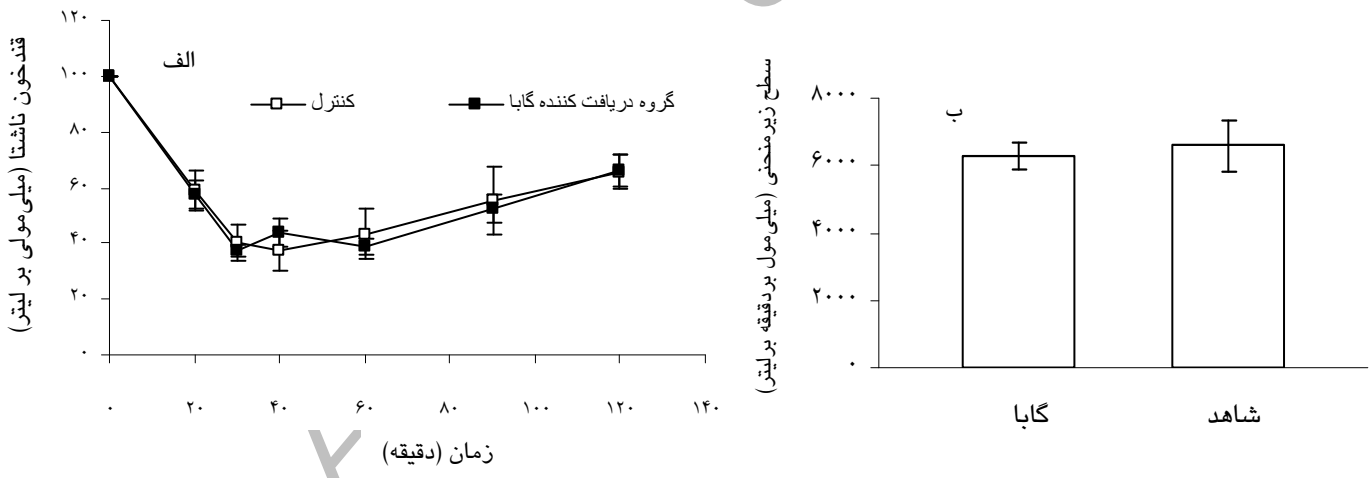


نمودار ۲- تغییرات آزمون تحمل گلوکزو سطح زیر منحنی در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد. منحنی الف این تغییرات را سه هفته پس از درمان با گابا نشان می‌دهد. منحنی‌های ب و ج مربوط به پنج و هشت هفته پس از درمان هستند. * نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه شاهد است (p<۰/۰۵) مربوط به منحنی و p<۰/۰۱ مربوط به سطح زیر منحنی

www.SID.ir

آن است. همانطور که منحنی نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نمی‌شود. شکل‌های ب و ج به ترتیب مربوط به پنج و هشت هفته پس از تجویز گابا و PBS و سطوح زیر منحنی آن‌ها هستند، همانطور که منحنی ب نشان می‌دهد، در هر دو گروه پس از تزریق گلوکز میزان قند خون افزایش یافته که به ترتیب در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد (۱/۳۱±۲۰/۹ و ۳/۲۱±۲۵/۶۶ میلی‌مول بر لیتر)، در گروه شاهد پس از ۱۲۰ دقیقه قند خون به سطح طبیعی بازنگشته است (۵/۲±۲۴/۶ میلی‌مول بر لیتر) در حالی‌که در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا، ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق گلوکز میزان قند خون کاهش یافته و به مقدار پایه‌ی خود رسیده است (۱/۳±۱۳/۲ میلی‌مول بر لیتر) و از دقیقه‌ی ۶۰ تا ۱۲۰ بین دو گروه تفاوت معنی‌داری (P< ۰/۰۵) وجود دارد. همان‌طور که در منحنی ج مشاهده می‌شود ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق گلوکز قند خون در گروه شاهد به سطح طبیعی بازنگشته (۴/۵±۱۹/۸ میلی‌مول بر لیتر) در حالی‌که در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا به میزان طبیعی بازگشته است. (۰/۸±۹/۴ میلی‌مول بر لیتر) و از دقیقه ۳۰ تا ۱۲۰ بین دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵). همان‌طور که در شکل الف مشاهده می‌شود بین سطح زیر منحنی دو گروه سه هفته پس از درمان تفاوت معنی‌داری وجود ندارد در حالی‌که در نمودار ۲ ـ ب مشاهده می‌شود که پنج هفته بعد از درمان با گابا بین دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد به طوری که سطح زیر منحنی در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب (۱۱۸/۵۵±۲۵۰۵ و ۴۶۵/۹۵±۳۴۷۱/۷ میلی‌مول بر لیتر) (p<۰/۰۵) و شکل ج نشان می‌دهد که هشت هفته پس از تجویز گابا سطح زیر منحنی در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا (۱۳۰/۸۵±۱۸۶۶/۵ میلی‌مول بر لیتر) و در گروه شاهد (۴۰۹/۲۷±۳۰۱۱/۱۳ میلی‌مول بر لیتر) بود که با (p<۰/۰۱) اختلاف بین دو گروه معنی‌دار است.

