بررسی تأثیر داروی متفورمین بر گلوکز و پروفایل‌های چربی و استرس اکسیداتیو سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان

احمد شفیع‌زاد[۱*]، علی رضایی[۲]، محمد رهبانی‌نوبر[۳]، داریوش مهاجری[٤]، جعفر رحمانی‌کهنموئی[٥]

چکیده

دیابت نوع ۲ به عنوان یک مسئله بهداشت جهانی شایع بوده و رو به افزایش میباشد. هدف از این مطالعه ارزیابی تاثیر داروی متفورمین بر گلوکز و پروفایلهای چربی و استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان می باشد. در این مطالعه تعداد ٤۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار، بطور تصادفی در ٤ گروه برابر شامل گروه‌های: شاهد سالم، دیابتی، کنترل متفورمین و دیابتی درمان شده با متفورمین توزیع گردیدند. دیابت با تزریق داخل صفاقی تک دوز آلوکسان (۱۲۰ mg/kg) ایجاد گردید. به گروه‌های ۳ و٤ متفورمین با دوز ۱۵۰ mg/kg/day به مدت ۱ ماه گاواژ گردید. در پایان از تمامی موش‌ها خونگیری به عمل آمده و سطوح سرمی گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول، LDL ، HDL ، VLDL و ماحصل پراکسیداسیون لیپیدی در قالب شاخص مالون دی آلدئید وهمچنین میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز، کاتالاز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان خون مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت داده های کمی بدست آمده توسط آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و ازمون تعقیبی توکی بین گروه های مورد مطالعه در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در موش‌های دیابتی، متفورمین به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) سطوح گلوکز، تری گلیسیرید، کلسترول، LDL، VLDL را کاهش داد و سبب افزایش HDL سرم شد. در آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان افزایش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) توسط متفورمین ایجاد گردید. متفورمین، میزان پراکسیداسیون لیپیدی (مالون دی آلدئید) را نیز بطور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) کاهش داد اما به حد مطلوب نرسید. نتایج نشان داد که متفورمین علاوه بر اثر هایپوگلیسمیک، مانع از هایپرلیپیدمی خون متعاقب دیابت می‌شود و همچنین با افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی از آسیب‌های اکسیداتیو دیابت جلوگیری می‌کند.

واژگان کلیدی: *دیابت، متفورمین، آلوکسان، پارامترهای بیوشیمیایی، موش صحرایی*

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۵

مقدمه

دیابت نوع ۲ به‌عنوان یک مسئله بهداشت جهانی همچنان رو به افزایش بوده و شایع‌ترین نوع دیابت به‌شمار می‌آید. بیماری دیابت یک اختلال مزمن در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، چربی و پروتئین بوده و باعث افزایش سطح FBG (Fasting Blood Glucose) و PPG (Post-Paradinal blood Glucose) می‌شود که متعاقباً آسیب‌های جدی را در عروق و بافت های مختلف بدن سبب می‌گردد. اگرچه پاتوژنز دیابت نوع ۲ دقیقاً مشخص نشده است، لکن مدارک موجود اختلال در متابولیسم گلوکز و چربی را در این امر دخیل می‌دانند. در بیماران دیابتی، هیپرگلیسمی باعث آزادشدن گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. بنابراین بیماری دیابت با تولید رادیکال‌های آزاد و از طریق افزایش استرس‌های اکسیداتیو باعث آسیب سلول‌ها و بافت‌های مختلف بدن می‌شود (۱۷). عوارض ناشی از دیابت توسط فاکتورهای متعددی ایجاد می‌گردد و لذا تنها از طریق کنترل هیپرگلیسمی و فشار خون قابل پیشگیری نیست(۱۵). اگرچه در مراحل اولیه بیماری، آسیب بافت‌ها توسط هیپرگلیسمی القاء می‌شود، اما پیشرفت آسیب به ابقاء هیپرگلیسمی ارتباط ندارد (۱۹). از این رو، کنترل گلوکز خون به تنهایی برای به‌تعویق انداختن روند عوارض دیابت کافی نیست. شواهد زیادی حاکی از نقش استرس اکسیداتیو و به دنبال آن تولید رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی و دخالت این عوامل در پاتولوژی دیابت است (۱۲ و ٤).

کبد، اندامی موثر در متابولیسم و حفظ و برقراری سطح گلوکز خون در محدوده طبیعی بوده و افزایش قند خون منجر به عدم تعادل در واکنش‌های اکسیداسیون- احیاء در درون هپاتوسیت‌ها می‌شود؛ به این صورت که، هیپرگلیسمی از طریق افزایش تولید

۱*. دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.
Shafizadeh_ahmad64@yahoo.com
۲. استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تبریز، تبریز، ایران.
۳. استاد گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
٤. دانشیار بخش پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.
۵. استادیار بخش کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران.

