Archive of SID

بررسی اثر شبه انسولینی وانادیل سولفات بر فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبد رتهای دیابتی

*دکتر محسن آنی ، ** دکتر منوچهر مصری پور ، ***مهدی هراتی

* دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان،** دانشگاه آزاد اسلامی، واحد خوراسگان اصفهان،

*** دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

خلاصه

عمده ترین نقش انسولین در پستانداران برقراری هموستاز گلوکز از طریق تنظیم تولید گلوکز توسط کبد و مصرف آن به وسیله سایر بافت ها می باشد. آنزیم گلوکوکیناز (EC2.7.1.2) کبد نقش کلیدی را در متابولیسم گلوکز ایفا می نماید. فعالیت کامل این آنزیم به هورمون انسولین وابسته است. نقص پانکراس در تولید و ترشح مقادیر کافی انسولین سبب افزایش گلوکز خون و بر هم خوردن هموستاز آن می گردد. شواهدی که اخیرا به دست آمده است ، نشان می دهد که احتمالا مشتقات وانادیوم می تواند اعمال انسولین را در بافت های هدف تقلید نماید. بنابراین چنین به نظر می رسد که وانادیل سولفات ممکن است دارای اثرات شبه انسولینی بر فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبد باشد.

برای انجام این تحقیق رتهای نرنژاد Wistar به طور اتفاقی به چهار گروه تقسیم شدند که عبارتند از: گروه شاهد، گروه شاهد تحت درمان با محلول ۰/۵ mg/ml وانادیل سولفات به مدت ۴ هفته ، گروه دیابتی شده با استرپتوزوتوسین ، گروه دیابتی شده با استرپتوزوتوسین تحت درمان با محلول ۰/۵ mg/ml وانادیل سولفات به مدت ۴ هفته . حیوانات به وسیله یك تك دوز داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) دیابتی گردیدند. غلظت گلوکز خون به وسیله روش گلوکز اکسیداز – پراکسیداز و غلظت انسولین خون با استفاده از سنجش ایمونورادیومتری (IRMA) تعیین گردید و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبدی با استفاده از روش سنجش پیوسته و از طریق تفاضل میزان فسفوریلاسیون گلوکز در غلظت های ۱۰۰ mM و ۰/۵ mM محاسبه شده است. در مدلهای حیوانی دیابتی شده، سطح انسولین خون ۸۳٪ کاهش و میزان کلوگز تا بیش از ۴ برابر افزایش یافت. در مقابل غلظت گلوکز خون رتهای دیابتی که محلول وانادیل سولفات را مصرف نموده اند، با غلظت گلوکز خون رتهای گروه شاهد تفاوت معنی داری نداشت. از طرف دیگر مصرف محلول وانادیل سولفات تغییر قابل ملاحظه ای را در غلظت انسولین خون این گروه ایجاد نکرد. اگرچه فعالیت گلوکوکیناز کبد حیوانات دیابتی ناچیز بود، ولی درمان با محلول وانادیل سولفات سبب بازگشت فعالیت تا حد ۶۷/۶٪ مقدار آن در گروه شاهد شده است. مصرف این محلول توسط گروه شاهد تحت درمان با وانادیل سولفات سبب تغییر معنی دار غلظت گلوکز خون و فعالیت گلوکوکیناز کبد در مقایسه با گروه شاهد نشده است. با این حال مصرف محلول وانادیل سولفات در گروه اخیر سبب کاهش قابل ملاحظه سطح انسولین (۵۸٪) شده است. نتایج به دست آمده از این مطالعه نشان دهنده آن است که وانادیل سولفات قادر است اثرات انسولین را در شرائط in vivo تقلید نماید و سبب کاهش گلوکز خون و برگشت فعالیت گلوکوکیناز کبدی رتهای دیابتی گردد. بدین ترتیب یکی از مکانیسم هایی که بوسیله آن یون وانادیل باعث کاهش گلوکز خون می گردد احتمالا اثر آن بر بافت کبدی می باشد.