آزمون پاسخ‌دهی به انسولین: نمودار ۳ یافته‌های مربوط به آزمون پاسخ‌دهی به انسولین را در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. همان‌طور که از منحنی پیدا است تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر پاسخ‌دهی به انسولین وجود ندارد.

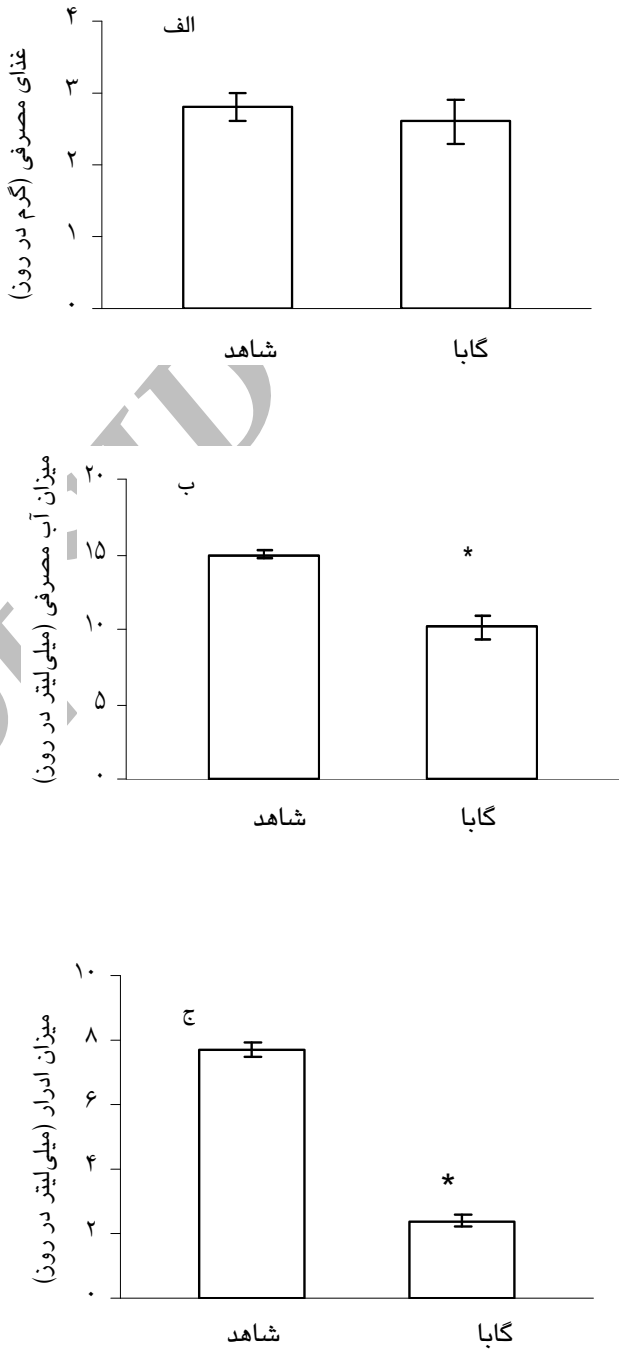


نمودار ۳- آزمون پاسخ‌دهی به انسولین (الف) و سطح زیر منحنی (ب) در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد.

