

بررسی اثر انسولین روی سطح پلاسمایی لپتین در موشهای صحرایی نر مبتلا به دیابت

دکتر مصطفی محمدی نغده: دانشیار بخش فیزیولوژی دانشکده پزشکی تبریز: نویسنده رابط
هادی ابراهیمی: مربی بخش فیزیولوژی دانشکده پزشکی تبریز

فرشاد همایونی مقدم: دانشجوی دکتری فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان

دریافت: ۸۱/۱۲/۱۹، بازنگری: ۸۲/۸/۲۴، پذیرش: ۸۳/۴/۱۰

چکیده

زمینه و اهداف: لپتین هورمون پپتیدی مترشحه از بافت چربی است. این هورمون به صورت عامل سیری بر روی هیپوتالاموس اثر می کند و سلسله اعصاب مرکزی را از حجم ذخایر چربی بدن مطلع می سازد. انسولین و لپتین نقش مهمی در کنترل وزن بدن دارند. در این مطالعه اثر انسولین روی سطح پلاسمایی لپتین بررسی شده است. **روش بررسی:** پانزده موش نر نژاد «اسپرگ دولی» پس از تزریق داخل صفاقی ۵۰ mg/kg استرپتوزوتوسین (STZ) به میزان ۵۰ mg/kg دچار بیماری دیابت شدند. سپس این موشها به سه گروه پنج تایی تقسیم شدند: الف- گروه درمان نشده با انسولین، ب- گروه درمان شده با انسولین با دوز ۱۰ u/kg/day، ج- گروه درمان شده با انسولین با دوز ۲۰ u/kg/day. یک نمونه خون قبل از تزریق استرپتوزوتوسین و سه نمونه خون بعد از آن به طور یک روز در میان، از گوشه چشم موشها گرفته شد. **یافته ها:** تجزیه و تحلیل یافته ها نشان داد که (۱) در نمونه های قبل از تزریق استرپتوزوتوسین بین گروهها، درمیانگین سطوح لپتین، انسولین و گلوکز پلازما اختلاف معنی داری وجود نداشت، (۲) در نمونه های بعد از تزریق استرپتوزوتوسین در موشهای دیابتیک درمان نشده در مقایسه با موشهای درمان شده، لپتین و انسولین پلازما به طور معنی داری ($p < 0.05$) پایین تر ولی گلوکز بالاتر بود ($p < 0.05$)، (۳) انسولین درمانی از لحاظ زمانی در مدتی کمتر از دو ساعت باعث تحریک ترشح لپتین در موشهای دیابتیک شد، (۴) سطح لپتین پلازما در موشهای درمان شده با انسولین با دوز ۲۰ u/kg/day به طور معنی داری بالاتر از موشهای درمان شده با انسولین با دوز ۱۰ u/kg/day بود، در حالی که گلوکز به طور معنی داری پایین تر بود ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: براساس این مطالعه انسولین به عنوان یکی از عوامل ضروری مطرح می شود. این ماده با انتقال گلوکز به داخل سلولهای چربی نقش سیگنال داخل سلولی را ایفا می کند و موجب تحریک ترشح لپتین از سلولهای چربی موشهای دیابتیک می شود. همچنین مدت زمان لازم برای شروع اثر تحریکی انسولین روی ترشح لپتین در موشهای دیابتیک کمتر از دو ساعت بود.

کلید واژه ها: لپتین، انسولین، گلوکز، موشهای دیابتیک

مقدمه

در انسان و حیوانات ارتباط قوی با نیمه توده بدن و توده چربی بدن دارد (۵).

گیرنده های رسپتورهای لپتین در شبکه کورویید و هیپوتالاموس مشخص و کلون شده اند، یعنی همان ناحیه ای که به عنوان تنظیم کننده اشتها و وزن بدن شناخته شده است (۶). از مدارکی که تاکنون به دست آمده چنین بر می آید که لپتین در مغز با اغلب نورپپتیدهایی که به عنوان عوامل دخیل در تنظیم تعادل انرژی شناخته شده اند تعامل دارد. نوروپپتید Y عامل افزایش اشتها شناخته شده است و لپتین ترشح آن را مهار می کند. همچنین لپتین بیان ژن (CRH) را در هسته پاراونتریکولار هیپوتالاموس افزایش می دهد که CRH در این منطقه اثر کاهنده اشتها دارد (۷). وجود گیرنده های لپتین در بافت چربی احتمال دخالت لپتین در تنظیم لیپولیز را مطرح می کند. مطالعات اولیه نشان داده اند که لپتین به صورت اتوکراین- پاراکراین در محیط های *in vivo* و *in vitro* موجب افزایش لیپولیز می شود (۸). چون لپتین موجب افزایش فعالیت سمپاتیک محیطی می شود گروهی از محققین عقیده داشتند که افزایش لپتین پلازما از طریق تحریک هیپوتالاموس موجب افزایش فعالیت دستگاه

فیزیولوژیست ها از مدتها قبل احتمال وجود پیام محیطی را که سلسله اعصاب مرکزی را از وضعیت ذخایر انرژی بدن موجود زنده خصوصاً توده بافت چربی آن آگاه می سازد مطرح کرده بودند. اولین احتمالات درباره وجود چنین هورمون یا سیگنالی در ۱۹۵۳ مطرح شد و تحقیقات بعدی کولمان احتمال صحت این فرضیه را قوت بخشید

(۱) تا این که در ۱۹۹۴ ژانگ و همکارانش ژن چاقی ob را ابتدا در موش و بعد در انسان کلون کردند. مدت کوتاهی نگذشته بود که پروتئین تولید شده توسط این ژن مشخص و روشی برای سنجش آن در پلازما ابداع شد. محصول ژن ob لپتین نامگذاری شد که از کلمه یونانی leptos به معنای لاغر گرفته شده است. جایگاه این ژن در انسان روی کروموزوم ۷ و دارای سه آلل و دو ایترون است (۲).

