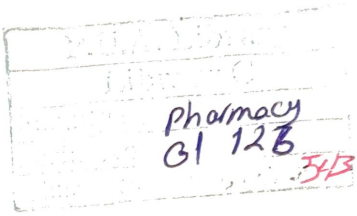
EFFECT OF METFORMIN AND/OR CYSTEINE ON GLYCEMIC CONTROL, LIPID PROFILE AND OXIDATIVE STRESS DEFENSE SYSTEM IN STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES IN RATS

Thesis submitted to Medical Research Institute
University of Alexandria
In partial fulfillment of the requirements for the degree

of

Master



in

Pharmacology and Experimental Therapeutics

By

Mennat Allah Ahmed Ismail Ali
B. Pharm –Ain Shams University-2007

Medical Research Institute
Alexandria University
2012

تمت المناقشة وقبلت الرسالة بامتياز

الـمُـلـخـص العربي

لقد أصبح النوع الثاني من مرض البول السكري أحد الأمراض الوبائية الأكثر انتشارا حول العالم، حيث يبلغ عدد المصابين به ١٥٠ مليون شخصًا على الأقل ومن المتوقع أن يزداد هذا العدد ليصبح ٤٣٩ مليون فى عام ٢٠٣٠. وقد يسبب الاستعداد الوراثي لدى بعد الأشخاص بالاضافة إلى نمط الحياة الغير مستقر حالة من المقاومة لعمل الإنسولين ومن ثم يزداد سوءاً ليصل إلى ضَعف تحمل الجلوكوز وارتفاع مفرط فى سكر الدم، فيظهر النوع الثاني من مرض السكري حيث تعجز خلايا بيتا بالبنكرياس عن الحفاظ على المعدل العالي لإفرازالإنسولين كما كان يتم من قبل.

وتُظهر العديد من الدلائل أن الارتفاع المزمن فى سكر الدم والنسبة العالية من الأحماض الدهنية الحرة الموجودة فى مرضى البول السكري، يتسببان في الضغط التأكسدي والالتهاب، والمعروف مسئولياتهما عن التسبب فى هذا المرض. هذه الحالة من زيادة الضغط التأكسدي والالتهاب لا تنشأ من طريق واحد رئيسي، بل من عدة ممرات والتي تمثل أهدافاً عدة للتدخل العلاجي. وبالتالي، فإن النهج الجديد فى استخدام الأدوية المضادة للأكسدة والأدوية المضادة للالتهابات، قد يكون دلالة على نافذة دوائية مفيدة لعلاج مرض البول السكري. هذا النهج القائم على البيانات السابقة، التي تم الحصول عليها من دراسات أجريت على الإنسان والحيوان، والتي تُبين منها تورط فائض المواد الدهنية والضغط التأكسدي والالتهاب المزمن كأسباب جذرية فى إحداث وتفاقم مقاومة عمل الإنسولين ومرض البول السكري.

وفى ظل هذه الحقائق، تم إجراء هذا البحث لتقييم مدى الضغط التأكسدي والدفاع ضد التأكسد والالتهابات فى ذكور الجرذان المصابة بمرض البول السكري المستحدث بمادة الستربتوزوتوسين والغذاء المحتوى على نسبة مرتفعة من الدهون ولدراسة الفوائد التى تنتج عن استخدام العقار المعروف المدني لسكر الدم المرتفع، الميتفورمين، والحمض الأميني المضاد للأكسدة، السيستيين. وقد صُممت هذه الدراسة أيضًا للكشف عن تأثير عقار الميتفورمين والحمض الأميني السيستيين، معًا أو كلاً على حدة، على ضبط مستوى السكر بالدم ومنظور الدهون، وكذلك قدرتهما على تحسين ظروف الضغط التأكسدي والالتهابات التي توجد فى هذه الحالة.

أجريت هذه الدراسة على ٥٠ جرذا أبيضا من الذكور تراوحت أوزانهم ما بين ١٧٠-٢٠٠ جرام. وقُسمت الجرذان إلى خمس مجموعات، احتوت كل مجموعة على ١٠ جرذان. وقد تناولت كل المجموعات، باستثناء المجموعة الخامسة، غذاء محتوى على نسبة مرتفعة من الدهون لمدة شهرين، وبعدها تم حقنهم بمادة الستربتوزوتوسين بجرعة ١٥مجم/كجم عن طريق الوريد الذنبي. وبعد التأكد من إصابتهم بمرض البول السكري، تم معالجتهم لمدة أسبوعين على النهج التالي:

المجموعة الأولى: جرذان مصابة بالبول السكري، أعُطيت ماء مقطر عن طريق الفم واستُخدمت كمجموعة ضابطة، لم تتلقى أي علاج.

المجموعة الثانية: جرذان مصابة بالبول السكري، أعُطيت هيدروكلورايد الميتفورمين عن طريق الفم بجرعة ٣٠٠ مجم/كجم يوميا والمذاب فى الماء المقطر.

المجموعة الثالثة: جرذان مصابة بالبول السكري، أعُطيت السيستيين عن طريق الفم بجرعة ٣٠٠ مجم/كجم يوميا والمذاب فى الماء المقطر.