تغییرات میزان آب آشامیدنی، غذای مصرفی و حجم ادرار ۲۴ ساعته: بین میزان آب و غذای مصرفی و هم‌چنین حجم ادرار دو گروه مورد مطالعه قبل از تجویز گابا و PBS تفاوت معنی‌داری ملاحظه نشد (یافته‌های نشان داده نشده است). هفتاد و پنج روز پس از تجویز گابا و PBS، بین میزان غذای مصرفی دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود نداشت، اما حجم ادرار با (P<۰/۰۰۱) و میزان مصرف آب با (P<۰/۰۵) در گروه درمان شده با گابا نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد به طوری که حجم ادرار در گروه دریافت کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب (۰/۲±۲/۴ و ۰/۲±۷/۷ میلی‌لیتر در ۲۴ ساعت) و میزان آب مصرفی در گروه

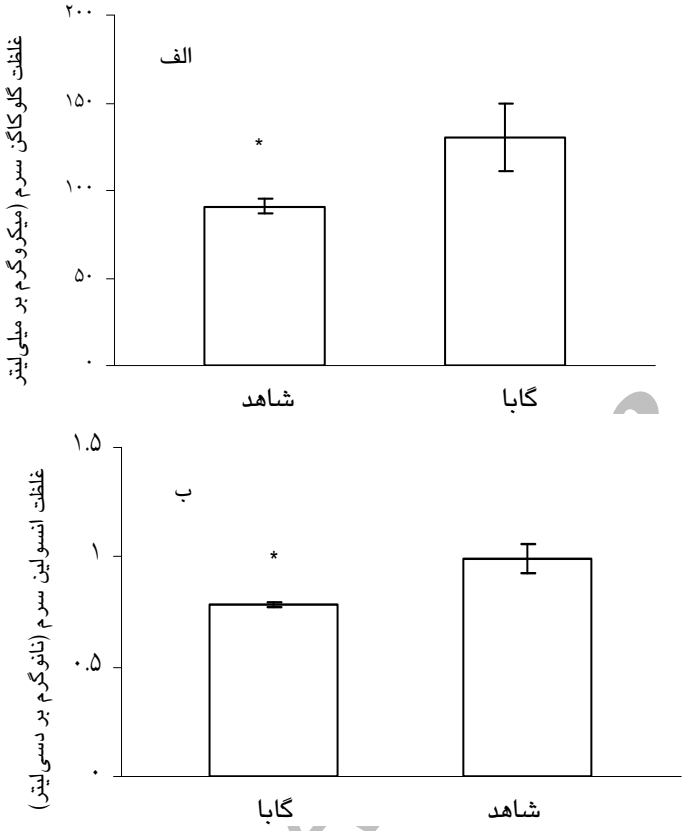
www.SID.ir

دریافت کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب (۰/۸±۱۰/۱ و ۰/۳±۱۵ میلی‌لیتر طی ۲۴ ساعت) بود (نمودارهای ۴ الف، ب و ج).



نمودار ۴- تغییرات میزان غذای مصرفی (الف)، حجم ادرار(ب) و آب آشامیدنی (ج) ۲۴ ساعته در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد. بین میزان غذای مصرفی دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد اما بین میزان آب مصرفی دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($p<0/05$) و بین میزان حجم ادرار دفع شده دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($p<0/001$) * نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه شاهد

تغییرات میزان انسولین و گلوکاگون سرم: یافته‌ها حاکی از آن است که تجویز گابا به مدت هفتاد و پنج روز به صورت معنی‌داری ($p<0/001$) میزان گلوکاگون سرم را در مقایسه با گروه شاهد کاهش داده است. به ترتیب میزان گلوکاگون سرم در گروه دریافت کننده‌ی گابا و شاهد (۹۱/۷۱±۴/۵۲ و ۱۳۰/۰۷±۱۸/۷۸ µg/dL) بود. اما غلظت انسولین در گروه دریافت کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب (۰/۹۸۹±۰/۶۷ و ۰/۷۷۹±۰/۱۱ ng/mL) است، که نشان‌دهنده‌ی افزایش معنی‌داری ($p<0/05$) در غلظت سرمی انسولین در مقایسه با گروه شاهد است (نمودار ۵).