لپتین به صورت یک پپتید ۱۶۷ اسید آمینه ای سنتز می شود که پس از حذف تالی ۲۱ اسید آمینه ای از انتهای آمینوی آن در میکروزوم ها به صورت هورمون ۱۴۶ اسید آمینه ای ترشح می شود (۳و۴). لپتین عمدتاً توسط سلولهای بافت چربی سنتز می شود و سطح پلاسمایی آن

حیوانات به سه گروه ۵ تایی تقسیم شدند: ۱- گروه دیابتیک درمان نشده، ۲- گروه دیابتیک درمان شده با انسولین با دوز ۱۰ واحد به ازای هر کیلو وزن بدن به صورت تزریق زیرجلدی و ۳- گروه دیابتیک درمان شده با انسولین با دوز ۲۰ واحد به ازای هر کیلو وزن بدن به صورت تزریق زیرجلدی.

در روز نخست موشها توزین شدند سپس یک سی سی خون به عنوان نمونه اولیه از آنها گرفته شد و بعد با تزریق استرپتوزوتوسین دیابت در آنها ایجاد (۱۶) و بقیه مراحل طبق جدول ۱ انجام شد. جهت خونگیری طبق روش استون (۱۹۵۴)، خون وریدی از سینوس اوربیتال گوشه داخلی چشم به وسیله لوله هماتوکریت جمع آوری شد. پلاسما نمونه‌ها در دستگاه سانتریفوژ با دور ۳۵۰۰ در دقیقه به مدت ۵ دقیقه جدا و تا روز اندازه‌گیری از نظر لپتین، انسولین و گلوکز در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

روش ایجاد دیابت

در این مطالعه با استفاده از داروی استرپتوزوتوسین ساخت شرکت زیگما^۱ به صورت تک دوز ۵۰ mg/kg تزریق داخل صفاغی^۲ دیابت ایجاد شد. طبق این روش ۴۸ ساعت بعد از تزریق، دیابت در موشها ایجاد می‌شود.

جهت تشخیص دیابت، پس از ایجاد جراحی کوچک توسط لانسست در دم حیوانات یک قطره خون بر روی نوار گلوکومتری قرار داده شد و سپس توسط دستگاه گلوکومتر (Boehringer Mannheim, Indianapolis, INC) نوار خوانده شد در تمام موشها قندخون بالای ۳۵۰ mg/dl مشخص شد که حاکی از دیابتیک شدن آنها بود.

داروها

در این مطالعه از دو داروی استرپتوزوتوسین و انسولین استفاده شد. چنانچه ویال ترکیبی این دارو را در ۹/۵ میلی‌لیتر محلول نرمال سالین یا دکستروز واتر حل کنیم محلول دارای pH معادل ۳/۵-۴/۵ و رنگ زرد شفاف به دست می‌آید، به طوری که تا ۱۲ ساعت پس از حل کردن قابل استفاده است. در صورت فاسد شدن رنگ آن به زرد کدر یا قهوه‌ای تغییر می‌یابد. نوع پودر خالص این دارو قابل حل در آب یا محلول نرمال سالین است اما به سرعت از لحاظ شیمیایی تغییر ماهیت می‌دهد. بنابراین جهت افزایش پایداری دارو می‌توان به آن بافر سیترات اضافه کرد تا pH محلول به حدود ۳/۵-۴/۵ برسد. انسولین استفاده شده در این مطالعه از نوع NPH انسانی و ساخت داروسازی لرستان بود.

عصبی سمپاتیک محیطی و در نتیجه لیپولیز می‌شود (۹). پس احتمالاً لپتین از دو طریق در متابولیسم بافت چربی شرکت می‌کند: افزایش لیپولیز و کاهش لیپوژنز. با وجود این، مکانیسمی که از طریق آن لپتین باعث افزایش لیپولیز می‌شود هنوز به طور کامل مشخص نشده است. مدارک بسیاری که از مطالعات *in vitro* روی بافت چربی انسان و موش به دست آمده اند حکایت از این دارند که انسولین بیان mRNA لپتین و ترشح آن از بافت چربی را تحریک می‌کند (۱۰). مطالعات انجام شده روی جوندگان نشان می‌دهد که انسولین موجب افزایش mRNA لپتین در بافت چربی می‌شود و سطح لپتین پلاسما را افزایش می‌دهد (۱۱). سطح لپتین موشهایی که به واسطه تزریق استرپتوزوتوسین دچار دیابت شده‌اند عمدتاً کم می‌شود ولی پس از انسولین درمانی دوباره افزایش می‌یابد (۱۲). در عین حال، اثر افزایش دهنده انسولین بر روی ترشح لپتین در بعضی مطالعات به صراحت تأیید نشده است (۱۳). از طرف دیگر، اگر چه در بعضی از تحقیقات اثر تحریکی انسولین بر ترشح لپتین تأیید شده است، در همین مطالعات نیز در مورد مدت زمانی که طول می‌کشد تا انسولین اثرش را بر روی بافت چربی اعمال کند و باعث افزایش ترشح لپتین شود اختلاف نظر وجود دارد. بعضی از محققین ذکر کرده‌اند که اثر تحریکی انسولین بر ترشح لپتین اتفاق می‌افتد در حالی که برخی دیگر معتقدند که برای بروز آن ساعت‌ها تا روزها وقت لازم است (۱۴). طبق مطالعاتی که بر روی انسان انجام یافته است، اثر تحریکی انسولین بر ترشح لپتین در افراد دیابتیک در طولانی مدت اتفاق می‌افتد (۱۵ و ۱۶).