Archive of SID
www.SID.ir

(Advanced glycation end products; AGEs) باعث تسهیل در تولید رادیکال‌های آزاد از طریق اختلال در تولید زداینده‌های درونزاد (Reactive oxygen species; ROS) مثل سوپراکسید دسموتاز (SOD) و کاتالاز می‌گردد که منجر به آسیب سلول می‌گردد(۱۱و ۳). میزان پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از تنش‌های اکسیداتیو در سلول‌ها، توسط مکانیسم‌های تدافعی متنوعی شامل سیستم‌های زداینده آنزیماتیک و غیر آنزیماتیک رادیکال‌های آزاد که سطوح آنها در دیابت تغییر می‌یابد، کنترل می‌گردد.

از جمله داروهای مورد استفاده برای کنترل قند خون متفورمین می‌باشد. متفورمین تولید گلوکز کبدی را از طریق مهار گلوکونئوژنز کاهش داده و میزان جذب گلوکز را با تحریک انسولین در عضله و بافت چربی افزایش می‌دهد. متفورمین از طریق جلوگیری از جذب لاکتات کبدی باعث کاهش جریان گلوکونئوژنز در کبد می‌گردد و درمان با متفورمین سبب کاهش غلظت آدنوزین تری فسفات در هپاتوسیتها نیز می شود با توجه به اینکه آدنوزین تری فسفات بازدارنده آلوستریک پیروات کیناز می باشد. همچنین متفورمین از طریق جلوگیری از فعالیت پیروات کربوکسیلاز و فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز و احتمالا با افزایش تبدیل پیروات به آلانین باعث کاهش گلوکوژنیک می شود. علاوه بر این متفورمین منجر به سهولت در توقف گلوکونئوژنز ناشی از انسولین از مواد متعددی مانند آلانین، پیروات، لاکتات، گلیسرول و آمینواسیدها شده و مقاومت در برابر فعالیت گلوکونئوژنیک گلوکاگون می‌گردد. مکانیسمی که از طریق آن متفورمین باعث کاهش تولید گلوکز کبدی می‌شود همچنان ناشناخته باقی مانده است. اما به نظر می رسد که محل اصلی فعالیت آن میتوکندری هپاتوسیت باشد که در آن اکسیداسیون زنجیره تنفسی کمپلکس ۱ مختل می شود، جلوگیری از تنفس سلولی باعث کاهش گلوکونئوژنز شده و می‌تواند منجر به القاء ناقل‌های گلوکز و در نتیجه مصرف گلوکز گردد(۱٤). هنوز مشخص نشده است که آیا متفورمین مستقیما از طریق نفوذ از غشاء داخلی میتوکندری در زنجیره تنفسی عمل می‌کند یا از طریق مسیرهای نا مشخص سیگنال سلولی انجام می‌دهد. مطالعات نشان می‌دهد که بی گوانیدها بطور اختصاصی و رقابتی به محل کاتیونهای دو ظرفیتی بر روی پروتئینها متصل شده و با کنترل کلسیم داخل سلولی مخصوصا در میتوکندری تداخل می‌کند حتی دوزهای پایین بی گوانیدها باعث افزایش میزان جذب کلسیم (Ca^{2+}) در میتوکندریایی کبدی می شود که در آن یون کلسیم به عنوان فعال کننده قوی زنجیره تنفسی میتوکندری عمل می‌کند. همچنین این دارو باعث افزایش ظرفیت انتقال گلوکز (GLUT4) در بافت‌های عضله و چربی می‌گردد(۱٤). تاثیر متفورمین در بافت‌های محیطی حساس به انسولین موجب ضرورت وجود انسولین جهت فعالیت کامل آن می شود و متفورمین بسیاری از فعالیتهای بیولوژیکی انسولین از جمله انتقال گلوکز و سنتز گلیکوژن و لیپید را در بیماران دیابتی مقاوم به انسولین تقویت می‌کند. متفورمین عمل انتقال گلوکز در عضله اسکلتی را در غیاب انسولین تسهیل می‌کند(۲). بنابراین متفورمین دارای اثرات متابولیکی بر بافت‌های حساس به انسولین می‌باشد که می‌توان به اثرات کاهنده گلوکز آن نسبت داد. متفورمین می‌تواند با کاهش جذب روده‌ای گلوکز پس از صرف غذا باعث بهبود هیپرگلیسمی‌گردد. طبق بررسی صورت گرفته، افزایش مصرف گلوکز در روده کوچک بیمارانی که با استفاده از متفورمین مداوا می‌شوند، متفورمین می تواند مانع از انتقال بیشتر گلوکز به چرخه کبدی گردد. بنابراین این دارو موجب کاهش تولید گلوکز کبدی از طریق جلوگیری از گلوکونئوژنز و احتمالا گلیکوژنولیز و افزایش حساسیت محیطی انسولین می‌گردد (۱٤و ۱۳). علاوه بر این متفورمین در کاهش جذب گلوکز روده‌ای- معده‌ای موثر و بطور غیر مستقیم واکنش پانکراتیک سلول‌های بتا به گلوکز را از طریق کاهش گلوکز توکسیک و میزان اسیدهای چرب آزاد بهبود می بخشد و این داروی ضد هیپرگلیسمی باعث کاهش اکسیداسیون اسیدهای چرب می‌شود