کلمات کلیدی: دیابت ملیتوس، گلوکوکیناز، وانادیل سولفات، استرپتوزوتوسین

مقدمه

دیابت ملیتوس یکی از شایع ترین اختلالات متابولیکی است و شاخص ترین ویژگی آن افزایش گلوکز خون بوده که ناشی از اختلال ترشح انسولین یا اختلال عملکرد انسولین و یا هر دو می باشد(۱، ۵). تیپ ۱ دیابت (وابسته به انسولین) خطرناکترین فرم بیماری است که در نتیجه تخریب سلولهای بتای پانکراس به فقدان کامل انسولین منجر خواهد شد. در این

www.SID.ir

Archive of SID

بیماری کمبود انسولین به وسیله تجویز انسولین تزریقی جبران می گردد (۱۰). با این وجود مقاومت به انسولین یکی از عمده ترین مشکلات درمانی بوده و تزریق انسولین به تنهایی در این بیماران رضایت بخش نمی باشد و به همین دلیل به یک روش درمانی جدید نیاز است (۷). امروزه محققین به طور گسترده ای به دنبال ترکیباتی هستند که بتوانند سبب تصحیح مقاومت به انسولین شده و حساسیت بافتها را به این هورمون افزایش دهند.

یکی از این ترکیباتی که به نظر می رسد دارای ویژگیهای شبه انسولینی است املاح عنصر وانادیوم می باشد (۲). وانادیوم عنصری است بسیار کم مقدار (Ultra trace element) که به طور طبیعی در آب و خاک یافت می شود (۱۴). از نظر شیمیایی عنصر وانادیوم دارای ظرفیتها و فرمهای مختلف آنیونی و کاتیونی است (وانادیوم III,IV,V) (۱۷).

وانادیوم در پستانداران به صورت یک عنصر بسیار کم مقدار وجود دارد. اثبات اینکه این عنصر برای بدن انسان ضروری است یا خیر نیاز به تحقیق بیشتری دارد (۱۷). مصرف این عنصر از طریق رژیم غذایی متغیر بوده وحدود ۶۰-۱۰ µg/day گزارش شده است. غلظت پلاسمایی آن در حدود ۲۰ nM و کل ذخایر وانادیوم در بدن حدود ۲۰۰-۱۰۰ µg می باشد (۱۳). اولین عمل بیولوژیکی که برای این عنصر شناخته شده اثر آن بر فعالیت پمپ Na/K ATPase بوده است. همچنین نشان داده شده است که املاح وانادیوم سایر پمپ های ATPase را نیز مهار می کند. اما اینکه این عنصر دارای یک نقش تنظیمی بر فعالیت اینگونه پمپ هاست، به درستی مشخص نیست (۱۲).

یکی از قابل توجه تربن اثرات املاح وانادیوم کاهش گلوکز خون در مدلهای دیابتی که محلول حاوی املاح این عنصر را مصرف نموده اند، می باشد (۲). مطالعات in vivo نشان داده است که املاح وانادیوم قادرند اثرات انسولین را در بافتهای هدف تقلید نمایند (۴). از آنجایی که آنزیم گلوکوکیناز کبد نقش کلیدی را در متابولیسم گلوکز ایفا می نماید و با توجه به اینکه در کبد حیوانات دیابتی فعالیت بسیار اندکی از این آنزیم وجود دارد، در این مطالعه اثرات محلول خوراکی وانادیل سولفات را بر فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبد در رتهای دیابتی بررسی خواهیم نمود.

مواد و روش کار

مواد شیمیایی: وانادیل سولفات از کارخانه Merck آلمان تهیه گردید. سایر مواد از کارخانه سیگما یا آلدریچ خریداری شد. تمامی مواد به کار گرفته شده دارای درجه خلوص قابل قبولی بوده اند.

