Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

مقاله پژوهشی

# اثر ویتامین $B_{12}$ بر مدل هیپرگلیسمی حاد ناشی از تزریق کتامین-گزیلازین در موش صحرایی

امیر عرفان‌پرست*[1]، اسماعیل تمدن‌فرد[2]، الهه محمدی[3]، شقایق نعمتی[4]، رقیه محمدی[5]

تاریخ دریافت ۱۳۹۵/۰۹/۰۱ تاریخ پذیرش ۱۳۹۵/۱۰/۰۶

## چکیده

**پیش‌زمینه و هدف:** سیستم عصبی سمپاتیک از طریق گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک و انسولین نقش مرکزی در تنظیم میزان گلوکز خون دارند. از طرف دیگر، ویتامین $B_{12}$ در عملکردهای سیستم عصبی سمپاتیک و انسولین دخالت می‌کند. لذا، در این مطالعه اثر ویتامین $B_{12}$ بر یک مدل هیپرگلیسمی حاد ناشی از کتامین - گزیلازین بررسی گردید. برای آشکار شدن مکانیسم‌های احتمالی اثر ویتامین $B_{12}$، از یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک) و انسولین استفاده شد.

**مواد و روش کار:** تعداد ۶۶ موش صحرایی به ۱۱ گروه تقسیم شدند که در آن‌ها تزریق داخل صفاقی سالین نرمال و مقادیر مختلف ویتامین $B_{12}$، یوهمبین و انسولین ۱۵ دقیقه پس از ایجاد هیپرگلیسمی حاد انجام شد. هیپرگلیسمی حاد با تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) ایجاد گردید. پس از ایجاد هیپرگلسیمی میزان گلوکز خون دم در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ اندازه‌گیری شد. داده‌ها با روش آماری آنالیز واریانس دو طرفه و سپس آزمون توکی تجزیه‌وتحلیل شدند.

**یافته‌ها:** پس از تزریق کتامین - گزیلازین سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. ویتامین B12 ( ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن)، یوهمبین (۱ میلی‌گرم/کیلوگرم وزن بدن) و انسولین (۲ واحد/کیلوگرم وزن بدن) هیپرگلیسمی حاد ناشی از کتامین - گزیلازین را کاهش دادند. تزریقات توأم مقادیر غیر مؤثر ویتامین $B_{12}$، یوهمبین و انسولین به ترتیب در مقادیر ۰/۱۲۵، ۰/۲۵ و ۰/۵، هیپرگلیسمی ناشی از کتامین - گزیلازین را به‌طور معنی‌داری تخفیف دادند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر اثرات کاهش‌دهنده هیپرگلیسمی حاد را برای ویتامین B12، یوهمبین و انسولین نشان دادند. اثرات همکاری در عملکرد آنتی هیپرگلیسمیک ویتامین $B_{12}$ با یوهمبین و انسولین مشاهده شد.

**کلیدواژه‌ها:** ویتامین $B_{12}$، هیپرگلیسمی حاد، کتامین-گزیلازین، انسولین، یوهمبین، موش صحرایی

**مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و هشتم، شماره اول، ص ۳۸-۲۸، فروردین ۱۳۹۶**

**آدرس مکاتبه:** ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، صندوق پستی: ۱۱۷۷-۵۷۱۵۳، تلفن: ۳۲۷۷۰۵۰۸

Email: a.erfanparast@urmia.ac.ir

## مقدمه

ویتامین $B_{12}$، معروف به کوبالامین، یک ویتامین محلول در آب است که در خون‌سازی و عملکرد سیستم‌های عصبی محیطی و مرکزی اهمیت حیاتی دارد (۱). این ویتامین توسط باکتری‌های خاصی در دستگاه گوارش حیوانات ساخته می‌شود (۲). ازآنجایی‌که این ویتامین برای تقسیم سلولی و رشد بافت‌های حیوانی موردنیاز است، بسیاری از بافت‌های حیوانی ذخیره مناسبی از آن را فراهم می‌کنند. لذا به دلیل وجود در منابع غذاهای حیوانی، کمبود شدید ویتامین $B_{12}$ در جمعیت‌های انسانی متداول نیست، بااین‌حال کمبود نسبی آن در رژیم‌های گیاهخواری و کمبود پروتئینی ممکن است

[1] استادیار فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

[2] استاد فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[3] دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[4] دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

[5] دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

رخ دهد (۳). به دلیل عملکردهای بیولوژیکی متنوع، کمبود این ویتامین می‌تواند باعث اختلالاتی در خون‌سازی و عملکرد سیستم‌های عصبی، قلبی- عروقی و متابولیکی شود (۱). ویتامین $B_{12}$ در متابولیسم گلوکز نقش بسیار اساسی دارد. به‌عنوان‌مثال، ویتامین $B_{12}$ به همراه اسیدفولیک بر افزایش گلوکز و کاهش انسولین خون ناشی از نیکوتین در موش صحرائی اثرات جلوگیری کننده داشته‌اند (۴). همچنین، ویتامین‌های گروه B شامل ترکیبی از ویتامین‌های $B_1$، $B_6$ و $B_{12}$ از افزایش میزان گلوکز خون ناشی از دیکلوفناک جلوگیری کرده‌اند (۵).