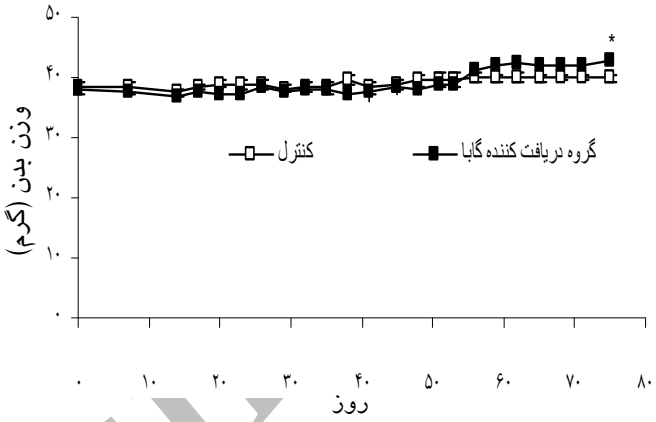


نمودار ۵- تغییرات میزان گلوکاگون (الف) و انسولین (ب) سرم در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد. بین میزان گلوکاگون سرم در دو گروه تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($p<0/001$) و بین میزان انسولین دو گروه نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده می‌شود ($p<0/05$)؛ *نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و گروه شاهد.

تغییرات میزان چربی بدن: نمودار ۶ میزان تغییرات چربی ناحیه‌ی شکم، مزانتر و زیر جلد را هفتاد و پنج روز پس از تجویز گابا و PBS در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود تجویز گابا به مدت هفتاد و پنج روز سبب افزایش معنی‌داری ($p<0/05$) در میزان

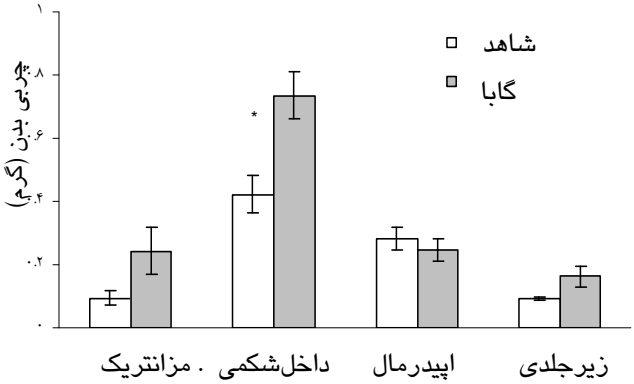
www.SID.ir

چربی در نواحی زیر جلد (به ترتیب در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد ۰/۱۶۳±۰/۰۳ و ۰/۰۹۲±۰/۰۰۴ گرم) و شکم (به ترتیب در گروه دریافت کننده گابا و شاهد ۰/۷۳±۰/۰۷ و ۰/۴۲۲±۰/۰۵ گرم) در مقایسه با گروه شاهد شده است.



نمودار ۶- تغییرات وزن بدن در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد؛ * نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد (p<۰/۰۵)

تغییرات میزان وزن بدن: نمودار ۷ میزان وزن بدن را هفتاد و پنج روز پس از تجویز گابا و PBS در دو گروه مورد مطالعه نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود بین دو گروه تفاوت معنی‌داری از نظر وزن در شروع درمان با گابا وجود نداشت که این مقادیر به ترتیب در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد عبارتند ۳۸/۱±۰/۴ و ۳۸/۲ ±۰/۹ گرم، اما بین دو گروه در روز هفتاد و پنجم اختلاف معنی‌داری وجود داشت (p<۰/۰۵) که این اعداد در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد به ترتیب عبارتند ۴۳±۰/۴ و ۳۹/۸ ±۰/۵ گرم.