حیوانات و آماده سازی: رتهای (Rats) نر نژاد Wistar با وزن تقریبی ۲۲۰-۲۰۰ گرم از انستیتو پاستور تهران خریداری شد و تحت شرایط استاندارد (نور، درجه حرارت و تغذیه) در لانه حیوانات نگهداری گردید. رتها در خوردن و آشامیدن آزاد بودند (Ad libitum). حیوانات بوسیله یک دوز واحد داخل صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/Kg) که در ۰/۵ میلی لیتر محلول بافر حاوی سیترات سدیم ۵۰mM و نمک طعام ۰/۱۵ M با pH =۴/۵ حل شده بود، دیابتی گردیدند. به رتهای گروه کنترل فقط محلول بافر تزریق شد. پس از یک هفته از زمان تزریق نمونه خون از گوشه داخلی چشم (Retro-Orbital plexus) جهت اندازه گیری گلوکز جمع آوری گردید. حیواناتی که گلوکز خون بیش از ۴۰۰ mg/dl داشتند، برای آزمایش مورد استفاده قرار گرفته اند. در این سری از آزمایشات چهار گروه رت انتخاب شد که عبارتند از: گروه غیر دیابتی شاهد (n=۸)، گروه شاهد تحت درمان با محلول وانادیل سولفات (n=۸)، گروه دیابتی شده با استرپتوزوتوسین (n=۸) وگروه دیابتی تحت درمان با محلول وانادیل سولفات (n=۸).

حیوانات گروه شاهد و دیابتی، محلول۰/۱۵M نمک طعام را به عنوان آب آشامیدنی مصرف نمودند و گروههای تحت درمان، محلول حاوی ۰/۱۵ M نمک طعام و ۰/۵ mg/ml وانادیل سولفات را به عنوان آب آشامیدنی مصرف کردند (این محلولها

www.SID.ir

Archive of SID

به صورت روزانه تهیه می شد). پس از ۳۰ روز مصرف محلولهای فوق، حیوانات با قطع سر کشته شده و غوته خون و کبد پرفیوز شده جمع آوری گردید. سپس مخلوط هموژن ۱۰٪ (W/V) کبد در محلول حاوی ۵۰ mM از sodium hepes ، ۲/۵ mM DTT(Dithiothritol)، ۱۰۰mM KCL، ۵ mM MgCl2، ۱mM EDTA، PMSF(Phenyl methyl sulphonyl fluoride) ۱ µg/ml در pH= ۷/۴ تهیه شد. درنهایت مخلوط هموژن در شتاب g ۲۰۰۰۰ به مدت ۲۰ دقیقه و در ۴ درجه سانتیگراد سانتریفوژ گردید و سوپرناتانت به دست آمده از این مرحله در ۲۰ – درجه سانتیگراد تا اندازه گیری فعالیت آنزیم گلوکوکیناز نگهداری شد.

اندازه گیری گلوکز، انسولین و سنجش فعالیت گلوکوکیناز: غلظت گلوکز خون با استفاده از روش گلوکز اکسیداز- پراکسیداز اندازه گیری گردید (۸). سطح انسولین خون نیز به وسیله سنجش ایمونورادیومتری (IRMA) و با به کارگیری کیت (Biosorce,Euroupe S.A) اندازه گیری شد (۳). فعالیت آنزیم گلوکوکیناز با استفاده از روش زوج آنزیمی پیوسته اندازه گیری شده است (۶). به این ترتیب که به ۰/۹۹ ml از محلول حاوی ۵۰mM Sodium Hepes، ۱۰۰ mM KCl، ۷/۵mM $MgCl_2$، ۵ mM ATP، ۲/۵ mM DTT، آلبومین ۱۰ mg/ml، در غلظت های متفاوت گلوکز ۰/۵ mM و ۱۰۰ mM، ۰/۵ mM NAD و ۴ واحد آنزیم گلوکز-۶- فسفات دهیدروژناز(IV L.mesentroidstype)، ۰/۰۱ ml سوپرناتانت هموژنه کبدی اضافه شد. به طوری که حجم نهایی به ۱ ml رسید. واکنش با اضافه شدن ATP آغاز شده و میزان احیاء NAD در طول موج ۳۴۰ nm ثبت گردید.

میزان فسفوریلاسیون گلوکز با اندازه گیری تغییرات جذب در محیط دارای ATP و فاقد آن (به عنوان بلانک) سنجیده شد. در نهایت فعالیت آنزیم گلوکوکیناز با استفاده از تفاضل میزان فسفوریلاسیون در دو غلظت ۱۰۰ mM و ۰/۵ mM گلوکز محاسبه گردید. در پایان آنالیز آماری داده ها به وسیله independent t-test انجام پذیرفت.