مواد و روش‌ها

حیوانات مورد آزمایش موش نر از نوع آلبینو نژاد «اسپراگ داوولی» با وزن ۲۷۰-۳۶۰ گرم و سن ۸ ماه بودند. این حیوانات از لانه حیوانات دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تهیه و در مرکز نگهداری حیوانات در مرکز تحقیقات کاربردی دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت شرایط کنترل شده از نظر دما و شرایط نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری می‌شدند. تغذیه حیوانات از غذای آماده که تغاله غلات بود به همراه مقدار کافی آب انجام می‌گرفت. حیوانات در گروههای ۵ تایی در قفس نگهداری می‌شدند. مدت مطالعه بر روی موشها ۷ روز بود. کل کارهای انجام شده روی موشها طبق جدول زمانی زیر (جدول ۱) صورت گرفت.

جدول ۱: مراحل عملی انجام یافته روی حیوانات به تفکیک روز و ساعت.

روز	اول	دوم	سوم	چهارم	پنجم	ششم	هفتم
توزین ساعت ۹ صبح	+	+	+	+	+	+	+
تزریق انسولین به گروههای ۲ و ۳ ساعت ۱۰ صبح				+	+	+	+
خونگیری ساعت ۱۲ ظهر	+				+		+
تزریق استرپتوزوتوسین ساعت ۱ بعد از ظهر	+						

1. Sigma
2. intrapritoneal

روشهای بیوشیمیایی

در این مطالعه غلظت‌های پلاسمایی لپتین، انسولین و گلوکز سنجش شد. سطوح لپتین به روش الایزا (ELISA) با استفاده از کیت آزمایشگاهی سنجش لپتین موش ساخت شرکت IBL ژاپن با حساسیت 5.63 pg/ml سنجش شد. غلظت انسولین به روش الایزا و با استفاده از کیت آزمایشگاهی سنجش انسولین رت ساخت شرکت DRG آلمان با حساسیت $0.07 \mu\text{g/l}$ اندازه‌گیری شد. غلظت پلاسمایی گلوکز به روش آنزیماتیک و با استفاده از کیت آزمایشگاهی ساخت شرکت Man اندازه‌گیری شد.

روشهای تجزیه و تحلیل آماری

بررسی آماری داده‌ها به دو روش داخل - گروهی و بین گروهی با استفاده نرم افزار SPSS ویرایش دهم انجام شد. در بررسی‌های داخل - گروهی، میانگین‌های به دست آمده برای لپتین، انسولین، گلوکز و وزن بدن قبل از مداخله با میانگین‌های به دست آمده بعد از مداخله در هر سه گروه مقایسه شدند. روش بررسی‌های بین گروهی میانگین‌های به دست آمده قبل و بعد از مداخله در هر سه گروه، نظیر به نظیر، از لحاظ زمانی دو به دو بین گروه‌های یک و دو، یک و سه، دو و سه به وسیله آزمون t برای نمونه‌های مستقل^۱ مقایسه شدند. کل ارقام بیان شده در این مطالعه به صورت میانگین \pm خطای معیار میانگین^۲ است. تفاوت بین میانگین‌ها در سطح $(p < 0.05)$ از نظر آماری معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی تغییرات لپتین، انسولین و گلوکز در گروه اول

در گروه اول (موش دیابتیک درمان نشده با انسولین) سطح لپتین پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $4.07 \pm 0.26 \text{ ng/ml}$ در میلی‌لیتر بود. در نمونه تهیه شده در روز دوم پس از تزریق استرپتوزوتوسین، یعنی روز پیدایش دیابت در موشها، لپتین پلاسمایی به $0.57 \pm 0.11 \text{ ng/ml}$ کاهش یافت. کاهش این مقدار در مقایسه با میزان پایه قبل از پیدایش دیابت معنی‌دار بود $(p < 0.0001)$. در نمونه‌های تهیه شده در روزهای چهارم و ششم پس از تزریق استرپتوزوتوسین سطح لپتین همچنان پایین باقی ماند که به ترتیب 0.12 ng/ml و $0.07 \pm 0.13 \text{ ng/ml}$ بود که اختلاف معنی‌داری را با میزان پایه قبل از دیابت نشان می‌دهد $(p < 0.0001)$ و $(p < 0.0002)$ (نمودار ۱-الف). غلظت انسولین پلاسمایی در نمونه اولیه قبل از ایجاد دیابت $0.11 \pm 0.07 \text{ ng/ml}$ بود و در نمونه‌های گرفته شده در روزهای دوم و چهارم و ششم بعد از تزریق استرپتوزوتوسین به ترتیب به 0.06 ± 0.122 ، 0.07 ± 0.128 و $0.06 \pm 0.122 \text{ ng/ml}$ کاهش یافت $(p < 0.0005)$ ، $(p < 0.0003)$ و $(p < 0.0001)$ (نمودار ۱-ب). غلظت گلوکز پلاسمایی در نمونه اولیه $0.66 \pm 0.97 \text{ mg/dl}$ بود و در نمونه‌های روزهای دوم و چهارم و ششم بعد از تزریق استرپتوزوتوسین به ترتیب به 0.41 ± 0.19 ، 0.41 ± 0.19 و $0.41 \pm 0.19 \text{ mg/dl}$ و 0.41 ± 0.19 افزایش یافت $(p < 0.0001)$ (نمودار ۱-ج).