www.SID.ir

زیرا افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب مانع از عمل آنزیم‌های اصلی مسیر گلیکولیتیک از طریق تجمع استیل کوآنزیم A و سیترات می‌شود که جزء محصولات فرعی اکسیداسیون اسیدهای چرب آزاد به شمار می‌آیند. افزایش غلظت ٦ فسفات فعالیت آنزیم هگزوکیناز را مهار نموده و باعث کاهش جذب و اکسیداسیون گلوکز می‌گردد(٦). با کاهش میزان اسیدهای چرب متفورمین ترشح نامناسب انسولین را توسط سلول‌های بتای پانکراس بهبود می‌بخشد.

با توجه به کاربرد روز افزون متفورمین در درمان و پیشگیری دیابت در بیماران نوع دو چه بصورت تک درمانی و چه بهمراه سایر داروهای کاهنده خون، تجویز این دارو در کشور ایران نیز مورد توجه شایانی قرار گرفته است. از این رو مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات حفاظتی متفورمین بر گلوکز، پروفایل‌های چربی و فاکتورهای استرس اکسیداتیو سرم در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان انجام گردیده است.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر در مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز انجام و کلیه ملاحظات اخلاقی و پروتکل‌های کار روی حیوانات آزمایشگاهی، مورد تائید کمیته نظارت بر حقوق حیوانات آزمایشگاهی مرکز تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی تبریز بوده است. جهت جلوگیری از سوگرایی(Bias) در تحقیق، مراحل مختلف مطالعه به صورت دوسو کور انجام شد. بدین معنی که، کارآزمایی به نحوی برنامه‌ریزی شد که نه تیمارگر و نه آزمایشگاه، در هیچ یک از مراحل متوجه گروه‌های تخصیص نبودند.

تهیه حیوانات آزمایشگاهی

برای انجام این مطالعه، تعداد ٤٠ سر موش صحرایی نژاد ویستار با وزن تقریبی ۲۰±۲۰۰ گرم که از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز تهیه شده بود، مورد استفاده قرار گرفت. شرایط تغذیه و نگهداری برای تمام گروه‌ها یکسان و به صورت ۱۲ ساعت روشنایی/تاریکی و دمای ۲±۲۱ درجه سانتی گراد در نظر گرفته شد. جیره غذایی استاندارد و آب بطور آزاد در دسترس قرار گرفت.