گلوکز یا قند خون منبع بسیار مهم انرژی برای اکثر فعالیت‌های موجود زنده است و حفظ مقادیر ثابت آن در خون از طریق مکانیسم‌های هومئوستازی مثل مکانیسم‌های عصبی، هورمونی و متابولیکی تنظیم می‌گردد (۶، ۷، ۸). مراکز هیپوتالاموسی مانند هسته ونترومدیال و غیر هیپوتالاموسی مانند آمیگدال در تنظیم مرکزی گلوکز خون نقش دارند (۶). تعدادی از هورمون‌ها شامل انسولین، گلوکاکون، پپتید شبه گلوکاکون ۱ و لپتین در تنظیم گلوکز خون مؤثر هستند (۷). کبد با انجام اعمال متابولیکی مانند گلیکوژنز، گلیکوژنولیز، گلیکولیز و گلوکونئوژنز یک نقش مرکزی در متابولیسم گلوکز دارد (۸). یکی از عملکردهای سیستم عصبی آدرنرژیک تنظیم سطح گلوکز خون می‌باشد که از طریق گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک به انجام می‌رسد (۹، ۱۰). تزریق داخل صفاقی گزیلازین (آگونیست گیرنده‌های آلفا – ۲ آدرنرژیک) موجب افزایش گلوکز خون با کاهش حساسیت یافته نسبت به عملکرد انسولین و برداشت گلوکز در میمون شده است (۱۱). مهار گیرنده‌های آلفا –۲ آدرنرژیک با تزریق داخل صفاقی MK-468 (آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا – ۲ آدرنرژیک) موجب کاهش میزان گلوکز خون و افزایش میزان انسولین خون در موش سفید کوچک آزمایشگاهی شده است (۱۲). هم‌چنین، تزریق داخل صفاقی یوهیمبین (آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا – ۲ آدرنرژیک) از افزایش میزان گلوکز خون ایجادشده توسط استرس بی‌حرکتی جلوگیری کرده است (۱۳).

هیپرگلیسمی یا افزایش سطح گلوکز خون می‌تواند به‌صورت حاد متعاقب استرس و یا به شکل مزمن در دیابت ایجاد می‌شود (۱۴، ۱۵). برای مطالعه مکانیسم‌های درگیر در هیپرگلیسمی حاد از مدل‌های مختلف در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌کنند. به‌عنوان‌مثال، استرس بی‌حرکتی در موش سفید کوچک آزمایشگاهی موجب ایجاد هیپرگلیسمی کوتاه‌مدت شده است (۱۳). تحریک گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک با استفاده از گزیلازین سطح گلوکز خون را برای یک مدت کوتاه افزایش داده است (۱۱). تزریق مخلوطی از کتامین-گزیلازین (در مقداری که باعث القا بیهوشی می‌شود) باعث هیپرگلیسمی شدید در موش‌های صحرایی شده و به‌عنوان مدلی برای بررسی نقش هورمون‌ها و سیستم عصبی سمپاتیک در تنظیم سطح گلوکز خون به کار رفته است (۱۶، ۱۷).

با در نظر گرفتن این موضوع که گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک و انسولین در تنظیم متابولیسم گلوکز نقش دارند (۷، ۹)، و با آگاهی از این مطلب که ویتامین $B_{12}$ هم در عملکرد سیستم عصبی خودمختار تأثیر دارد (۱۸) و هم در آزاد شدن هورمون‌های لوزالمعده و متابولیسم گلوکز دارای نقش می‌باشد (۴)، در این مطالعه اثر تزریق داخل صفاقی ویتامین $B_{12}$ بر هیپرگلیسمی حاد ناشی از کتامین - گزیلازین در موش‌های صحرایی بررسی شده است. برای بررسی مکانیسم احتمالی اثر ویتامین $B_{12}$ بر میزان گلوکز خون، علاوه از استفاده جداگانه از آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک (یوهمبین) و انسولین، از استفاده توأم ویتامین $B_{12}$ با یوهمبین و انسولین بهره گرفته شده است.