بررسی تغییرات لپتین، انسولین و گلوکز پلاسمایی در گروه دوم

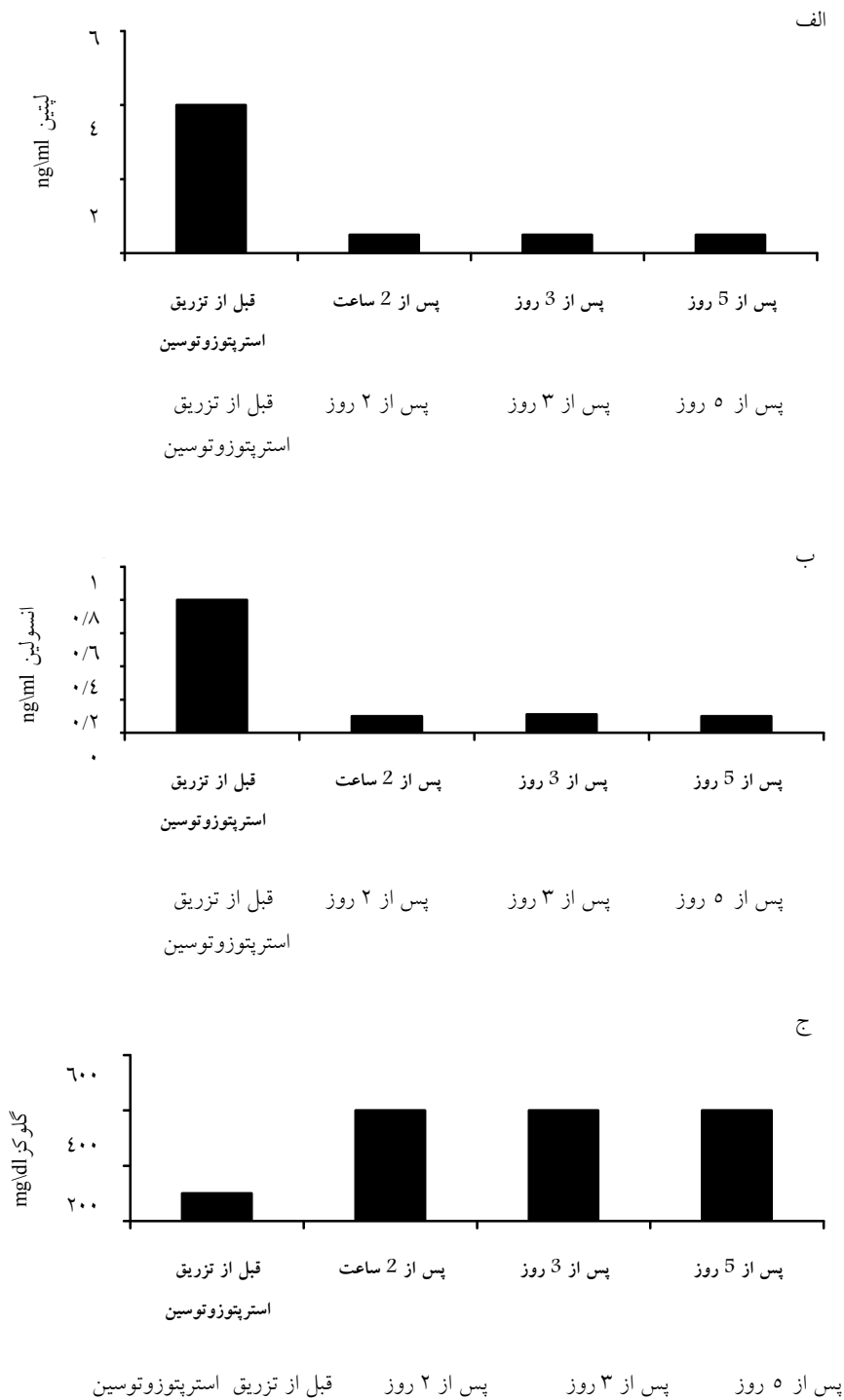
در گروه دوم (موش دیابتیک درمان شده با ۱۰ واحد انسولین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز) سطح لپتین پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $3.94 \pm 0.45 \text{ ng/ml}$ بود و در نمونه ۲ ساعت پس از انسولین درمانی در روز اول درمان به $0.45 \pm 0.70 \text{ ng/ml}$ در نمونه روز سوم درمان به $0.54 \pm 0.70 \text{ ng/ml}$ و در نمونه گرفته شده در پنجمین روز درمان به $0.22 \pm 0.70 \text{ ng/ml}$ افزایش یافت که در هر سه مورد در مقایسه با نمونه قبل از ایجاد دیابت افزایش معنی‌داری را نشان داد $(p < 0.0002)$ ، $(p < 0.0002)$ و $(p < 0.0002)$ (نمودار ۲-الف). سطح انسولین پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $0.15 \pm 0.76 \text{ ng/ml}$ بود و در نمونه‌های پس از انسولین درمانی، چنان که انتظار می‌رفت، افزایش معنی‌داری حاصل شد، به طوری که دو ساعت پس از درمان به $0.78 \pm 0.98 \text{ ng/ml}$ ، در سومین روز درمان به $0.74 \pm 0.74 \text{ ng/ml}$ و پنجمین روز درمان به $0.4 \pm 0.70 \text{ ng/ml}$ افزایش یافت $(p < 0.0003)$ ، $(p < 0.0001)$ و $(p < 0.0001)$ (نمودار ۲-ب). سطح گلوکز پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $10.79 \pm 9.80 \text{ mg/dl}$ و در نمونه‌های پس از انسولین درمانی به ترتیب $11.17 \pm 10.38 \text{ mg/dl}$ و $7.97 \pm 8.50 \text{ mg/dl}$ و $8.13 \pm 8.68 \text{ mg/dl}$ بود که با نمونه قبل از درمان اختلاف معنی‌داری نداشت (نمودار ۲-ج).

