بررسی تأثیر دفعات تزریق زیرجلدی سالین بر میزان گلوکز خون موش سوری نژاد NMRI

حمید رضا مؤمنی*، افسانه الیاسی§

چکیده

در این پژوهش عواملی همچون با دست گرفتن حیوانات، دریافت سوزن جهت تزریق سالین، گرفتن نمونه‌های خونی از چشم و غیره، به عنوان عوامل استرس‌زا در نظر گرفته شدند.

قبل از تزریق زیر جلدی سالین استریل، به منظور مشخص شدن سطح پایه‌ای گلوکز خون و در فواصل معین بعد از تزریق نمونه‌های خونی سریال از سینوس چشمی Retro orbital sinus موش‌های مورد آزمایش دریافت و سپس میزان گلوکز خون آنها تعیین می‌شد.

تجربیات نشان داد که موش‌های کنترلی که فقط یکبار با دوز ۱۰ml/kg سالین مورد تأثیر قرار گرفته بودند هایپرگلیسمی اندکی را نشان می‌دادند که پس از گذشت حدود ۵ ساعت بعد از تزریق سالین میزان گلوکز خون این موش‌ها تقریبا" به سطح اولیه پیش از تزریق برمی‌گشت. دو بار تزریق سالین به فاصله زمانی ۹۰ دقیقه بطور معنی‌داری هایپرگلیسمی بیشتری را نسبت به گروهی که فقط یکبار مورد تأثیر سالین قرار گرفته بودند نشان می‌داد.

مطالعات نشان می‌دهد که عوامل استرس‌زا سبب تحریک سیستم سمپاتو آدرنال و محور هیپوتالاموس، هیپوفیز و آدرنال شده و بدین ترتیب سبب افزایش سطح کاتکول آمین‌ها و کورتیزول پلاسما می‌گردد و سرانجام این افزایش از طریق مکانیسم‌های مختلف سبب هایپرگلیسمی می‌شود.

گل واژگان: استرس، سالین، کاتکولامین‌ها، کورتیزول، هایپرگلیسمی

مقدمه

کنش متقابل بین یک محرک و ارگانیسم متأثر از آن، استرس نامیده می‌شود. استرس در اثر عوامل مختلف از جمله تحریکات مکانیکی، جراحی، آسیب‌های بافتی، سکته قلبی، هایپوکسی، ترس و غیره ایجاد می‌شود. این تحریکات موجب واکنش سیستم‌های مختلف بدن بخصوص سیستم سمپاتیک شده و با آزاد شدن کاتکول آمین‌ها اثرات متعددی را بر جا می‌گذارد.

گلوکز خون در حالات مختلف استرس بطور نسبی افزایش می‌یابد. گزارش هایی نیز در ارتباط با نقش استرس در ایجاد هایپرگلیسمی در موش

* دانشگاه اراک، گروه زیست شناسی

§ دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه فیزیولوژی

وداورد دانش / سال سوم / شماره دوم / تابستان ۱۳۸۲

Scanned with CamScanner

صحرایی، خرگوش و انسان وجود دارد (۱،۲،۴،۵،۶،۷،۹،۱۰،۱۱،۱۲).

مواد و روش کار

موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی نر با نژاد NMRI از انستیتو پاستور ایران تهیه شدند. این موش‌ها در اتاق حیوانات در حرارت ۲۳ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و دوره‌های نور کنترل شده (۱۲ ساعت روشنایی ۱۲ ساعت تاریکی) در قفس نگهداری می‌شدند. غذا بصورت آماده و آب به اندازه کافی در اختیار موش‌ها قرار می‌گرفت.

موش‌های مورد آزمایش با میانگین وزنی ۲۵ تا ۳۰ گرم در گروه‌های ۸ تایی به دو گروه کنترل و تجربی تقسیم و توسط قفس از اتاق حیوانات به آزمایشگاه انتقال یافته و سپس تجربیات آغاز می‌شدند. در طی مراحل آزمایش حیوانات از غذا محروم بوده (۱۱) ولی آب به مقدار کافی قبل و در طی آزمایش در دسترس حیوانات قرار می‌گرفت. به منظور مشخص شدن سطح پایه‌ای گلوکز خون، ابتدا از موش‌ها نمونه‌های خونی دریافت می‌شد و سپس این موش‌ها توسط تزریق زیر جلدی سالین استریل ۰/۹ درصد تحت تأثیر قرار می‌گرفتند و سپس در فواصل معین (بلافاصله بعد از تزریق) نمونه‌های خونی سریال از موش‌های مورد آزمایش دریافت می‌شد. در مرحله بعد، تزریق دوبار سالین زیر جلدی به فاصله زمانی ۹۰ دقیقه انجام و سپس نمونه‌های خونی دریافت می‌شد.