نمودار ۷- تغییرات میزان چربی بدن در دو گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد. بین میزان چربی در ناحیه‌ی مزانتریک بین دو گروه تفاوت معنی‌داری وجود ندارد ولی بین میزان چربی در نواحی زیر پوست و ناحیه‌ی شکم تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مشاهده می‌شود. * نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌داری بین گروه دریافت‌کننده‌ی گابا و شاهد (p<۰/۰۵)

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تجویز گابا می‌تواند میزان قند خون را پس از چهل و دو روز درمان نسبت به گروه شاهد و همین‌طور نسبت به اولین روز درمان به طور معنی‌داری کاهش دهد. علاوه بر این گلوکاگون، حجم ادرار و آب مصرفی در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا دو ماه و نیم پس از درمان نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد و غلظت انسولین سرم در این زمان نسبت به گروه شاهد افزایش معنی‌داری یافت. هم‌چنین، آزمون تحمل گلوکز نیز نسبت به گروه شاهد دو ماه و نیم پس از درمان به حالت طبیعی بازگشت.

از آن‌جا که گابا یکی از نوروترانسمیترهای مهاری سیستم عصبی پستانداران است و با غلظتی مشابه مغز در جزایر پانکراس وجود دارد و از سلول‌های بتا ترشح می‌شود[۳،۲] و برخی از پژوهشگران نشان داده‌اند که در دیابت غلظت گابا در پانکراس کاهش می‌یابد،[۱۲] این مطالعه قصد داشت نشان دهد که آیا تجویز گابا می‌تواند میزان قند خون را در مدل حیوانی دیابت کاهش داده، برخی از علایم دیابت را بهبود بخشد یا خیر. یافته‌های این مطالعه نشان داد که تجویز ۲۰۰ میکرومول گابا به صورت تزریق داخل صفاقی به حیوانات دیابتی به مدت هفتاد و پنج روز قادر است میزان قند خون را کاهش دهد. سازوکار این عمل گابا در کاهش قند خون هنوز ثابت نشده است و مطالعه‌های بعدی در صدد است تا به این سؤال پاسخ دهد. اما در حال حاضر با توجه به اثر گابا بر ترشح انسولین که قبلاً توسط دونگ و همکاران که بر روی سلول‌های INS-1 کار می‌کردند نیز گزارش شده است،[۷] به نظر می‌رسد افزایش ترشح انسولین از یک سو و کاهش ترشح گلوکاگون توسط گابا از سوی دیگر سبب کاهش میزان قند خون شده باشد. افزایش غلظت سرمی گلوکاگون یکی از علل مهم هیپرگلیسمی دیابتی است.[۲۱] علاوه بر این، پژوهشگران ثابت کردند گابا و انسولین به طور همزمان از سلول‌های بتا ترشح می‌شوند و انسولین با اثر بر سلول‌های آلفا سبب ترانس لوکیشن رسپتورهای گابا در غشای سلول‌های آلفا شده و گابا با اثر بر این رسپتورها سبب کاهش ترشح گلوکاگون می‌شود.[۷،۲۱] احتمالاً کاهش ترشح گلوکاگون به نوبه‌ی خود سبب مهار واکنش‌های گلیکوژنولیز در کبد می‌شود و در نتیجه قند کمتری از کبد وارد خون می‌شود. از سوی دیگر احتمالاً انسولین نیز با