گروه‌بندی حیوانات و القای دیابت

موش‌ها به طور تصادفی در ٤ گروه ١٠ تایی شامل گروه‌های ١- شاهد سالم (تزریق سرم فیزیولوژی بمنظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق) ٢- دیابتی(تزریق داخل صفاقی آلوکسان) ٣- کنترل متفورمین (گاواژ روزانه ١٥٠ mg/kg/day متفورمین) ٤- دیابتی + متفورمین (تزریق داخل صفاقی آلوکسان و تایید دیابت، سپس گاواژ روزانه ١٥٠ mg/kg/day متفورمین) توزیع شدند. برای دیابتیک کردن موش‌های گروه‌های ٢ و٤، از محلول تازه تهیه شده آلوکسان با دز ١٢٠ mg/kg به‌صورت محلول در آب مقطر (٥٪)، بعد از ١٥ ساعت پرهیز غذایی، به صورت داخل صفاقی به موش‌های گروه‌های دیابتیک تزریق شد. قند خون در محدوده mg/dl ٢٥٠-١٢٠ ، بعنوان دیابتی برای این مطالعه در نظر گرفته شد (٨). از کیت سنجش گلوکزخون و دستگاه گلوکومتر (autoanalyzer: AccuChek Active®) نیز برای سنجش قند خون استفاده گردید. متفورمین با دز ١٥٠ mg/kg/day به صورت خوراکی به رژیم غذایی موش‌های گروه‌های٣ و ٤ افزوده شد. گروه‌های ١ و ٢ نیز توسط جیره غذایی پایه تغذیه شدند. شرایط نگهداری در سایر موارد برای تمامی گروه‌ها یکسان در نظر گرفته شد. پس از ١ ماه از تمامی موش‌ها نمونه خون از سینوس پشت کره چشم جهت اندازه‌گیری برخی فاکتورهای بیوشیمیایی شامل گلوکز، کلسترول، تری گلیسیرید و VLDL C , HDL C , LDL C اخذ گردید. سرم نمونه‌های خون توسط سانتریفیوژ با سرعت ٢٥٠٠ دور در دقیقه و به مدت ١٥ دقیقه در دمای ٣٠ درجه سانتی گراد جدا شد و جهت سنجش میزان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (Cat)، گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)، مالون دی آلدئید (MDA) و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان (TAC) مورد استفاده قرار

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مورد مطالعه و میزان مالون دی آلدئید سرم با استفاده از کیت‌های تجاری در دسترس (Nanjing Jiancheng Bioengineering Institute, Nanjing, China) و طبق دستور العمل شرکت تولید کننده کیت انجام شد. پراکسیداسیون چربی با اندازه گیری غلظت مالون دی آلدئید سنجیده شد. مقدار مالون دی آلدئید سرم و فعالیت آنتی اکسیدانی به صورت واحدهای قراردادی نانومول (nmol) در میلی لیتر سرم عنوان گردید. میزان کاتالاز به صورت شاخص k در گرم هموگلوبین بیان شد و مقادیر سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز بر حسب واحد یونیت (U) در گرم هموگلوبین عنوان گردیده است.

وسایل مورد استفاده

در این مطالعه از سانتریفیوژ مدل بهداد ساخت ایران، اسپکتروفتومتر فارماسیا (Pharmacia) ساخت کشور ایتالیا، اتوآنالیزور Alcyon 300 ساخت کشور امریکا و همچنین کیت‌های آزمایشکاهی رندوکس آلمان (Randox) استفاده شده است.

تجزیه و تحلیل آماری: داده های بدست آمده کمی، به صورت میانگین ± انحراف معیار ارائه شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در بین گروه های مورد مطالعه از آزمون آماری آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی توسط نرم افزار SPSS در سطح معنی‌داری $p<۰/۰۵$ استفاده شده است.

نتایج

در موش‌های گروه ۲ (دیابتی) سطوح سرمی تری گلیسرید، کلسترول، LDL, VLDL در مقایسه با گروه شاهد سالم به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p<۰/۰۰۱$). در گروه ٤ (موش‌های درمان شده با متفورمین)، متفورمین مقادیر افزایش یافته در پارامترهای مذکور را به طور معنی‌دار و تاحد نرمال کاهش داد ($p<۰/۰۰۱$). در موش‌های گروه ۳ (کنترل متفورمین)، متفورمین تغییر معنی‌داری را در پارامترهای مورد مطالعه ایجاد نکرد به جز کلسترول که کاهش معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) نسبت به گروه شاهد سالم داشت (جدول ۱). در گروه ۲ (دیابتی)، HDL کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه شاهد نشان داد و این شاخص در گروه ٤ (درمان شده با متفورمین) تا حد نرمال افزایش یافت ($p<۰/۰۰۱$).

در گروه ۲ (دیابتی) فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پر اکسیداز و همچنین فعالیت تام آنتی اکسیدانی سرم خون در مقایسه با گروه شاهد سالم به طور معنی‌داری کاهش ($p<۰/۰۰۱$) و میزان مالون دی آلدئید خونی که به عنوان مقیاسی از پراکسیداسیون لیپیدی به شمار می‌رود، به طور معنی‌داری افزایش یافته بود ($p<۰/۰۰۱$). در گروه ٤ (موش‌های دیابتی درمان شده با متفورمین)، متفورمین به طور معنی‌داری($p<۰/۰۰۱$) مانع از کاهش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و فعالیت تام آنتی اکسیدانی خون در اثر دیابت شد (جدول ۲). در موش‌های گروه ۳ تغییر معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) در میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پر اکسیداز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان مشاهده شد و متفورمین سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های مذکور شد حتی این افزایش کمی بیشتر از حالت نرمال بود که این دال بر تقویت اثرات آنتی اکسیدانی متفورمین در بیماران دیابتی می‌باشد. در گروه ٤ (دیابتی درمان شده با متفورمین)، میزان مالون دی آلدئید نسبت به گروه دیابتی کاهش معنی‌داری را نشان داد($p<۰/۰۱$) ولی به حد نرمال نرسید (جدول ۲).