## مواد و روش کار

### حیوانات:

در این مطالعه از تعداد ۶۶ سروش صحرایی نر نژاد ویستار با وزن بین ۳۰۰-۲۵۰ گرم استفاده شد. موش‌ها در اتاق پرورش و نگهداری موش‌های صحرایی وابسته به آزمایشگاه فیزیولوژی به تعداد شش سر در هر قفس (به ابعاد ۵۵ × ۴۰ × ۳۰ سانتی‌متر) با دسترسی آزادانه به آب و غذا و دمای محیط ۲۳-۲۱ درجه سانتی‌گراد و چرخه روشنایی - تاریکی ۱۲ ساعت (شروع روشنایی ساعت ۷ و شروع تاریکی ساعت ۱۹) نگهداری شدند. همه آزمایش‌ها بین ساعات ۱۱ تا ۱۵ انجام شدند.

### محلول‌های دارویی:

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

در این مطالعه از پودرهای ویتامین $B_{12}$ و یوهمبین، تهیه‌شده از شرکت دارویی سیگما - آلدریچ آمریکا، انسولین ساخت شرکت اکسیر ایران، کتامین و گزیلازین ساخت شرکت آلفاسان هلند، و سالین نرمال (محلول کلرور سدیم ۰/۹ درصد) استفاده شد. برای تهیه و رقیق نمودن محلول‌های دارویی از سالین نرمال استریل استفاده شد.

**گروه‌های درمانی:**

۶۶ سر موش صحرایی به ۱۱ گروه ۶ تایی تقسیم شدند:

گروه یک سالین نرمال، گروه‌های دو، سه و چهار به ترتیب مقادیر ۰/۱۲۵، ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ویتامین $B_{12}$، گروه‌های پنج و شش مقادیر ۰/۲۵ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن یوهمبین، گروه هفت ویتامین $B_{12}$ در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و یوهمبین در مقدار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌صورت توأم، گروه‌های هشت و نه انسولین در مقدار ۰/۵ و ۲ واحد بر کیلوگرم وزن بدن، گروه ده ویتامین $B_{12}$ در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و انسولین در مقدار ۰/۵ واحد بر کیلوگرم به‌صورت توأم و گروه یازده ویتامین $B_{12}$ در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، انسولین در مقدار ۰/۵ واحد بر کیلوگرم و یوهمبین در مقدار ۰/۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به‌صورت توأم دریافت کردند. در گروه‌های مذکور، تزریق سالین نرمال و داروها ۱۵ دقیقه پس از تزریق مخلوط کتامین-گزیلازین و به‌صورت داخل صفاقی صورت گرفت. در همه گروه‌های موردمطالعه، سی دقیقه قبل از تزریق و در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین، گلوکز خون اندازه‌گیری شد.

**روش ایجاد هیپرگلیسمی حاد:**

برای ایجاد هیپرگلیسمی از روش توصیف‌شده توسط Saha و همکاران استفاده شد (۱۶). به حیوانات، کتامین در مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن و گزیلازین ۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت داخل صفاقی تزریق شد. سی دقیقه قبل از تزریق، و در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین گلوکز خون با دستگاه گلوکز سنج (Elegance-CTX10) اندازه‌گیری شد. برای خون‌گیری با سر سوزن شماره ۳۰ یک ضربه به نوک دم حیوان زده شد و نمونه خون روی نوار دستگاه قرار داده شد. پس از دو بار اندازه‌گیری گلوکز خون، میانگین اندازه‌گیری‌ها نوشته شد.

**محاسبه آماری:**

داده‌های حاصل از این مطالعه توسط برنامه Graph Pad Prism نسخه پنج، آنالیز آماری شد. برای ارزیابی اختلافات معنی‌دار در میان گروه‌های موردمطالعه، تحلیل آنالیز واریانس دوطرفه و به دنبال آن تست توکی بکار گرفته شد. در شکل‌ها همه مقادیر به‌صورت mean ± SEM بیان شدند. مقادیر P کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

**یافته‌ها**

همان‌طور که در نمودارهای ۱ تا ۴ نشان داده شده است، سطح گلوکز خون در دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین- گزیلازین در گروه‌های موردمطالعه تفاوتی نداشت. در گروه دریافت‌کننده سالین نرمال، سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰، و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین- گزیلازین با میزان آن در دقیقه ۳۰ قبل از تزریق اختلاف معنی‌دار نشان داد ($p<0.05$).

تزریق داخل صفاقی ویتامین $B_{12}$ در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن بر هیپرگلیسمی ایجادشده اثر معنی‌داری نداشت. در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین $B_{12}$ در مقادیر ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین - گزیلازین به‌طور معنی‌دار ($P<0.05$) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین کاهش یافت. اثر ویتامین $B_{12}$ (۲ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) در دقیقه ۱۲۰ پس از تزریق کتامین - گزیلازین با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین - گزیلازین اختلاف معنی‌دار نشان نداد (نمودار ۱).