Archive of SID

www.SID.ir

ترانس‌لوکیشن GLUT4 در غشای سلول‌های عضلانی و چربی سبب افزایش ورود گلوکز به داخل سلول‌ها شده،[۲۴] غلظت قند خون را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، یافته‌های مطالعه‌ی ما نشان داد که آزمون پاسخ‌دهی به انسولین دردو گروه تفاوت معنی‌داری نمی‌کند و یا به عبارتی احتمالاً در هر دو گروه در صورت وجود انسولین، پاسخ وجود دارد و متعاقب آن قند خون کاهش می‌یابد. افزایش انسولین از یک سو و پاسخ‌دهی بافت‌های بدن از سوی دیگر مؤید این نکته است که گابا می‌تواند قند خون را کاهش دهد. از طرف دیگر با توجه به این‌که تجویز گابا سبب افزایش میزان بافت چربی در حفره‌ی شکم و زیر جلد شده است، این مسأله نیز احتمالاً نیاز به گلوکز را افزایش داده، ورود گلوکز به این نواحی با تأثیر از انسولین عامل دیگری است که به نظر می‌رسد می‌تواند میزان قند خون را کاهش دهد. علاوه بر این، مطالعه‌های مختلف نشان داده‌اند که گابا سبب مهار ترشح هورمون ACTH[i] از هیپوفیز قدامی شده، این امر به نوبه‌ی خود سبب مهار ترشح کورتیزول می‌شود. برخی از مطالعه‌ها نشان داده‌اند که آگونیست‌های گابا قادراست سبب مهار ترشح نور آدرنالین از قسمت مرکز آدرنال شوند[۲۵،۲۶] که این دو امر نیز احتمالاً به کاهش قند خون کمک می‌کنند. اگرچه برخی از مطالعه‌ها نشان داده‌اند که تجویز داخل مغزی گابا می‌تواند سبب افزایش ترشح هورمون رشد از هیپوفیز شود و این هورمون توانایی افزایش قند خون را دارد[۲۷] اما در این مطالعه همانطور که ذکر شد تجویز گابا با افزایش ترشح انسولین و کاهش گلوکاگون و کورتیزول توانست قند خون را در دیابت مزمن کاهش دهد. یافته‌های این مطالعه هم‌چنین نشان داد که تجویز گابا سبب بهبود آزمون تحمل گلوکز، می‌شود که این نکته نیز توانایی سلول‌های بتای پانکراس را با ترشح انسولین در گروه درمان شده با گابا نشان می‌دهد در حالی‌که در گروه شاهد با تزریق داخل صفاقی گلوکز، قند خون بالا رفت ولی به دلیل عدم توانایی پانکراس این حیوانات در ترشح انسولین قند خون نتوانست پس از دو ساعت به حالت اولیه‌ی خود باز گردد. در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا به علت افزایش توانایی پانکراس در ترشح انسولین پس از گذشت ۳۰ دقیقه قند خون کاهش یافت و بعد از دو ساعت کاملاً به حد اولیه‌ی خود بازگشت. این مطالعه نشان داد که به علت بازگشت قند خون به حد طبیعی در گروه دریافت‌کننده‌ی گابا، برخی از علایم دیابت مانند پرنوشی و پرادراری به طور معنی‌داری کاهش یافته، حجم ادرار به حد طبیعی بازمی‌گردد. اما تجویز گابا تأثیری بر میزان مصرف غذا ندارد که با یافته‌های مطالعه‌ی دیگران که نشان دادند گابا میزان مصرف غذا را تغییر نمی دهد همخوانی دارد.[۲۸]

به طور خلاصه از یافته‌های این مطالعه می‌توان نتیجه‌گیری کرد که تجویز گابا در حیوانات دیابتی می‌تواند میزان قند خون را از طریق افزایش ترشح انسولین و هم‌چنین کاهش ترشح گلوکاگون کاهش دهد. گابا توانست سبب بهبود آزمون تحمل گلوکز، پرادراری و پرنوشی در حیوانات دیابتی شود. مطالعه‌های بیشتری هم اکنون در آزمایشگاه ما در حال انجام است تا شاید بتواند اطلاعات بیشتری در مورد سایر اثرهای گابا و سازوکارهای مولکولی احتمالی آن در کاهش قند خون و کنترل علایم دیابت به دست دهد.