بررسی تغییرات لپتین، انسولین و گلوکز پلاسمایی در گروه سوم

در گروه سوم (موشهای دیابتیک درمان شده با ۲۰ واحد انسولین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن در هر روز) سطح لپتین پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $4.39 \pm 0.67 \text{ ng/ml}$ بود و در نمونه ۲ ساعت پس از انسولین درمانی در روز اول درمان به $0.51 \pm 0.92 \text{ ng/ml}$ در سومین روز درمان به $0.20 \pm 1.08 \text{ ng/ml}$ و در پنجمین روز درمان به $0.24 \pm 0.75 \text{ ng/ml}$ افزایش یافت که در هر سه مورد این اختلاف نسبت به نمونه اولیه معنی‌دار بود (به ترتیب $p < 0.0001$ ، $p < 0.0005$ و $p < 0.0002$) (نمودار ۳-الف).

سطح اولیه انسولین پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $0.11 \pm 0.50 \text{ ng/ml}$ بود و در نمونه‌های پس از انسولین درمانی طبق انتظار افزایش معنی‌داری را نشان داد، به طوری که دو ساعت پس از درمان به $0.97 \pm 0.93 \text{ ng/ml}$ در سومین روز درمان به $0.91 \pm 1.16 \text{ ng/ml}$ و در پنجمین روز درمان به $0.75 \pm 1.39 \text{ ng/ml}$ افزایش یافت $(p < 0.0001)$ ، $(p < 0.0004)$ و $(p < 0.0001)$ (نمودار ۳-ب). غلظت گلوکز پلاسمایی قبل از ایجاد دیابت $9.66 \pm 10.72 \text{ mg/dl}$ بود و در نمونه‌های پس از انسولین درمانی در روز سوم و پنجم کاهش معنی‌داری را نشان داد، به طوری که دو ساعت پس از درمان به $8.20 \pm 13.90 \text{ mg/dl}$ در سومین روز درمان به $8.20 \pm 13.90 \text{ mg/dl}$ و در پنجمین روز درمان به $7.95 \pm 8.94 \text{ mg/dl}$ کاهش یافت $(p < 0.0009)$ و $(p < 0.0002)$ (نمودار ۳-ج)

1. paired test
2. Independent
3. Standard Error at Mean



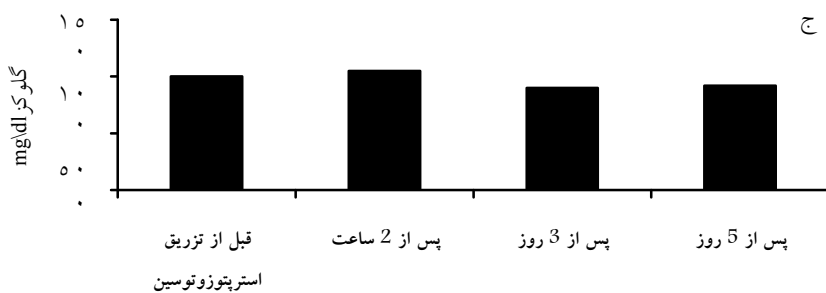
نمودار 1: تغییرات غلظت پلاسمایی لیپتین (الف)، انسولین (ب) و گلوکز (ج) در موشهای دیابتیک درمان نشده با انسولین. قبل از تزریق استرپتوزوسین (STZ) و ایجاد دیابت، دو ساعت پس از اولین نوبت درمان با انسولین در گروههای ۲ و ۳، سه روز پس از درمان در گروههای ۲ و ۳، پنج روز پس درمان با انسولین در گروههای ۲ و ۳.