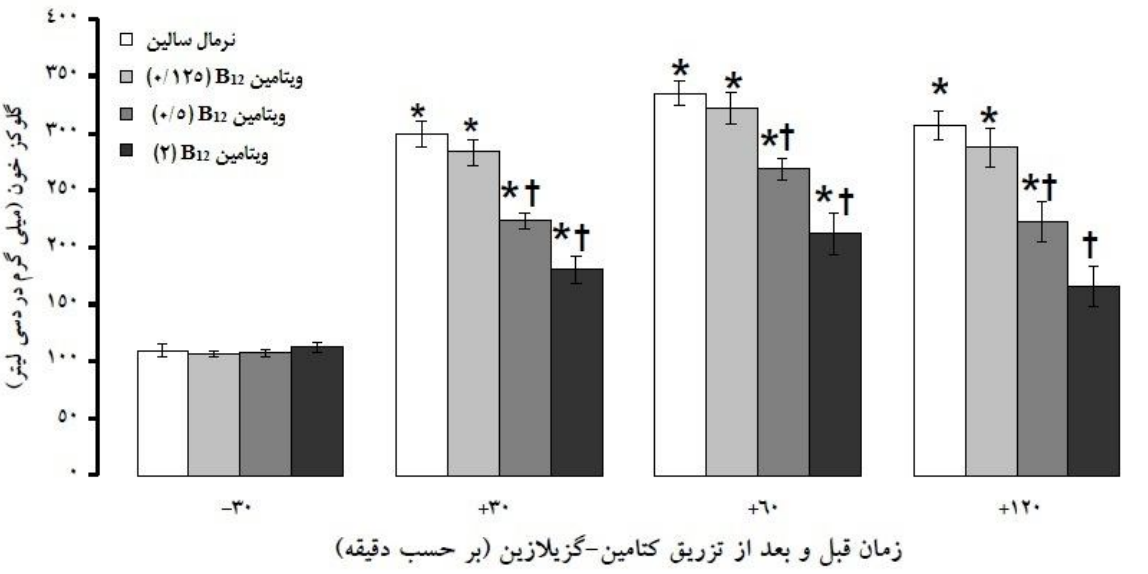
تزریق داخل صفاقی یوهیمبین در مقدار ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی‌داری در هیپرگلیسمی ایجاد نکرد، درحالی‌که در مقدار ۱ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن سطح گلوکز خون را در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق به‌طور معنی‌دار ($P<0.05$) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین کاهش داد و این کاهش با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین-گزیلازین اختلاف معنی‌دار نشان نداد (نمودار ۲ الف). با به‌کارگیری توأم مقادیر غیر مؤثر از ویتامین $B_{12}$ و یوهمبین (به ترتیب ۰/۱۲۵ میلی‌گرم و ۰/۲۵

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) در مقایسه با استفاده به تنهائی ویتامین $B_{12}$ و یوهمبین، هیپرگلیسمی ایجادشده در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین به‌طور معنی‌دار ($P<0.05$) تخفیف یافت ولی به مقدار آن در دقیقه ۳۰ قبل از بیهوشی نرسید (نمودار ۲ ب).