i- Ademo Cortico Tropin Hormone

Archive of SID

References

1. Satin LS, Kinard TA. Neurotransmitters and their receptors in the islets of Langerhans of the pancreas: what messages do acetylcholine, glutamate, and GABA transmit? Endocrine 1998; 8:213-23.
2. Taniguchi H, Okada Y, Seguchi H, Shimada C, Seki M, Tsutou A, et al. High concentration of gamma-aminobutyric acid in pancreatic beta cells. Diabetes 1979; 28: 629-33
3. Okada Y, Taniguchi H, Schimada C. High concentration of GABA and high glutamate decarboxylase activity in rat pancreatic islets and human insulinoma. Science 1976; 194: 620-2.
4. Shi Y, Kanaani J, Menard-Rose V, Ma YH, Chang PY, Hanahan D, et al. Increased expression of GAD6`5 and GABA in pancreatic beta-cells impairs first-phase insulin secretion. Am J Physiol Endocrinol Metab 2000; 279: E684-94
5. Reetz A, Solimena M, Matteoli M, Folli F, Takei K, De Camilli P. GABA and pancreatic beta-cells: colocalization of glutamic acid decarboxylase (GAD) and GABA with synaptic-like microvesicles suggests their role in GABA storage and secretion. EMBO J 1991; 10: 1275-84.
6. Gladkevich A, Korf J, Hakobyan Vp, Melkonyan KV. The peripheral GABAergic system as a target in endocrine disorders. Auton Neurosci 2006; 124: 1-8.
7. Dong H, Kumar M, Zhang Y, Gyulkhandanyan A, Xiang YY, Ye B, et al. Gamma-aminobutyric acid up- and downregulates insulin secretion from beta cells in concert with changes in glucose concentration. Diabetologia 2006; 49: 697-705.

www.SID.ir

8. Braun M, Wendt A, Buschard K, Salehi A, Sewing S, Gromada J, et al. GABAB receptor activation inhibits exocytosis in rat pancreatic beta-cells by G-protein-dependent activation of calcineurin. J Physiol 2004; 559: 397-409.
9. Borboni P, Porzio O, Fusco A, Sesti G, Lauro R, Marlier LN. Molecular and cellular characterization of the GABAA receptor in the rat pancreas. Mol Cell Endocrinol 1994; 103: 157-63.
10. Franklin IK, Wollheim CB. GABA in the endocrine pancreas: its putative role as an islet cell paracrine-signalling molecule. J Gen Physiol 2004; 123: 185-90.
11. Ligon B, Yang J, Morin SB, Ruberti MF, Steer ML. Regulation of pancreatic islet cell survival and replication by gamma-aminobutyric acid. Diabetologia 2007; 50: 764-73.
12. Adeghate E, Ponery AS. GABA in the endocrine pancreas: cellular localization and function in normal and diabetic rats. Tissue Cell 2002; 34:1-6.
13. Soltani N, Kumar M, Glinka Y, Prud'homme GJ, Wang Q. Gene therapy of diabetes using a novel GLP-1/IgG1-Fc fusion construct normalizes glucose levels in db/db mice. Gene Ther 2007; 14: 162-72
14. Müller A, Schott-Ohly P, Dohle C, Gleichmann H. Differential regulation of Th1-type and Th2-type cytokine profiles in pancreatic islets of C57BL/6 and BALB/c mice by multiple low doses of streptozotocin. Immunobiology 2002; 205: 35-50.
15. Sun N, Yang G, Zhao H, Savelkoul HF, An L. Multidose streptozotocin induction of diabetes in BALB/c mice induces a dominant oxidative macrophage and a conversion of TH1 to TH2 phenotypes during disease progression. Mediators Inflamm 2005; 31: 202-9.
16. Soltani N, Keshavarz M, Sohanaki H, Dehpour AR, Zahedi Asl S. Oral magnesium administration prevents vascular complications in STZ-diabetic rats. Life Sci 2005; 76: 1455-64.
17. Soltani N, Keshavarz M, Minaii B, Mirershadi F, Zahedi Asl S, Dehpour AR. Effects of administration of oral magnesium on plasma glucose and pathological changes in the aorta and pancreas of diabetic rats. Clin Exp Pharmacol Physiol 2005; 32: 604-10.
18. Soltani N, Keshavarz M, Dehpour AR. Effect of oral magnesium sulfate administration on blood pressure and lipid profile in streptozocin diabetic rat. Eur J Pharmacol 2007; 560: 201-5.
19. Wang Q, Brubaker PL. Glucagon-like peptide-1 treatment delays the onset of diabetes in 8 week-old db/db mice. Diabetologia 2002; 45: 1263-73
20. Scrogin KE, Hatton DC, Chi Y, Luft FC. Chronic nitric oxide inhibition with L-NAME: effects on autonomic control of the cardiovascular system. Am J Physiol 1998; 274: R367-R74.
21. Xu E, Kumar M, Zhang Y, Ju W, Obata T, Zhang N, et al. Intra-islet insulin suppresses glucagon release via GABA-GABAA receptor system. Cell Metab 2006; 3: 47-58.
22. Kumar M, Hunag Y, Glinka Y, Prud'homme GJ, Wang Q. Gene therapy of diabetes using a novel GLP-1/IgG1-Fc fusion construct normalizes glucose levels in db/db mice. Gene Ther 2007; 14: 162-72.
23. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Müller J, et al. Plasma leptin levels in healthy children and adolescents: Dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone. J Clin Endocrinol Metab 1997; 82: 2904-10.
24. Green A, Walters DJ, Belt SE. Insulin resistance in adipocytes after downregulation of Gi subtypes. Am J Physiol 1997; 273: E254-61.
25. Giordano R, Grottoli S, Brossa P, Pellegrino M, Destefanis S, Lanfranco F, et al. Alprazolam (a benzodiazepine activating GABA receptor) reduces the neuroendocrine responses to insulin-induced hypoglycaemia in humans. Clin Endocrinol (Oxf). 2003; 59: 314-20
26. Tanaka J, Mashiko N, Kawakami A, Ushigome A, Nomura M. GABAergic systems in the nucleus tractus solitarius regulate noradrenaline release in the subfornical organ area in the rat. Auton Neurosci 2002; 100: 58-65.
27. Acs Z, Szabo B, Kapocs G, Makara GB. Gamma-Aminobutyric acid stimulates pituitary growth hormone secretion in the neonatal rat. A superfusion study. Endocrinology 1987; 120: 1790-8.
28. Ebenezer IS, Prabhaker M. The effects of intraperitoneal administration of the GABA(B) receptor agonist baclofen on food intake in CFLP and C57BL/6 mice. Eur J Pharmacol 2007; 569: 90-3