نتایج

چهار گروه حیوانات مورد مطالعه مصرف آب و غذای متفاوتی را نشان دادند که به اختصار در جدول شماره ۱ آورده شده است. مصرف آب و غذای رتهای دیابتی تحت درمان با محلول ۰/۵ mg/ml وانادیل سولفات به مدت ۴ هفته، در حد معنی داری ($P< ۰/۰۰۱$) نسبت به گروه دیابتی کاهش یافته و تقریبا به حد گروه شاهد رسیده است. مصرف آب و غذای رتهای دیابتی خیلی بیشتر از رتهای گروه شاهد بود و وزن رتهای گروه دیابتی کاهش معنی داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد.

نتایج نشان داده شده در جدول شماره ۲ حاکی از آن است که گلوکز خون حیوانات دیابتی پس از پایان دوره آزمایش ۴/۷ برابر رتهای گروه شاهد می باشد که مصرف وانادیل سولفات سبب کاهش معنی دار گلوکز خون ($P< ۰/۰۰۱$) در این گروه از رتها شده است. مصرف این محلول تاثیر قابل ملاحظه ای بر غلظت گلوکز خون رتهای گروه شاهد نداشته است.

همچنین در رتهای گروه دیابتی کاهش ۸۳ ٪ سطح انسولین خون مشاهده گردید (جدول ۲). مصرف محلول وانادیل سولفات تغییر قابل ملاحظه ای بر سطح انسولین خون رتهای گروه دیابتی نداشته است، ولی به عوض مصرف این محلول سبب کاهش ۵۸٪ غلظت انسولین رتهای گروه شاهد شده است. به علاوه نتایج نشان داده شده در جدول ۲ حاکی از کاهش ۷۹/۴ ٪ فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبدی در رتهای دیابتی نسبت به گروه شاهد می باشد.

مصرف محلول خوراکی وانادیل سولفات در این گروه باعث بازگشت فعالیت این آنزیم تا سطح ۶۷/۶ ٪ شده است. از طرف دیگر مصرف محلول فوق سبب تغییر قابل ملاحظه ای در سطح فعالیت گلوکوکیناز کبد رتهای گروه شاهد نشده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: اثر دیابت و مصرف محلول وانادیل سولفات (۰/۵mg/ml در آب آشامیدنی) بر وزن، مصرف آب و غذای رتهای چهار گروه آزمایشی پس از پایان دوره آزمایش ٤ هفته ای. نتایج بر اساس SD ± میانگین ، برای تعداد ۸ رت گزارش شده است.

گروه حیوانات	وزن (g)	غذای مصرفی (g/day)	آب مصرفی (ml/day)
شاهد	۴۰۲/۵±۱۰/۲	۲۷/۵±۲/۱	۳۹/۷±۵/۴
شاهد تحت درمان	**۳۳۴/۷±۱۱/۴	*۲۳/۶±۱/۸	*۲۴/۳±۴/۵
دیابتی	**۳۲۲/۵±۱۲/۵	**۴۸/۴±۳/۵	**۳۹۸/۷±۱۵/۳
دیابتی تحت درمان	**۲۷۲/۶±۱۴/۴	*۳۰/۵±۲/۷	*۴۵/۵±۷/۴

*P<۰/۰۵ و ** P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد.

جدول ۲: اثر دیابت ومصرف محلول وانادیل سولفات (۰/۵mg/ml در آب آشامیدنی) برمقدار گلوکز و انسولین خون و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبد رتهای چهار گروه آزمایشی، پس از پایان دوره آزمایش ٤ هفته ای. نتایج بر اساس SD ± میانگین، برای تعداد ۸ رت گزارش شده است.

گروه حیوانات	غلظت گلوکز خون (mg/dl)	غلظت انسولین خون (PM)	فعالیت گلوکوکیناز (Units/mg)
شاهد	۱۱۹/۵±۸/۶	۲۲۴/۹±۱۳/۵	۰/۰۳۴±۰/۰۰۲۳
شاهد تحت درمان	۱۰۸±۶/۵	* ۹۳/۵ ±۶/۵	۰/۰۳۱±۰/۰۰۱۴
دیابتی	*۵۵۹/۴±۲۱/۸	*۴۱/۵±۴/۲	*۰/۰۰۷±۰/۰۰۰۱
دیابتی تحت درمان	**۱۴۸/۶±۱۱/۸	۳۷/۷±۳/۹	**۰/۰۲۳±۰/۰۰۱۶

* P< ۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه شاهد.