المجموعة الرابعة: جرذان مصابة بالبول السكري، أعُطيت هيدروكلورايد الميتفورمين عن طريق الفم بجرعة ٣٠٠ مجم/كجم والسيستيين عن طريق الفم بجرعة ٣٠٠ مجم/كجم معاً يوميا.

المجموعة الخامسة: تناولت غذاء تقليدى واستُخدمت كمجموعة ضابطة غير مصابة بالبول السكري.

بعد أسبوعين من العلاج، ذُبحت الجرذان بعد منعها من تناول الطعام لمدة ١٢ساعة. وتم جمع عينات من الدم، ثم فصلت عينات مصل الدم لتعيين الآتي:

- السكر الصائم
- الإنسولين

- الدهون الثلاثية
- الكوليسترول الكلي
- الكوليسترول ذو البروتينات الدهنية عالية الكثافة
- الكوليسترول ذو البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة
- الأحماض الدهنية الحرة
- البروتين الكيميائي الجاذب للوحيدات-١
- البروتين المتفاعل
- أكسيد النيتريك
- ثم تم حساب النموذج الاستتبابي لتقييم مقاومة الإنسولين والكوليسترول الكلي بدون الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة ونسبة الدهون الثلاثية إلى الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة وذلك باستخدام المعادلات المقابلة لهم.

وعقب جمع عينات الدم مباشرة، تم فصل الكبد وتجنيس عيناته فى المحاليل المناسبة حيث استُخدمت فى تعيين كلاً من:

- تركيز المالون داي الدهايد
- تركيز الجلوتاثيون المختزل
- محتوى البروتين

لقد أسفرت هذه الدراسة عن نتائج مماثلة لما نُشر من معلومات حول زيادة سكر الدم والمعايير الخاصة بمنظور الدهون والضغط التأكسدي ومؤشرات الالتهابات التي تظهر بشكل متزايد فى حالات مرض البول السكري المستحدث تجريبياً.

لقد أسفرت النتائج عن أن مرض البول السكري المستحدث تجريبياً كان مصحوباً بزيادة ذات دلالة احصائية ملحوظة فى معدل الإنسولين الصائم فى مصل دم الجرذان ليؤكد حدوث حالة من المقاومة لعمل الإنسولين والتي جاءت نتيجة لتناول الجرذان لغذاء يحتوى على نسبة دهون مرتفعة لمدة شهرين. وهذه الحالة من المقاومة للانسولين قد اصُطحبت بزيادة ملحوظة فى السكر الصائم بمصل دم الجرذان والتي كانت نتيجة للآثار الضارة لحقن الجرذان بمادة الستربتوزوتوسين. وهذه الحالة تشبه التطور الطبيعي للنوع الثاني من مرض البول السكري فى الإنسان. وقد ارتفعت أيضًا مستويات الدهون الثلاثية، الكوليسترول الكلي، الكوليسترول ذو البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة، الأحماض الدهنية الحرة، الكوليسترول الكلي بدون الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة ونسبة الدهون الثلاثية إلى الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة، هذا بالإضافة إلى الانخفاض الواضح فى مستوى الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة. وتشير هذه النتائج إلى التأثير الضار لارتفاع السكر بالدم ومقاومة عمل الإنسولين فى الأنسجة الدهنية الموجودان فى النوع الثاني لمرض البول السكري.

وقد أسفرت النتائج أيضًا عن أن الإصابة بالنوع الثاني من البول السكري نتج عنه زيادة فى الضغط التأكسدي حيث زاد مستوى المالون داي الدهايد، الذي ينتج عن تأكسد الدهون. وكان ذلك مصحوبا بانخفاض مستوى الجلوتاثيون المختزل بالكبد والذي يعرف بدوره كوقائي مضاد للأكسدة. وبما أن الجلوتاثيون يمثل أكبر مصدر للمكافئات الأحادية فى الخلية، فإن انخفاضه قد يؤثر بشكل واضح على بيئة الأكسدة الخلوية. وكذلك ترتبط النتائج التي أوضحت ارتفاعاً ملحوظاً فى مستوى مؤشرات الالتهاب مثل البروتين الكيميائي الجاذب للوحيدات-١ والبروتين المتفاعل وأكسيد النيتريك بالنظرية التي تؤكد أن الالتهاب يلعب دوراً هاماً وأساسياً فى مقاومة عمل الإنسولين مما يؤدي إلى الإصابة بالنوع الثاني من مرض البول السكري.

وقد أسفرت النتائج أيضًا عن تأثير العلاج بعقار الميتفورمين والذي أحدث انخفاضاً ملحوظاً إحصائياً فى السكر الصائم والإنسولين بمصل دم الجرذان وأحدث تحسناً واضحاً فى مقاومة الإنسولين. وعلاوة على ذلك، فإن عقار الميتفورمين قد أدى إلى انخفاض واضح فى الدهون الثلاثية، الكوليسترول الكلي، الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة، الأحماض الدهنية الحرة، الكوليسترول الكلي بدون الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة

ونسبة الدهون الثلاثية إلى الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة، ذلك بالإضافة إلى إرتفاع واضح فى مستوى الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة.