Archive of SID

www.SID.ir

Original Article

Beneficial Effect of GABA on Experimentaly Induced Diabetes in CD1 Mice

Soltani N[1], Keshavarz M[2], Wang Q[3]
[1]Phyysiology Department, Medical School & Hormozgan Research Center for Prevention of Cardiovascular Risk Factors, Hormozgan University of Medical Science, Hormozgan; [2]Physiology Department, Medical School, Tehran University of Medical Sciences Tehran, I.R.Iran and [3]Endocrine and Metabolism Department, Toronto University, Torento, Canada
e-mail: nsoltani@hums.ac.ir

Abstract

Introduction: Gama amino butyric acid (GABA) is the major inhibitory neurotransmitter in the mammalian nervous system. Pancreatic beta cells in islets of Langerhans express GABA at the levels comparable to those encountered in the central nervous system. The concentrations of GABA and the number of GABA secreting cells, decrease in diabetic patients and experimental diabetes models. Reports on effects of GABA on insulin secretion have been controversial. In this study we investigated whether or not GABA administration in an animal diabetes model can change insulin and glucagon secretion and improve diabetic symptoms. Materials and Methods: Seven-week old CD1 mice were used. For inducing diabetes, 40 mg/kg of streptozotocin (STZ) was given intraperitoneally for 5 days. Two months after diabetic induction, animals were divided into two groups, one receiving 200 µmol of GABA, while the other group received phosphate buffer solution (PBS) for two and half months. Results: After 42 days, the glucose concentration in the GABA treated group decreased significantly compared to the untreated group and the first day. After two and half months, water consumption in the GABA treated group decreased significantly in comparison to the control group. Plasma insulin level increased significantly (0.989±0.67 vs 0.779±0.11) while plasma glucagon level decreased significantly (91.71±4.52 vs 130.07±18.78). Glucose tolerance test in the GABA group returned to normal levels. Conclusion: GABA administration by regulation of insulin and glucagon secretion could help treat some diabetic symptoms, and could possibly be used in the future as a therapeutic tool in diabetes.

Keywords: Diabetes, GABA, Blood glucose, Insulin, Glucagon, STZ

Archive of SID

www.SID.ir