**P< ۰/۰۰۰۱ در مقایسه با گروه دیابتی.

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان دهنده آن است که مصرف محلول خوراکی ۰/۵ mg/ml وانادیل سولفات به مدت ۴ هفته سبب کاهش قابل ملاحظه گلوکز خون رتهای دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می شود. به علاوه مصرف محلول وانادیل سولفات سبب کاهش مصرف آب، غذا و همچنین وزن رتهای دیابتی شده است. عنصر وانادیوم از طریق کاهش اشتها سبب کاهش وزن این گروه از رتها گردیده است (۱۹). در حقیقت یکی از اثرات ناخواسته وانادیل سولفات کاهش وزن ناشی از کاهش اشتهاست که در نگاه اول از آنجا که در بیماران مبتلا به تیپ ۱ دیابت کاهش وزن رخ خواهد داد این یك اثر منفی محسوب می گردد ولی از آنجا که عمده مبتلایان به دیابت را تیپ ۲ تشکیل می دهند و این بیماران عمدتا دارای مقاومت به انسولین ناشی از اضافه وزن می باشند، اثر کاهش اشتها و وزن ناشی از مصرف وانادیل سولفات یك اثر مثبت ارزیابی می گردد.

البته تحت این شرایط شاید اینگونه به نظر می رسد که همین کاهش وزن عامل کاهش گلوکز خون باشد ولی نباید فراموش نمود که آنزیم گلوکوکیناز که نقش کلیدی را در هموستاز گلوکز بازی می نماید برای فعالیت خود به هورمون انسولین وابسته است و صرفا کاهش وزن نمی تواند عامل افزایش فعالیت این آنزیم در غیاب انسولین محسوب گردد(۱۵). همچنین نتایج این مطالعه نشان می دهد که اثر هیپو گلیسمیك وانادیل

www.SID.ir

Archive of SID

سولفات با افزایش فعالیت گلوکوکیناز کبدی کـه در مدلهـای دیابتی در حد معنی داری ($P< ۰/۰۰۱$) نسبت بـه گروه شـاهد کاهش یافته است، همراه می باشد. از آنجایی که ادامه فعـالیت طبیعی این آنزیم کلیدی هموستاز گلوکـز در کبـد بـه حضـور انسولین وابسته است (۱۵) و با توجه به اینکه غلظت انسولین در گروه اخیر به میزان ۸۳٪ کاهش یافته چنین به نظر می رسد که تنظیم فعالیت آنزیم گلوکوکیناز توسـط یـون وانـادیل بـا افزایش مقدار این آنزیم در هپاتوسیت ها ارتباط دارد.

مطالعات in vivo نشان می دهد اثر القـایی انسـولین بـر گلوکوکیناز با افزایش سرعت سنتز این آنزیم همراه است (۱۶). در حیواناتی که بوسیله استرپتوزوتوسین دیابتی شده اند، کاهش سنتز و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز ناشی از کاهش سـطح آنـزیم در سلولهای کبـدی بـوده اسـت (۱۸). از طـرف دیـگر تجویـز انسولین به حیوانات فوق سبب افزایش نسخه برداری و ترجمـه mRNA، سرعت سنتز و در نهایت افزایش فعـالیت آنـزیم در هپاتوسیت ها شده است (۱۶). به این ترتیب از نتایج به دسـت آمده از این تحقیق چنین به نظر مـی رسـد کـه یـون وانـادیل مـی توانـد نظـیر انسـولین سـبب بـازگشـت فعـالیت طبیعـی گلوکوکیناز کبد رتهـای دیـابتی گردد. بنـابراین احتمـالا یـون وانادیل این اثر شبه انسولینی خود را از طریق القاء سنتز آنـزیم مزبور انجام می دهد. شروع اثـر القـایی انسـولین در بیـان ژن گلوکوکیناز از طریق اتصال هورمون به گیرنده تیروزین کیناز غشـاء سـلولی انجـام مـی پذیـرد و متعـاقب ایـن اتصـال باقیمانده های تیروزین بر روی گیرنده فسفوریله می شـوند و به این ترتیب مسیر انتقال پیام انسولین به داخل سلول از طریق فعا ل شدن اولین سوبسترای گیرنده انسولین ادامـه مـی یـابد (۱۱).