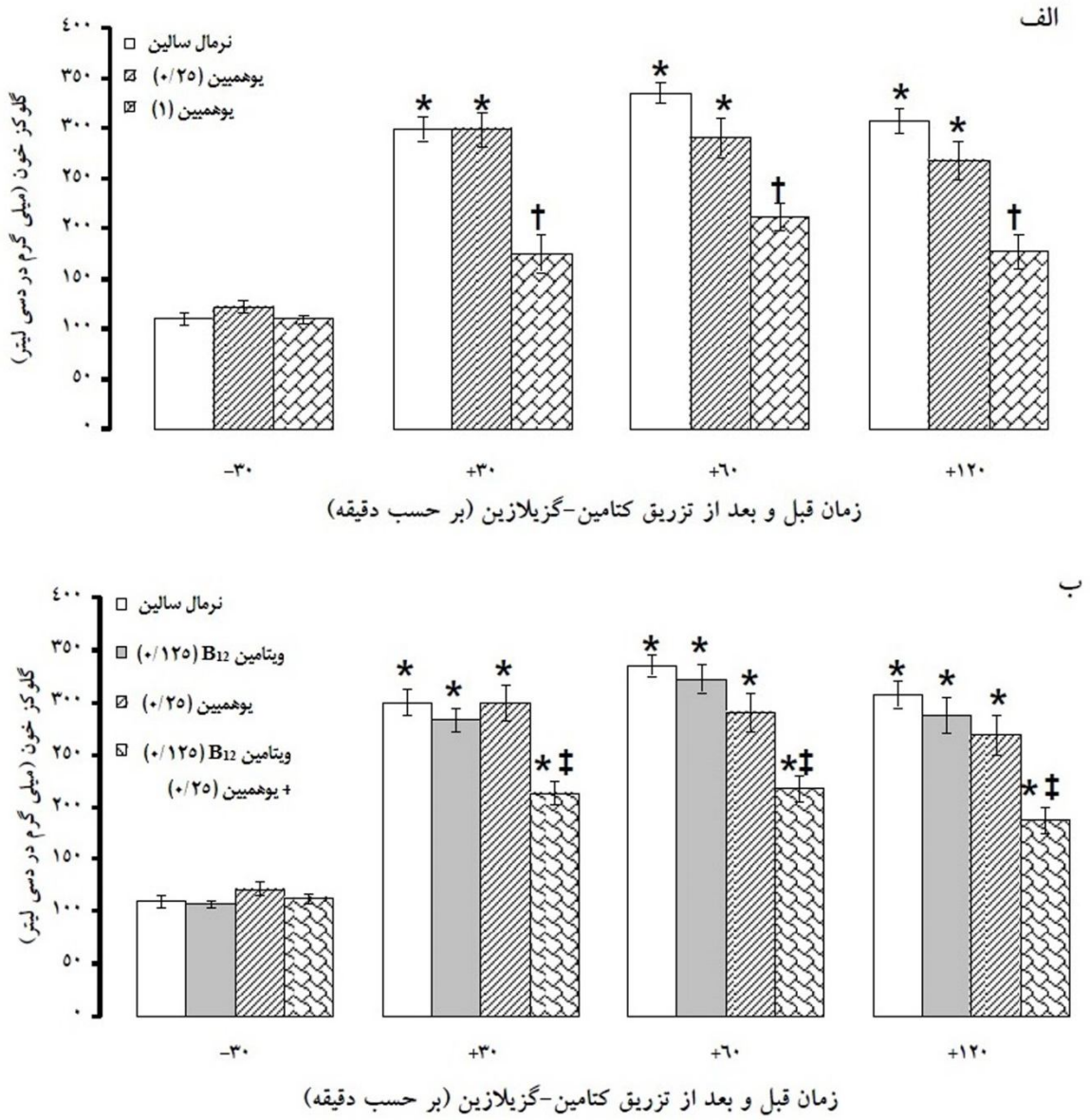
تزریق داخل صفاقی انسولین در مقدار ۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن اثر معنی‌داری ($P<0.05$) در هیپرگلیسمی ایجادشده در دقایق ۳۰، ۶۰، و ۱۲۰ به دنبال تزریق کتامین-گزیلازین نگذاشت، درحالی‌که در مقدار ۲ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن، انسولین سطح گلوکز خون را در موش‌های صحرایی تزریق‌شده با کتامین-گزیلازین در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین به‌طور معنی‌دار ($P<0.05$) کاهش داد. این کاهش با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین-گزیلازین اختلاف معنی‌داری نشان نداد (نمودار ۳ الف). تزریق داخل صفاقی ویتامین $B_{12}$ در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن توأم با انسولین در مقدار ۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن موجب تخفیف معنی‌دار ($P<0.05$) در هیپرگلیسمی ایجادشده در دقایق ۳۰، ۶۰، و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین در مقایسه با گروه‌های دریافت‌کننده سالین نرمال و استفاده به تنهائی ۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن از ویتامین $B_{12}$ و ۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن از انسولین شد، و با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین-گزیلازین اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) نشان داد (نمودار ۳ ب).

تزریق توأم مقادیر غیر مؤثر انسولین (۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن)، یوهمبین (۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و ویتامین $B_{12}$ (۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) موجب کاهش معنی‌دار ($P<0.05$) هیپرگلیسمی ناشی از تزریق کتامین-گزیلازین در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ شد. این کاهش در حدی بود که با میزان گلوکز خون در دقیقه ۳۰ قبل از تزریق اختلاف معنی‌دار نشان نداد (نمودار ۴).