در گروه ۲ (دیابتی)، سطح گلوکز خون به طور معنی‌داری ($p<۰/۰۰۱$) در پایان دوره آزمایش افزایش یافت. تجویز ۱ ماه متفورمین خوراکی در گروه ٤ میزان گلوکز خون را نسبت به گروه دیابتی به طور معنی‌داری و تا حد نرمال کاهش داد (جدول ۳).

www.SID.ir

جدول ۱ـ تاثیر متفورمین بر سطوح سرمی پروفایل‌های چربی در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی

گروه‌بندی	TG (mg/dl)	Chol (mg/dl)	LDL (mg/dl)	HDL (mg/dl)	VLDL (mg/dl)
۱- شاهد سالم	٦٤±٩/٤٢	٩٨/٦٠±١٦/	٣٣/٦٠±١٨/٦١	٥١/٦٠±١٣/٠٩	١٢/٨٠±٢/٠٤
۲-دیابتی	**١٢٥/٩٠±١٩/٩٨	**١٢١/٩±٨/٧٦	**٦٤±١٠/١٣	**٣٣±٣/٥٥	**٢٢/٩±٤/٠٩
۳-کنترل متفورمین	٥٧±٣/٤٦	**٧٥/٨±٧/٦١	٢٩/٨±٦/٥١	٥٩/٨±٤/٤٤	١١/٢±٠/٧٨
٤- دیابتی + متفورمین	١٠٢±١٠/٧٧	٨٨/٤±٧/٦٧	٢٨/٤±٤/٤٥	٤٤±٣/٥٢	١٦/٢±٣/٣٥
آنالیز واریانس یکطرفه	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١

** نشانگر اختلاف معنی‌داری ($p<٠/٠٠١$) با گروه شاهد سالم.

* نشانگر اختلاف معنی‌داری ($p<٠/٠١$) با گروه شاهد سالم.

جدول ۲ـ تاثیر متفورمین بر سطوح سرمی پارامتر اکسیداتیو در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی

گروه بندی	Cat (k/gr Hb)	SOD (U/gr Hb)	GPX (U/gr Hb)	MDA (nmol/ml)	TAC (nmol/ml)
۱-شاهد سالم	٦٢/٢±١٤/٤٥	٩٦٢/٢±٨٤/٧	٣٠/٦±٢/١٧	٠/٧١±٠/١٣	٠/٦٦٤±٠/٠٢
۲-دیابتی	**٤٨/٩±٩/٢٧	**٥٥٣/٩±٣٤/٧	**٢٤/٣±٢/٠٥	**١/٩٧±٠/١٦	**٠/٦٠٦±٠/٠٦
۳-کنترل متفورمین	٦٩/٨±٣/٣٥	*١٠٩٧/٤±١٠٩/١	*٣٥/٤±٢/٧٩	٠/٦٣±٠/٢٣	*٠/٧٥٢±٠/١
٤-دیابتی + متفورمین	٦٥/٦±٥/٢٣	٩٧١/٤±٧٧/١	٣٢±٢/٧٤	١/٠٨±٠/٢٣	٠/٦٩٨±٣/٠٣
آنالیز واریانس یکطرفه	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١	P<٠/٠٠١

* نشانگر اختلاف معنی‌داری ($p<٠/٠١$) با گروه شاهد سالم.

** نشانگر اختلاف معنی‌داری ($p<٠/٠٠١$) با گروه شاهد سالم.

جدول ۳ـ تاثیر متفورمین بر سطح سرمی گلوکز در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی

گروه بندی	شاهد سالم	دیابتی	کنترل متفورمین	دیابتی + متفورمین	آنالیز واریانس یکطرفه
گلوکز خون(mg/dl)					
روز صفر	١٠٥±١٠/٤	**١٨٦±٢٥/٤	٩٨±١٢٨	١٢٠±٧/٠١	P<٠/٠٠١
پایان دوره آزمایش	١٠٣±٩٨	**٢٢٨±٣١/٨	٩٦/٨±١٢/١	١٢٠/٢±٩/٠٥	P<٠/٠٠١

مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار برای ۱۰ موش صحرایی در هر گروه ارائه شده است.

* نشانگر اختلاف معنی‌داری ($p<٠/٠١$) با گروه شاهد سالم.