خون از سینوس چشمی Retro-orbital sinus (۷،۱۱) توسط میکروپی‌پت آغشته به سیترات سدیم ۲٪ قبل از تزریق سالین و همچنین در زمانهای مناسب بعد از تزریق گرفته و تغییرات گلوکز خون تا ۳ ساعت مورد سنجش قرار می‌گرفت. نمونه‌های خون بدست آمده به لوله‌های محتوی تری‌کلرواستیک اسید ۳ درصد انتقال یافته و بدین ترتیب دپروتئینه می‌شدند. لوله‌ها به سانتریفوژ منتقل شده (مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰) و سپس مایع شفاف (صاف شده) بالای رسوب قهوه‌ای رنگ در مجاورت ارتوتولوئیدین به مدت ۱۲ دقیقه در آب جوش قرار می‌گرفتند. بدین ترتیب برای اندازه‌گیری گلوکز خون از محلول صاف شده خون تام استفاده گردید (۳) و مقدار گلوکز موجود در محلول صاف شده به روش ارتوتولوئیدین سنجش می‌شد مقدار رنگ تولید شده در نمونه‌های مورد آزمایش توسط دستگاه اسپکتروفتومتر Shimadzu-uv160 با طول موج ۶۳۰ نانومتر اندازه‌گیری شدند. در این روش آمین‌های حلقوی مانند ارتوتولوئیدین در مجاورت اسید استیک و حرارت با عامل آلدئیدی گلوکز ترکیب شده و تولید گلیکوزیل آمین و بازشیف سبز رنگ می‌کند. مقدار رنگ تولید شده نسبت مستقیم با غلظت گلوکز موجود در نمونه دارد. برای آنالیز داده‌ها از آزمون آنالیز واریانس دو طرفه استفاده شد. نتایج بصورت مرز Mean±SE بیان گردید. در تمام حالات $P<0/05$ جهت تعیین درجه اعتبار نتیجه یا نتایج حاصله از یک آزمایش در نظر گرفته شد.

نتایج

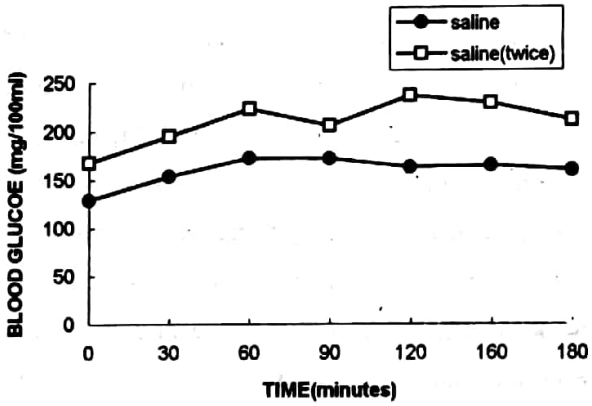
موش‌های کنترلی که فقط یکبار با دوز ۱۰ml/kg سالین مورد تأثیر قرار گرفته بودند هایپرگلیسمی اندکی را نشان می‌دادند که با سطح پایه‌ای (قبل از تزریق) مقایسه می‌شود.

دو بار تزریق سالین با دوز گفته شده به فاصله زمانی ۹۰ دقیقه بطور معنی‌داری هایپرگلیسمی بیشتری را نسبت گروهی که فقط یکبار مورد تأثیر سالین قرار گرفته بودند نشان می‌داد (شکل و جدول).

Scanned with CamScanner

جدول ۱- X±SE و مقدار احتمال معنی‌داری (P.V) میانگین‌های سالین + سالین در مقایسه با سالین

Time (min)	Blood glucose mg/100ml(Mean±SE) Saline(s.c)	Saline+Saline(s.c)	P
0	129±5	168±9	<.01
30	154±9	195±12	<.02
60	172±13	223±13	<.02
90	171±12	205±12	N.S
120	162±10	235±16	<.01
150	163±9	227±23	<.02
180	158±11	209±18	<.05



شکل ۱- تأثیر سالین به تنهایی و تزریق دو بار سالین در تغییرات گلوکز خون موش

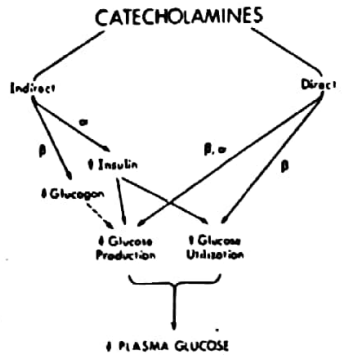
بحث و نتیجه‌گیری

تحقیقات نشان می‌دهد که ارتباط بین هایپرگلیسمی و استرس را می‌توان به افزایش سطح کاتکولامین‌های پلاسما بخصوص اپی‌نفرین و نوراپی نفرین و همچنین کورتیزول و تأثیر آنها بر روی بافتهایی همچون کبد، پانکراس، چربی و ماهیچه نسبت داد (۷،۶،۴).