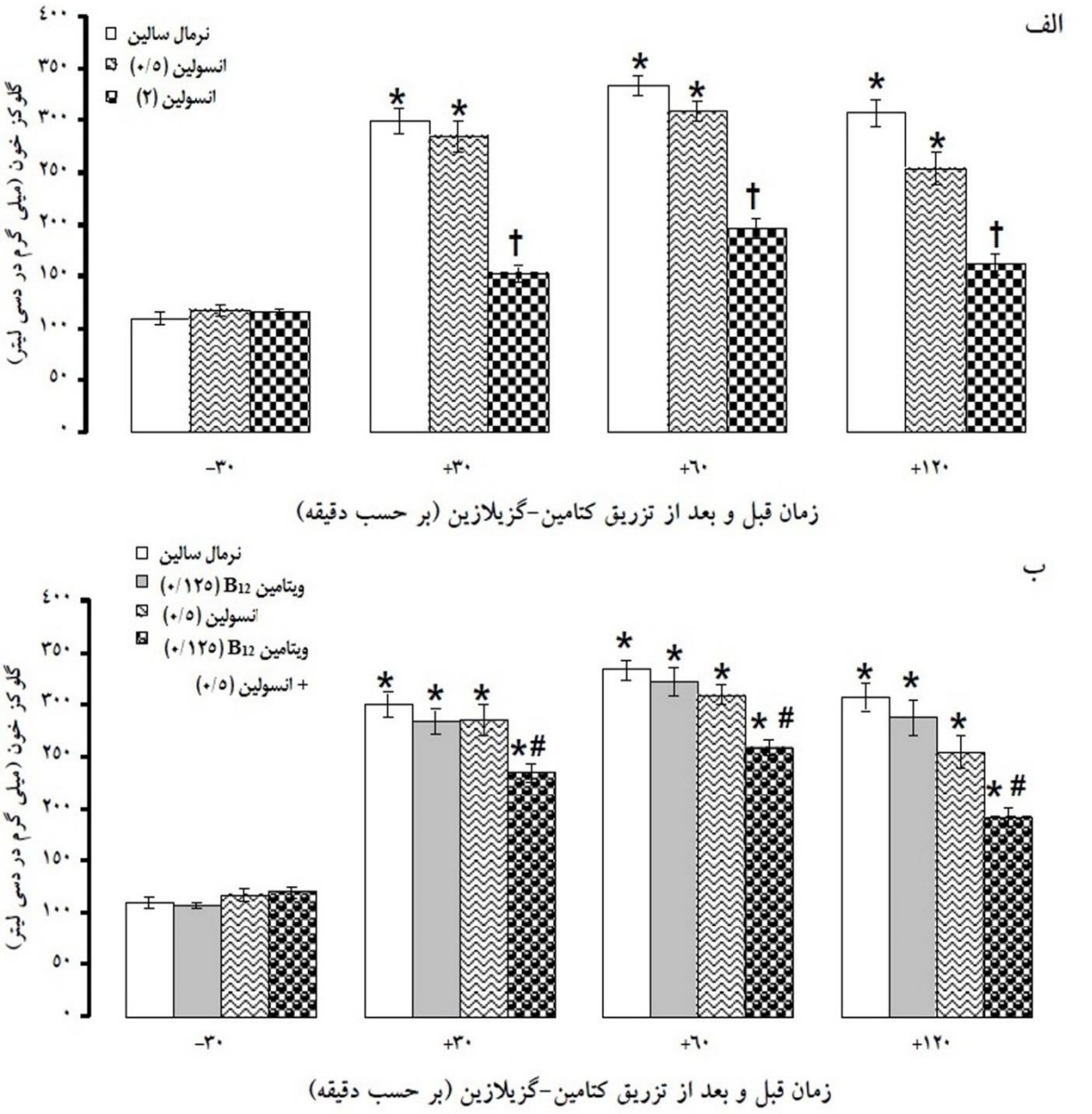

**نمودار (۱):** اثر ویتامین $B_{12}$ بر هیپرگلیسمی ناشی از تزریق داخل صفاقی کتامین – گزیلازین موش صحرائی. بررسی تغییرات سطح گلوکز خون در موش‌های صحرائی بی‌هوش تزریق‌شده با سالین نرمال و ویتامین $B_{12}$ به روش داخل صفاقی. داده‌ها به‌صورت mean ± standard error of mean بیان شده‌اند. تعداد حیوان در هر گروه: شش سر موش صحرائی. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. تزریق داخل صفاقی سالین نرمال و ویتامین $B_{12}$، ۱۵ دقیقه پس از تزریق کتامین-گزیلازین انجام شد. علامت (*) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با قبل (دقیقه ۳۰-) از تزریق کتامین - گزیلازین نشان می‌دهد. علامت (†) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) با گروه دریافت‌کننده سالین نرمال را در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ نشان می‌دهد. مقادیر ویتامین $B_{12}$ برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018