وتوضح هذا الدراسة أيضاً تأثيرات عقار الميتفورمين المضادة للأكسدة والمضادة للالتهاب والتي أوضحتها قدرة الميتفورمين على خفض مستوى المالون داي الدهايد وزيادة تركيز الجلوتاثيون المختزل فى الكبد، الأمر الذي يعكس قدرته على تحسين التأثير الضار الناتج عن أكسدة الدهون وحالات الضغط التأكسدي التي تصاحب النوع الثانى من مرض البول السكري. هذا بالإضافة إلى قدرته على خفض البروتين الكيميائي الجاذب للوحيدات-١، البروتين المتفاعل وأكسيد النيتريك، والمعروف عنهم قدرتهم على إظهار حالات الالتهاب بوجه عام.

لقد أدى تأثير العلاج بالسيستيين إلى حماية من الضغط التأكسدي والالتهابات ذات دلالة احصائية أكثر وضوحاً من تلك التي نتجت عن عقار الميتفورمين، حيث أن السيستيين قد أحدث انخفاضاً أكبر فى مستوى المالون داي الدهايد وكذلك ارتفاعاً أكبر فى تركيز الجلوتاثيون المختزل فى الكبد، هذا بالإضافة إلى انخفاض أكثر فى البروتين الكيميائي الجاذب للوحيدات-١ والبروتين المتفاعل فى مصل دم الجرذان. إضافة إلى ذلك، إن العلاج بالسيستيين قد نتج عنه تحسينات إضافية فى بعض المعايير الكيميائية الحيوية والتي شملت إنقاص السكر الصائم المرتفع ومستوى الإنسولين بمصل دم الجرذان، الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية منخفضة الكثافة، والأحماض الدهنية الحرة، كما نتج عنه إرتفاع الكوليسترول ذي البروتينات الدهنية عالية الكثافة، ولكن ظل تأثير عقار الميتفورمين على هذه العوامل له دلالة إحصائية أكثر وضوحاً.

ومن المثير للاهتمام، أن تأثير العلاج باستخدام عقار الميتفورمين والسيستيين معاً على كل المعايير التى استُخدمت فى تقييم النوع الثاني من مرض البول السكري، سواء كانت مُقاسة أو محسوبة، كان أقوى وأفضل بكثير من تأثير أي عقار منهما على حدة، مما يؤكد تحفيز كل منهما للأخر. أما بالنسبة لإنقاص الدهون الثلاثية والكولستيرول الكلي، فكان راجعا إلى تأثير الميتفورمين فقط، حيث أن تأثير السيستيين لم يكن ملحوظاً إحصائياً. مع أخذ كل هذا فى الاعتبار، فإن نتائجنا تشير إلى أن زيادة مستوى السكر والإنسولين الصائم بمصل الدم والإضطرابات الضارة التى تحدث فى منظور الدهون، بالإضافة إلى حالة الضغط التأكسدي الزائد والالتهاب الناتجة عن البول السكري قد تحسنت تحسنا ملحوظا إحصائيا بنسبة كبيرة بعد إعطاء عقاري الميتفورمين والسيستيين معًا مقارنة بكل عقار على حدة.

ومن ثم فإن نتائج هذه الدراسة، والتي حصلنا عليها عند إعطاء عقار الميتفورمين والسيستيين معاً، جاءت لتؤكد على الفوائد الناجمة عند استخدام عقار مضاد للأكسدة، له تأثيرات مضادة للالتهاب، كإضافة جديدة للعقاقير المعروفة التي تستخدم المضادة فى علاج النوع الثاني من مرض البول السكري.

وتُعد هذه الدراسة إضافة جديدة إلى المعرفة الحالية عن الإضطرابات التى تحدث فى النوع الثاني من مرض البول السكري وطرق تقييمه. وكذلك توضح هذه الدراسة آلية عمل جديدة لعقار الميتفورمين كمضاد للالتهابات، بالإضافة إلى عمله المعروف فى تخفيض مستوى سكر الدم المرتفع وتحسين منظور الدهون والضغط التأكسدي الزائد فى النوع الثاني من مرض البول السكري.

وكذلك بالنسبة للحمض الأمينى السيستيين، فقد أوضحت هذه الدراسة عمله كمضاد للالتهابات وقدرته على خفض سكر الدم المرتفع وتحسين بعض إضطرابات منظور الدهون فى النوع الثاني من مرض البول السكري، بالإضافة إلى عمله المعروف كمضاد للأكسدة. ويجب أن يمتد البحث فيه إلى مرضى البول السكري بنوعيه الأول والثاني، حيث يمكن استخدام السيستيين كعلاج إضافي لخفض الإجهاد التأكسدي والالتهابات الدموية وكذلك للتقليل من حدة المضاعفات التى تحدث عن هذا المرض، خاصة أمراض القلب والجهاز الدوري.