گزارش‌هایی دال بر اینکه تزریق سالین سبب افزایش سطح نوراپی نفرین و در نتیجه افزایش گلوکز خون می‌شود وجود دارد (۴) همچنین مشخص شده است که انتقال موش‌های سفید بزرگ به محیطهای جدید عامل استرس بشمار می‌آید. این شکل از استرس نیز سبب افزایش اپی‌نفرین، نوراپی نفرین و کورتیزول پلاسما و در نتیجه سبب هایپرگلیسمی در این حیوانات می‌گردد (۶).

احتمالا" عوامل استرس‌زا سبب تحریک سیستم سمپاتوآدرنال و محور هیپوتالاموس، هیپوفیز، آدرنال شده و بدین ترتیب سبب افزایش سطح کاتکولامین‌ها و کورتیزول پلاسما می‌گردد و سرانجام این افزایش از طریق مکانیسمهای مختلف سبب هایپرگلیسمی می‌شود (۶،۷،۵،۴).

نشان داده شده است که کاتکولامین‌های موجود در گردش خون می‌توانند سطوح گلوکز را بطور مستقیم با تحریک گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز کبدی بواسطه مکانیسم آلفا و بتا آدرنرژیکی و همچنین تقلیل مصرف گلوکز بواسطه مکانیسم بتا، آدرنرژیکی و بطور غیر مستقیم توسط دخالت عمل فیدبکی گلوکز بر روی آزاد شدن انسولین و گلوکاگون پانکراس افزایش دهند (۶،۵) مطالعات invivo و invitro بخوبی نشان می‌دهند که کاتکولامین‌ها می‌توانند ترشح انسولین را بواسطه مکانیسم آلفا آدرنرژیکی مهار و ترشح گلوکاگون را از طریق مکانیسم بتا آدرنرژیکی تحریک نماید. بدین ترتیب سطوح گلوکاگون و انسولین در طی حالات استرس نتیجه‌ای است از اثرات متقابل هایپرگلیسمی و کاتکولامین‌ها (۸،۵).



شکل ۲- مدلی برای مکانیسم افزایش غلظت گلوکز پلاسما القا شده بوسیله کاتکولامین‌ها در انسان (۸)

Scanned with CamScanner

REFERENCES

۱- مؤمنی، حمیدرضا-الیاسی، افسانه-حائری روحانی، علی. بررسی اثرات سیستم دوپامینرژیک روی گلوکز خون موش سوری. پنجمین کنفرانس زیست‌شناسی ایران، دانشگاه تبریز، ۱۳۷۵.

2- Arakawa, H., Kodama, H., Stress increases plasma activity in rat: defferential effects of adrenergic and cholinergic blockades, J. Pha. Exp. Ther., 1997, 280(3), 1296-303.

3- Dobowski, K.M., An o-toluidine method for body fluid determination, Clin. Chem., 1962, 10(8), 215-235.

4- Fenske, M., Corticosteroid, catecolamine and glucose plasma levels in rabbits after repeated exposure to a novel environment or administration of ACTH or insulin, Life Scien., 1982, 31, 127-132.

5- Halter, J.B., Beard, J.C., Islet function and stress hyperglycemia: plasma glucose and epinephrine interaction, Am. J. Physiol., 1984, 247, 47-52.

6- Koopmans, S.J., Effect of fasting on plasma catecholamine, corticosterone and glucose concentrations under basal and stress conditions in individual rats, Phys. Beha., 1989, 45, 989-994.

7- Lux, F., Differential effects of subcutaneous and intrathecal morphine administration on blood glucose in mice: Comparison with intracerebroventricular adminstration, J. Pha. Exp. Ther., 1988, 245, 187-193.

8- Rosen, S.G., Direct alpha-adrenergic stimulation of hepatic glucose production in human subjcets, Am. J. Physiol., 1983, 245, 616-626.

9- Sherwin, R.S., Effect of epinephrine on glucose metabolism in human, Contribution of the liver, Am. J. Physiol., 1984, 247, 157-56.

10- Smyth, A., Relationship between brain noradrenergic activity and blood glucose, Nature, 1984, 308, 65-67.

11- Surwit, R.S., Differential glycemic effects of morphine in diabetic and normal mice, Metabolism, 1989, 282-285.

12- Vargas, I., Stress-induced hyperglycemia and hypoinsulinemia are suppressed by sulfonylurea, Predominant role of insulin, Riol.Res., 1994, 27(2), 135-43.

Scanned with CamScanner