از طرف دیگر این یافته که غلظت انسـولین خـون رتهـای گروه شاهد که محلول وانادیل سولفات را مصرف کـرده بودنـد به میزان ۵۸٪ کاهش یافته خود مؤید آن است که یون وانادیل با تقلید اثرات انسولین، نیاز به ترشح بیشـتر انسـولین توسـط پانکراس را کاهش مـی دهـد. نهـایت آنکـه احتمـالا وانـادیل سولفات از طریق مهار فسفوتیروزیل پروتئین فسـفاتاز کـه بـا برداشت گروه فسفات از گیرنده انسولین آنرا مهار مـی کنـد، سبب کاهش دفسفوریلاسیون این گیرنده شده و به این ترتیب اعمال شبه انسولینی خود را اعمال می نماید.

References

1. Bloomgarden Z. T., 1998, American diabetes association. annual meeting, 1998, Diabetes Care,12:2185-2189.
2. Bricar S. M ., Henquin J. C., 1995, The role of vanadium in the management of diabetes,TiPS.,16:265-270.
3. Clark P., Evaluation of medgenix insulin-immunoradiometric assay, Addenbrooks Hospital Cambridge,UK, 1993, 1-11.
4. Cohen N., Halberstam M., 1995, Oral vanadyl sulfate improves hepatic and peripheral insulin sensitivity in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, J. Clin. Invest., 95:2501-2509.
5. Committee Report., 1997, Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus, Diabetes Care, 20 (7):1183-1197.
6. Davidson A. L., Arion W. J., 1987, Factors underlying significant understimation of glucokinase activity in crude liver extracts: physiological of higher cellular activity, Arch. Biochem. Biophys., 253(1):156-167.
7. Garg A., 1996, Insulin resistance in the pathogenesis of dislipidemia, Diabetes, 19(4):387-389.
8. Gochman N., Schmitz J. M., 1972, Application of new peroxidase indicator reaction to the specific automated determination of glucose with glucose oxidase, Clin. Chem., 18:943-950.
9. Khan C. R., 1995, Cause of insulin resistance (new comments), Nature, 373 :(6513)384-385.
10. Lernmark A., 1999, Type I diabetes, Clin. Chem., 45 (B):1331-1338.
11. Myers M. G., Morris F. W.,1996, Insulin signal transduction and the IRS proteins, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 36:615-658.
12. Nechy B. R., 1984, Mechanism of action of vanadium, Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol., 24:501-524.
13. Nielsen F. H., 1998, Ultratrace elements in nutrition: current knowledge and speculation, J. Trace. Elem. Exp. Med., 11:251-274.
14. Nriga J. O., ED., 1995,Vanadium in enviroment. in: Adv. Enviro. Science Technol. John Wiley and Sonse Inc., New York, Vol 30 and 31, 1-25.
15. Reyes A., Cardenas M. L.,1984, All hexokinase isoenzymes coexist in rat hepatocytes, Biochem. J., 221:303-309.
16. Sibrowski W., Seits H. J., 1984, Rapid action of insulin and cyclic AMP in the regulation of functional messenger RNA coding for

www.SID.ir

Archive of SID

glucokinase rat liver, J. Biol. Chem., 259(1): 343-346.
17. Solomons N. M., Ruz M., 1998, Trace element requirements in humans.An update, J. Trace. Elem. Exp. Med., 11:177-195.
18. Spence J.T.,1983,Levels of translatable mRNA coding for rat liver glucokinase, J. Biol. Chem., 258(15):9143-9146.
19. Wang J., Yuen V. G., 2001, Effect of vanadium on insulin sensitivity and appetite, Metabolism, 50(60): 667-673.