** نشانگر اختلاف معنی‌داری ($p<٠/٠٠١$) با گروه شاهد سالم.

بحث

در این مطالعه، بروز دیابت در موش‌های صحرایی با سنجش میزان گلوکز خون ٤٨ ساعت پس از تزریق تایید شد. به این منظور با استفاده از ماده شیمیایی آلوکسان منوهیدرات، شرایطی مشابه با دیابت نوع ۲ انسانی به صورت آزمایشگاهی در موش‌های صحرایی ایجاد گردید. آلوکسان ماده شیمیایی

Archive of SID

www.SID.ir

هیدروفیل و ناپایدار است و برای ایجاد دیابت در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می شود. طبق بررسی های انجام شده، سمیت اختصاصی آلوکسان برای سلول‌های بتای پانکراسی، به علت جذب سلولی سریع آلوکسان توسط سلول‌های بتای پانکراسی و تولید رادیکالهای آزاد توسط آلوکسان می باشد و به این صورت بر فعالیت‌های سلول مثل عملکرد غشاء، متابولیسم و بیان ژن اثر می‌گذارد و در نتیجه برخی از سلول‌ها ساختار و فعالیتشان را از دست می‌دهند(۱۸). مصرف خوراکی متفورمین با دوز mg/kg ۱۵۰ به مدت ۱ ماه سبب کاهش قند خون در موش‌های صحرایی سالم و دیابتی شده با آلوکسان گردید. متفورمین یک داروی خوراکی متعلق به دسته دارویی بی گوانیدهاست که در درمان دیابت نوع ۲ مورد استفاده قرار میگیرد. این دارو با کاهش تولید گلوکز کبدی از طریق مهار گلوکونئوژنز و افزایش مصرف محیطی گلوکز اثر خود را اعمال می‌کند (۹). تصور می شود که این دارو مقدار و یا قدرت اتصال انسولین به گیرنده غشای سلول، بویژه گیرنده‌های محیطی را افزایش می‌دهد. از آنجا که تنها در حضور انسولین آندروژن موثر می‌باشد، تنها در افرادی موثر است که بخشی از سلول‌های پانکراس آنها سالم باشد. اثر متفورمین بر سلول‌های بتای پانکراس کاملا روشن نشده است اما این دارو سبب بقاء و حفظ سلول‌های بتا می‌گردد. بنابراین ممکن است اثر ناشی از افزایش گلوکز و اسیدهای چرب را خنثی سازد و ترشح انسولین را بهبود بخشد(۷). متفورمین علاوه بر اثرات هایپوگلایسمیک، اثرات آنتی لیپیدمیک خونی هم دارد. در این مطالعه، متفورمین سبب کاهش معنی‌دار در سطح کلسترول سرم، تری گلیسیرید، LDL و VLDL در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان شد که با نتایج یافته‌های افخمی و همکارانش در سال ۱۳۸٦ هم‌خوانی دارد(۱). مکانیسم عملکرد متفورمین بر روی پروفیل لیپیدی با فعال کردن آدنوزین مونوفسفات پروتئین کیناز (AMPK) می باشد که نقش مهمی در سیگنال‌دهی انسولین، تعادل انرژی کل بدن، متابولیسم گلوکز و چربیها دارد. متفورمین AMPK را فعال کرده و آن با فسفوریلاسیون Ser–۷۹ استیل کوآکربوکسیلاز را مهار می‌کند و سطح مالونیل کوآ کاهش می‌یابد و اثر مهار آن بر روی CTP-1 برداشته شده و نیز لیپوژنز مهار می‌گردد(۲۰). از سوی دیگر متفورمین باعث فعال شدن لیپوپروتئین لیپاز شده و لیپوپروتئین VLDL به اسید چرب تجزیه شده و امکان اکسیداسیون اسیدهای چرب را فراهم می‌کند. متفورمین سطح کلسترول را در بیماران دیابتی نیز کاهش می‌دهد. متفورمین AMPK را فعال کرده و AMPK، ۳هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآنزیم A ردوکتاز را که آنزیم سیتوزولی بیوسنتز کلسترول می باشد، فسفریله کرده و آن را مهار می‌کند و در نتیجه بیوسنتز کلسترول کاهش می‌یابد. همچنین AMPK بیوسنتز تری آسیل گلیسرول را در کبد کاهش می‌دهد و موجب کاهش سنتز تری گلیسیرید در بیماران دیابتی می‌گردد(۲۰). تغییرات معنی‌دار در مقادیر آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز و ظرفیت تام آنتی‌اکسیدان در گروه دیابتی حکایت از اثرات تخریبی اکسیداتیو ناشی از دیابت را دارد. در مطالعه ما مصرف خوراکی متفورمین مانع از کاهش مقادیر سرمی پارامترهای بیوشیمیایی مذکور شد و این پارامترها را در حد مطلوبی نگه داشت. همچنین مصرف متفورمین بصورت خوراکی مانع از افزایش مالون دی آلدئید به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی شد. در بررسی حاضر افزایش میزان مالون دی آلدئید سرم و کاهش آنزیم‌های مذکور در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط آلوکسان، نشان می‌دهد که استرس اکسیداتیو ناشی از رادیکالهای آزاد، یکی از مکانیسم‌های احتمالی در پاتوفیزیولوژی دیابت می‌باشد. نقش استرس اکسیداتیو و مداخله گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در پاتوژنز دیابت به اثبات رسیده است(۱٦). سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون پراکسیداز آنزیم‌های آنتی اکسیدانی هستند که سیستمی تدافعی را علیه گونه های فعال اکسیژن (ROS) تشکیل می‌دهند(۱۰). سوپراکسید دیسموتاز آنیون سوپراکسید را ازطریق