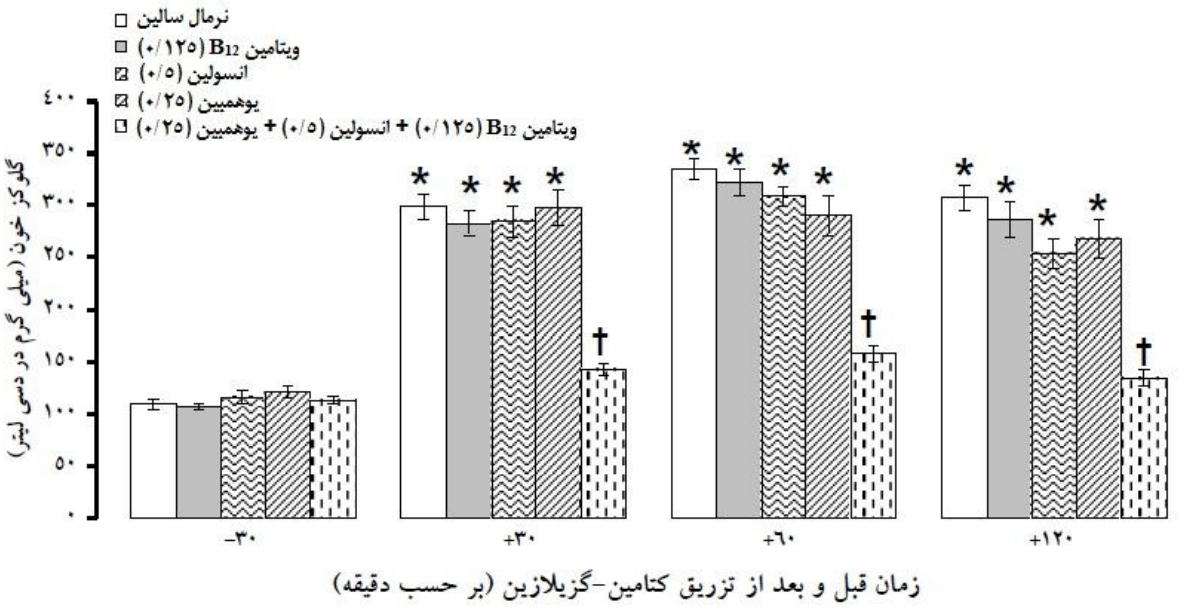

**نمودار (۲):** اثر تزریق داخل صفاقی یوهمبین (الف) و تزریق توأم ویتامین $B_{12}$ و یوهمبین (ب) بر هیپرگلیسمی ناشی از کتامین – گزیلازین در موش صحرائی. داده‌ها به‌صورت mean ± standard error of mean بیان شده‌اند. تعداد حیوان در هر گروه: شش سر موش صحرائی. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. تزریق داخل صفاقی $B_{12}$ و یوهمبین ۱۵ دقیقه پس از تزریق کتامین-گزیلازین انجام شد. علامت (*) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با قبل (دقیقه ۳۰-) از تزریق کتامین - گزیلازین نشان می‌دهد. علامت (†) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با گروه دریافت‌کننده سالین نرمال نشان می‌دهد. علامت (‡) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با گروه‌های دریافت‌کننده به‌تنهایی ویتامین $B_{12}$ (۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و به‌تنهایی یوهمبین (۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) نشان می‌دهد. مقادیر یوهمبین و ویتامین $B_{12}$ برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018




**نمودار (۳):** اثر تزریق داخل صفاقی انسولین (الف) و تزریق توأم ویتامین $B_{12}$ و انسولین (ب) بر هیپرگلیسمی ناشی از کتامین – گزیلازین در موش صحرائی. داده‌ها به‌صورت mean ± standard error of mean بیان شده‌اند. تعداد حیوان در هر گروه: شش سر موش صحرائی. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. تزریق داخل صفاقی انسولین و یوهمبین ۱۵ دقیقه پس از تزریق کتامین-گزیلازین انجام شد. علامت (*) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با قبل از تزریق (دقیقه ۳۰-) کتامین - گزیلازین نشان می‌دهد. علامت (†) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با گروه دریافت‌کننده سالین نشان می‌دهد. علامت (# ) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با گروه‌های دریافت‌کننده به‌تنهایی ویتامین $B_{12}$ (۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و به‌تنهایی انسولین (۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن) نشان می‌دهد. مقادیر ویتامین $B_{12}$ برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و انسولین برحسب واحد بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018