قبل از تزریق استرپتوزوتوسین پس از ۲ روز پس از ۳ روز پس از ۵ روز

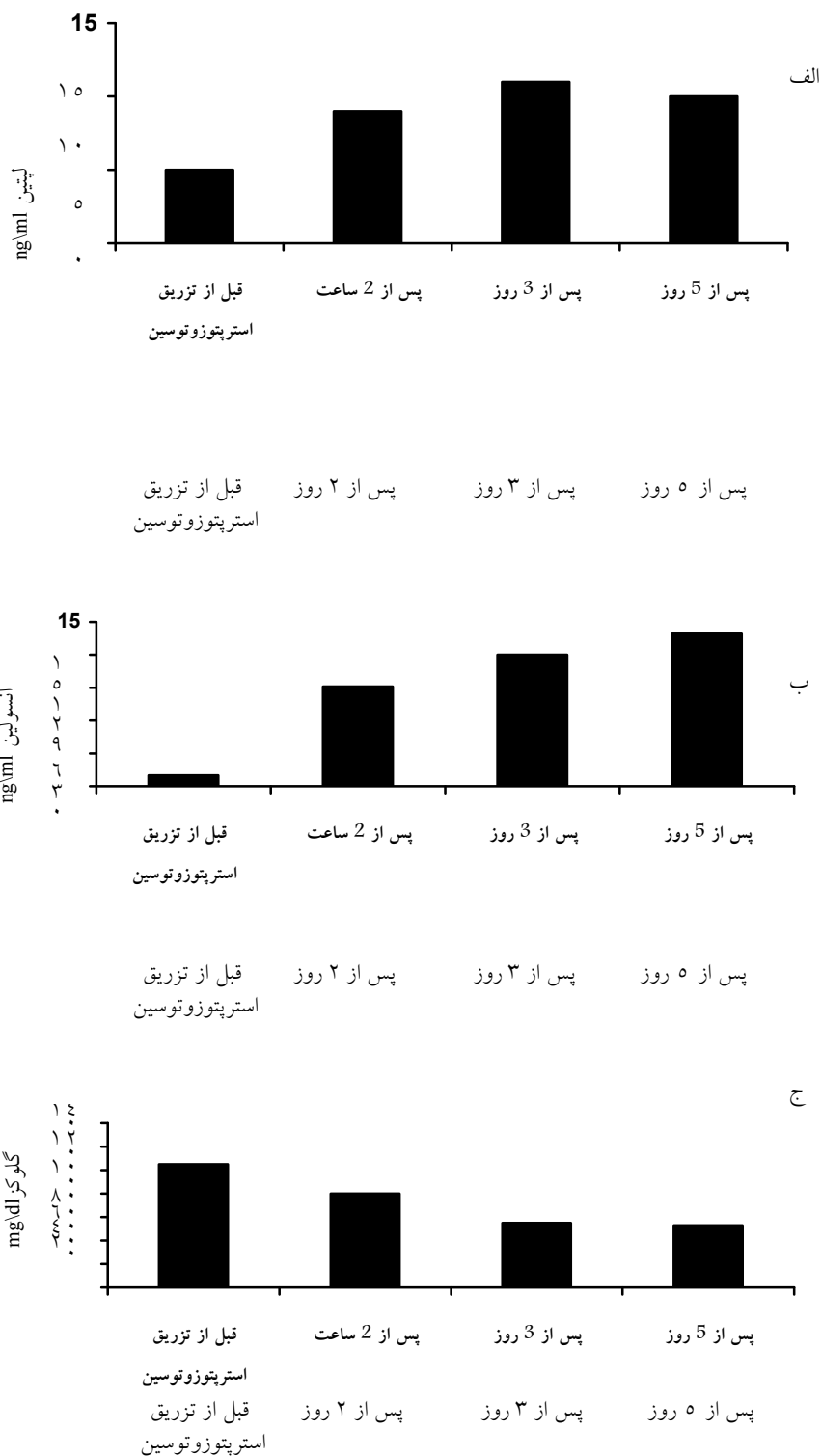


قبل از تزریق استرپتوزوتوسین پس از ۲ روز پس از ۳ روز پس از ۵ روز



قبل از تزریق استرپتوزوتوسین پس از ۲ روز پس از ۳ روز پس از ۵ روز

نمودار ۲: تغییرات غلظت پلاسمایی لپتین (الف)، انسولین (ب)، گلوکز (ج) در موشهای دیابتیک درمان شده با انسولین با دوز ۱۰u/Kg/day قبل از تزریق استرپتوزوتوسین و ایجاد دیابت، دو ساعت پس از اولین نوبت درمان با انسولین، پس از ۳ روز درمان و پس از ۵ روز درمان با انسولین.



نمودار ۳: تغییرات غلظت پلاسمایی لپتین (الف)، انسولین (ب) و گلوکز (ج) در موشهای دیابتیک درمان شده با انسولین با دوز ۲۰u/kg/day قبل از تزریق استرپتوزوتوسین و ایجاد دیابت، دو ساعت پس از اولین نوبت درمان با انسولین، پس از ۳ روز درمان و پس از ۵ روز درمان با انسولین.

بحث

انسولین می شود. از طرف دیگر، مشخص شده است که ورود وابسته به انسولین گلوکز به داخل سلولها در چوندگان بیشتر از انسان هاست (۱۹) و چنانچه ورود وابسته به انسولین گلوکز به داخل سلولهای چربی مسئول تحریک ترشح لپتین باشد (۲۰)، می توان نتیجه گرفت که این عامل باعث بروز اختلاف گونه ای در ترشح لپتین می شود.