www.SID.ir

تبدیل آن به پراکسید هیدروژن زدوده و بدین ترتیب اثرات توکسیک آن را کاهش می‌دهد (۵). در بررسی حاضر، میزان سوپراکسید دیسموتاز در موش‌های دیابتی شده توسط آلوکسان به دلیل تشکیل فراوان آنیون‌های سوپراکسید، به طور معنی‌داری کاهش یافت که درپی آن فعالیت آنزیمهای زداینده پراکسید هیدروژن یعنی کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز نیز در این موش‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافته بود. به نظر می‌رسد که غیرفعال شدن سوپراکسید دیسموتاز توسط آنیون‌های افزایش یافته سوپراکسید، منجر به غیرفعال شدن آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز می‌شود. کاتالاز آنزیم آنتی اکسیدانی است که در بافت‌های حیوانی به طور گسترده‌ای منتشر می‌شود و دارای بیشترین فعالیت در کبد و گلبول‌های قرمز است. کاتالاز، پراکسید هیدروژن را تجزیه می‌کند و باعث محافظت بافت‌ها از رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل می‌شود. بنابراین، کاهش فعالیت کاتالاز ممکن است منجر به برخی اثرات مخرب ناشی از رادیکال سوپراکسید و پراکسید هیدروژن گردد. پر واضح است که اثرات تخریبی دیابت توسط فاکتورهای متعددی ایجاد می‌گردد و لذا تنها از طریق کنترل هیپرگلیسمی و فشار خون قابل پیشگیری نیست. اگر چه در مراحل اولیه بیماری، تغییرات تخریبی دیابتی توسط هیپرگلیسمی القاء می شود، اما آسیب های بعدی به ابقاء هیپرگلیسمی ارتباط ندارد. از اینرو، کنترل گلوکز خون به تنهایی برای به تعویق انداختن روند تخریبی دیابتی کافی نیست. با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، نتیجه می‌شود که متفورمین از لحاظ ترکیب دارویی مناسب به نظر می‌رسد و اینکه این دارو اثرات هایپوگلیسمیک و آنتی لیپیدمیک و آنتی اکسیدانی را دارا می‌باشد می‌توان نتیجه گرفت که تجویز این دارو در افراد چاق دیابتی بسیار مفید واقع گردد. با توجه به مجموعه فوق‌الذکر و مطالعه ارائه شده پیشنهاد می‌گردد دیگر داروهای کاهنده قند خون مورد استفاده در بیماری دیابت نوع ۲ نیز مورد بررسی قرار گیرند و اثرات مقایسه‌ای آنها با متفورمین نیز سنجیده شود که نیاز به مطالعات گسترده‌تری دارد.

فهرست منابع

۱- افخمی اردکانی، م.، معتمدزاده، ع.، رشیدی، م.(۱۳۸٦): بررسی تاثیر متفورمین بر وضعیت لیپیدها و وزن در بیماران دیابتی نوع ۲، مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشت درمانی سبزوار، ۵۱(٤): ۲۰۵-۲۱۰.