مکانیسم احتمالی برای بیان چگونگی تحریک ترشح لپتین توسط انسولین را می توان به این ترتیب بیان کرد که انسولین موجب انتقال گلوکز به داخل سلولهای چربی از طریق GLUT ۴ می شود. سپس گلوکز به عنوان سیگنال داخل سلولی عمل کرده و موجب تحریک ترشح لپتین از سلولهای چربی می شود (۲۱). طبق این فرضیه افزایش گلوکز داخل سلولهای چربی پس از انسولین درمانی باید موجب افزایش ترشح لپتین از بافت چربی شود. از طرفی هاوول و همکارانش در مقاله خود ذکر کرده اند که بغیر از انسولین هر عامل دیگری که موجب افزایش برداشت گلوکز توسط سلول چربی شود ممکن است باعث تحریک ترشح لپتین شود. آنان دریافتند که تحریک ترشح لپتین توسط انسولین از سلولهای چربی موش در *in vitro* ارتباط تنگاتنگی با اثرات انسولین در افزایش برداشت گلوکز توسط سلولهای چربی دارند (۱۷). گزارش کرده اند (۲۱) که مهار برداشت گلوکز توسط ۲-Deoxy-D-glucose، فلوریتین^۱ یا سیتوژالازین-ب^۲، یا مهار متابولیسم گلوکز توسط یدواستات یا فلوئورید سدیم علیرغم حضور غلظت بالایی از انسولین، باعث مهار ترشح لپتین از بافت چربی می شود که به کاهش برداشت و متابولیسم گلوکز توسط سلولهای چربی مربوط می شود. آنان نتیجه گیری کردند که افزایش لپتین پلازما پس از انسولین درمانی در حیوانات دیابتیک ممکن است یک پاسخ ثانویه به افزایش برداشت و مصرف گلوکز توسط سلولهای چربی باشد و بنابراین هیپولپتینمی مشاهده شده در حیوانات دیابتیک را ناشی از کاهش برداشت و متابولیسم گلوکز در سلولهای چربی دانسته اند.

در مطالعه حاضر ما تأثیر کاهش گلوکز پلازما و افزایش انسولین پلازما را بر روی سطح لپتین پلازما جهت بررسی مکانیسم ترشح لپتین مورد ارزیابی قرار دادیم. در بررسی مقادیر لپتین پلازما مشاهده شد که سطح لپتین پلازما به طور معنی داری در گروه درمان شده با ۲۰ واحد انسولین بالاتر از گروه درمان شده با ۱۰ واحد انسولین بود. بنابراین با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات مشابه (۱۷)، ۲۰ و ۲۱) می توان نتیجه گیری کرد که انسولین با انتقال گلوکز به داخل سلولهای چربی به عنوان سیگنال داخل سلولی عمل می کند و موجب تحریک ترشح لپتین از سلولهای چربی موشهای دیابتیک می شود. در این مطالعه اثر تحریکی انسولین روی ترشح لپتین در فاصله زمانی دو ساعت پس از تزریق زیرجلدی انسولین مشاهده شد. بنابراین لپتین به فهرست عواملی که در طی بیماری دیابت دچار تغییرات محسوسی می شوند اضافه می شود. ما بررسی ارتباط لپتین با عوارض احتمالی شناخته شده بیماری دیابت همچون اختلالات قلبی، اختلالات عروقی، نروپاتی، رتینوپاتی، فشارخون، اختلال در التیام زخم و نظایر این ها را پیشنهاد می کنیم.

این مطالعه به منظور تعیین اثر دیابت بر روی سطح پلاسمایی لپتین در موشهای دیابتیک شده توسط استرپتوزوتوسین و بررسی تغییرات لپتین پلازما پس از انسولین درمانی و ارتباط آن با سطح گلوکز پلازما انجام شد. طبق نتایج به دست آمده در این مطالعه پس از محرز شدن بیماری دیابت موشها مشاهده شد که لپتین پلازما دچار افت شدیدی در نمونه گرفته شده پس از ایجاد دیابت نسبت به نمونه تهیه شده قبل از پیدایش بیماری می شود. این کاهش لپتین به طور همزمان با افت انسولین پلازما در موشهای دیابتیک اتفاق افتاد، در حالی که سطح گلوکز پلازما افزایش شدیدی را نشان داد.

محققین در سایر مطالعات انجام شده گزارش کرده اند که لپتین پلازما در حیوانات دیابتیک شده با استرپتوزوتوسین درمان نشده با انسولین کاهش شدیدی را نشان می دهد (۱۲، ۱۷ و ۱۸). در این مطالعه افت شدید لپتین پلازما ۴۸ ساعت پس از تزریق مشاهده شد. در سایر مطالعات نیز مدت زمان مشابهی گزارش شده است (۱۸). اما در یک مطالعه مشابه دیگر کاهش لپتین پلازما ۲ هفته بعد از تزریق استرپتوزوتوسین مشاهده شده بود (۱۷) که علت آن می تواند مربوط به روش متفاوت ایجاد دیابت در این مطالعه باشد. زیرا از تزریق زیرجلدی استرپتوزوتوسین در دو دوز ۴۰ mg/kg به فاصله یک روز استفاده شده بود، در حالی که در مطالعه حاضر و سایر مطالعات مشابه از یک دوز واحد استرپتوزوتوسین به صورت تزریق داخل صفاقی یا داخل - وریدی جهت ایجاد دیابت استفاده شده است و بدیهی است که دیابت ایجاد شده در مطالعه مذکور (۱۷) از لحاظ شدت (کاهش انسولین و افزایش گلوکز) و همچنین مدت زمانی که طول می کشد تا دیابت به تأیید برسد با سایر مطالعات متفاوت خواهد بود و این امر می تواند بر نتایج به دست آمده نیز تأثیر داشته باشد.

در مطالعه حاضر در فاصله ۲ ساعت پس از شروع درمان توسط انسولین سطح لپتین پلازما افزایش معنی داری را نشان داد. در سایر مطالعات نیز انسولین درمانی باعث افزایش لپتین پلازما شده است، اما از لحاظ زمانی اختلاف نظر بسیاری وجود دارد. گزارش شده است که انسولین درمانی پس از ۲ تا ۴ ساعت باعث افزایش سطح لپتین پلازما در موشهای دیابتیک می شود (۱۲)، در حالی که در مطالعات دیگر این فاصله زمانی، دو روز، چهار روز و حتی دو هفته نیز گزارش شده است (۱۷). در یک مطالعه در موشهایی که تحت انفوزیون وریدی مداوم انسولین قرار گرفته بودند نیز افزایش سریع لپتین در عرض کمتر از یک ساعت گزارش شده است (۱۲) ولی در مطالعه مشابه دیگری انفوزیون آهسته کوتاه مدت انسولین تأثیری را روی سطح لپتین پلازما نشان نداده است (۱۴).