2. Baily, C.J., Path, M. and Turner, R.C. (1996): Metformin. The New England Journal of Med. 334(29): 574-579.
3. Cameron, N.E., Gibson, T.M., Nangle, M.R., Cotter, M.A. (2005): Inhibitors of advanced glycation end product formation and neurovascular dysfunction in experimental diabetes, Annual New York Academic Science. 1043:784-792.
4. Cerielo, A., Motz, E., Cavarape, A., Lizzio, S., Russo, A., Quatararo, A., Giugliano, D. (1997): Hyperglycemia counterbalances the antihypertensive effect of glutathione in diabetes patients: evidence linking hypertension and glycemia through the oxidative stress in diabetes mellitus, J Diab Compl. 11:250-255.
5. Curtis, S.J., Mortiz, M., Sondgrass, P.J. (1972): Serum enzyme derived from liver cell fractions. The response of carbon tetrachloride intoxication in rats. Gastroentrology. 62(1):84-92.
6. Dresner, A., Laurent, D., Marcucci, M. and Griffin, M. (1999): Effects of free fatty acids on glucose transport and IRS-1-associated phosphatidylinositol 3-kinase activity. The Journal of Clin. Investigation. 103(2): 253-259.
7. Gunton, J.E., Delhanty. P., Takashashi, S., Baxter, R.C. (2003): Metformin Rapidly Increases Insulin Receptor Activayion in Human Liver and Signals Preferentially Through Insulin-Receptor Sabstrate-2. The Journal Of Clinical Endocrinology & Metabolism. 88(3): 1323-133.
8. Gupta, R.K., Kesari, A.N., Murthy, P.S., Chandra, R., Tandon, V., Watal, G. (2005): Hypoglycemic and antidiabetic effect of ethanolic extract of leaves of Annona squamosa L. in experimental animals. J Ethnopharmacol. 99(1): 75-81.

Archive of SID

www.SID.ir

With Type 2 Diabetes Mellitus. Journal of Clinical Pharmacology. 48:696-707.

10. Ji, L.L., Stantman, F.W., Lardy, H.A. (1988): Antioxidant enzyme systems in rat liver and skeletal muscle. Arch Biochem Biophys. 263(1):150-156.
11. Kalia, K., Sharma, S., Mistry, K. (2004): Non-enzymatic glycosylation of immunoglobulins in diabetic nephropathy, Clinical & Chemical Acta. 347:169-176.
12. Kaneto, H., Katakami, N., Kawamori, D., Miyatsoka, T., Sakamoto, K., Matsuoka, T.A., Matsuhisa, M., Yamasaki, Y. (2007): Involvement of oxidative stress in the pathogenesis of diabetes. Antioxide Redox Signal. 9:355-366. Kirpichnikow, D., MC falane, S.I. and Sowers, J.R. (2002): Metformin: Ann Update. Ann Intern Med. 137: 25-33.
13. Kawai, T., Funae, O., Shimada, A. and Tabata, M. (2008): Effects of pre treatment with Low-dose metformin on metabolic parameter and weight gain by pioglitazon in Japanese patients with type 2 diabetes. Inter. Med. 47: 1181-1188.
14. Kirpichni kow, D., MC falane, S.I. and Sowers, J.R. (2002): Metformin: Ann Update. Ann Intern Med. 137: 25-33.
15. Liu, H.R., Tang, X.Y., Dai, D.Z., Dai, Y. (2008): Ethanol extracts of Rehmannia complex (Di Huang) containing no Corni fructus improve early diabetic nephropathy by combining suppression on the ET-ROS axis with modulate hypoglycemic effect in rats. Journal of Ethnopharmacology. 118(3):466-472.
16. Noyan, T., Balaharoglu, R., Komuroglu, U. (2005): The oxidant and antioxidant effects of 25-hydroxyvitamin D3 in liver, kidney and heart tissues of diabetic rats. Clin Exp Med. 5(1):31-36.
17. Signorini, A.M., Fondelli, C., Renzoni, E., Puccetti, C., Gragnoli, G., Giorgi, G. (2002): Antioxidant effect of gliclazide, glibenclamide and metformin in patients with type 2 diabetes mellitus, Current Therapeutic Research. 63:411–420.
9. Hong, Y., Rohatag, Sh., Hebtemariam, B., Walker, J.R. (2008): Population Exposure-Response Modeling of Metformin in Patients
18. Szkudelski, T. (2001): The mechanism of alloxan and streptozotocin action in Bcells of the rat pancreas. Physiological research. 50: 536-546.
19. Vestra, M.D., Fioretto, P. (2003): Diabetic nephropathy: renal structural studies in type 1 and type 2 diabetic patients, Internatrional Congress Series. 1253: 163–169.
20. Zang, M., Zuccollo, A., Hou, X., Nagata, D., Walsh, K., Herscovitz, H., et al. (2004): The Journal of Biological Chemistry. 279(46):47898-47905.

Archive of SID

www.SID.ir