در مطالعات انسانی نیز گزارش شده است که انسولین در کوتاه مدت تأثیری روی ترشح لپتین ندارد اما در طولانی مدت (بیش از یک هفته) باعث افزایش لپتین پلازما می شود (۱۲). اکثر تحقیقات انجام شده روی انسان بیانگر این مطلب هستند که انسولین درمانی حداقل پس از یک هفته موجب افزایش لپتین پلازما می شود و اکثر تحقیقات انجام شده روی چوندگان حکایت از این دارند که انسولین درمانی در کمتر از چند ساعت باعث افزایش لپتین پلازما می شود (۱). بنابراین احتمالاً تفاوت در گونه ها مورد مطالعه باعث اختلاف در پاسخ به

References

1. Wauters M, Considine RV, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocythormone to an endocrine mediator. *Eur J Endocrinology*, 2000; 143: 293-311
2. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Leopold L, Freidman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature*, 1994; 372: 425-432
3. Considine RV, Sinha MK, Heiman ML, Kriauciunas A, Stephens TW, Nyce MR, et al.. Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal weight and obese humans. *New England J Medicine*, 1996; 334: 292-5
4. Kacsob B. The adipose organ: appetite, leptin and obesity. In: Kacsob B, *Endocrine Physiology*, 1st ed., McGraw Hill, New York, 2000; 668-81
5. Fruhbeck G. Peripheral actions of leptin and its involvement in disease. *Nutrition Review*, 2002; 60: S47-S55
6. Considine RV, Considine EL, Williams CJ, Hyde TM, Caro JF. The hypothalamic leptin receptor in humans: identification of incidental sequence polymorphisms and absence of the db/db mouse and fa/fa rat mutations. *Diabetes*, 1996; 45(7): 992-4
7. Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N. Identification and expression cloning of a leptin receptor OB-R. *Cell*, 1995; 83: 1263-71
8. Fruhbeck G, Gomez Ambrosi J, Salvador J. Leptin induced lipolysis opposes the tonic inhibition of endogenous adenosine in white adipocytes. *FASEB J*, 2001; 15: 333-40
9. Commins SP, Watson PM, Levin N, Beiler RJ, Gettys TW. Central leptin regulates the UCP 1 and ob gene in brown and white adipose tissue via different beta-adrenoceptor subtypes. *J Biol Chem*, 2000; 275: 33059-67
10. Wabitsch M, Jensen PB, Blum WF, Christoffersen CT, Englaro P, Heinze E, et al.. Insulin and cortisol promote leptin production in cultured human fat cells. *Diabetes*, 1996; 45: 1435-8
11. Velasque MT, Bhathena SJ, Hansen CT. Leptin and its relation to obesity and insulin in the SHR/N-corpulent rat, a model of type 2 diabetes mellitus. *Int J Exp Diabetes Res*, 2001; 2: 217-23
12. Sivitz WI, Walsh S, Morgan D, Donohoue P, Haynes W, Leibel RL. Plasma leptin in diabetic and insulin- treated diabetic and normal rats. *Metabolism*, 1998; 47: 584-91
13. Soliman AT, Omar M, Assem HM, Nasr IS, Rizk MM, El Matary W, et al.. Serum leptin concentrations in children with type 1 diabetes mellitus relationship to body mass index, insulin dose, and glycemic control. *Metabolism*, 2002; 51: 292-6
14. Azar ST, Zalloua PA, Zantout MS, Shahine CH, Salti I.. Leptin levels in patients with type 1 diabetes receiving intensive insulin therapy compared with these in patients receiving conventional insulin therapy. *J Endocrinol Invest*, 2002; 25: 724-6
15. Hidaka S, Yoshimatsu H, Kondou S, Tsuruta Y, Oka K, Noguchi H, et al. Chronic central leptin infusion restores hyperglycemia independent of food intake and insulin level in STZ- diabetic rats. *FASEB J*, 2002; 16: 509-18.
16. Lim CY, Higginbotham DA, Judd RL, White BD. Central leptin increases insulin sensitivity in STZ-induced diabetic rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002; 282: E1084-91
17. Havel PJ, Uriu-Hare JY, Liu T, Stanhope KL, Stern JS, Keen CL, et al. Marked and rapid decreases of circulating leptin in streptozocin diabetic rats: reversal by insulin. *Am J Physiol*, 1998; 274: R1482-91
18. Ramsay TG, White ME. Insulin regulation of leptin expression in streptozotocin diabetic pigs. *J Anim Sci*, 2000; 78: 1497-503
19. Porte D, Baskin DG, Schwartz MW. Leptin and insulin action in the central nervous system. *Nutrition Reviews*, 2002; 60: S20-29
20. Mueller WM, Gregoire FM, Stanhope KL, Mobbs CV, Mizuno TM, Warden CH, et al. Evidence that glucose metabolism regulate leptin secretion from cultures adipocytes. *Endocrinology*, 1998; 139: 551-8
21. Wang JL, Chinooskowsong N, Scully S, Qi M, Shi ZQ. Differential effects of leptin in regulation of tissue glucose utilization in vivo. *Endocrinology*, 1999; 140: 2117-24