**نمودار (۴):** اثر تزریق داخل صفاقی توأم ویتامین $B_{12}$، انسولین و یوهمبین بر هیپرگلیسمی ناشی از کتامین – گزیلازین در موش صحرائی. داده‌ها به‌صورت mean ± standard error of mean بیان شده‌اند. تعداد حیوان در هر گروه: شش سر موش صحرائی. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق داخل صفاقی کتامین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. تزریق داخل صفاقی ویتامین $B_{12}$، انسولین و یوهمبین ۱۵ دقیقه پس از تزریق کتامین-گزیلازین انجام شد. علامت (*) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با قبل (دقیقه ۳۰-) از تزریق کتامین - گزیلازین نشان می‌دهد. علامت (†) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ($p<0.05$) را با گروه‌های دریافت‌کننده به تنهائی ویتامین $B_{12}$ (۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن)، به تنهائی انسولین (۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن) و به تنهائی یوهمبین (۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) نشان می‌دهد. مقادیر ویتامین $B_{12}$ و یوهمبین برحسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و انسولین برحسب واحد بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق داخل صفاقی کتامین- گزیلازین در مقایسه با قبل (دقیقه ۳۰-) از تزریق کتامین-گزیلازین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. کتامین عموماً به‌عنوان یک داروی تسکین‌دهنده، بی‌هوش کننده سریع الاثر و یک ماده ضد درد شناخته شده است و مکانیسم اثر اصلی آن بر روی گیرنده گلوتامات، نوروترنسمیتر تحریکی عمده در مغز، است. کتامین آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA، یکی از سه گیرنده گلوتامات می‌باشد (۱۹). استفاده به تنهائی از کتامین برای ایجاد بیهوشی و تسکینی با یک سری اثرات جانبی ازجمله سفتی عضلانی و لرزش همراه بوده و برای کاهش این اثرات جانبی از میدازولام، یک داروی شل کننده عضلانی استفاده شده است (۲۰). گزیلازین، آگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک، به علت اثرات آرام بخشی و شل کنندگی عضلانی همراه داروهای بی هوشی نظیر کتامین و ایزوفلوران در حیوانات آزمایشگاهی مورد مصرف قرار می‌گیرد (۱۶، ۱۷). در این رابطه، استفاده از گزیلازین در ترکیب با کتامین باعث افزایش غلظت گلوکز پلاسما و کاهش سطح انسولین در موش صحرایی شده است و به‌عنوان مدلی برای بررسی مکانیسم‌های عصبی و هورمونی دخیل در تنظیم سطح گلوکز خون معرفی شده است (۱۶).

در مطالعه حاضر، یوهمبین میزان هیپرگلیسمی ناشی از کتامین و گزیلازین را در موش‌های صحرایی کاهش داد. این موضوع نشان می‌دهد که گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک در تنظیم سطح گلوکز خون نقش دارند. یوهمبین یک آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک می‌باشد و در مدل‌های مختلف ایجاد کننده هیپرگلیسمی اثر مهاری ایجاد می‌کند. تزریق داخل صفاقی، داخل

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

نخاعی و داخل بطنی مغزی یوهمبین هیپرگلیسمی ناشی از استرس بی‌حرکتی را مهار نموده است و پیشنهاد کرده‌اند که گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک محیطی، نخاعی و مغزی در تنظیم گلوکز خون نقش دارند (۱۳). همچنین، تزریق داخل نخاعی اینترلوکین-۱ بتا موجب افزایش میزان گلوکز خون برای مدت یک ساعت شد و تزریق یوهمبین هیپرگلیسمی مذکور را تخفیف داد (۲۱).

در این مطالعه، ویتامین $B_{12}$ میزان هیپرگلیسمی ناشی از کتامین-گزیلازین را در موش‌های صحرایی کاهش داد. به‌علاوه، بکار بردن توأم وینامین $B_{12}$ با یوهمبین اثر هیپرگلیسمی کتامین – گزیلازین را کاهش داد. این موضوع نشان‌دهنده همکاری بین ویتامین $B_{12}$ و گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک در تنظیم گلوکز خون است. اگرچه گزارشی درمورد همکاری بین ویتامین $B_{12}$ و گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک ارائه نشده است، نقش این ویتامین در عملکرد سیستم عصبی سمپاتیک تا حدودی مشخص شده است (۱۸). در مدل ایست قلبی ناشی از سیانید در خوک، تجویز هیدورکسوکوبالامین (یکی از مشتقات ویتامین $B_{12}$) به‌طور مشابه با اپی نفرین موجب بهبودی فشار خون، pH خون و مقادیر لاکتات و سیانید خون شد و همچنین مقدار مصرف اپی نفرین برای نجات را کاهش داد (۲۲). در کمبود ویتامین $B_{12}$، نه تنها ضایعات سیستم عصبی ارادی، بلکه آسیب در سیستم عصبی سمپاتیک نیز گزارش شده است و معتقدند که در کمبود ویتامین $B_{12}$ عملکرد سیستم سمپاتیک و حتی آزاد شدن کاتکول آمین‌ها کاهش می‌یابد (۱۸).

در این مطالعه، انسولین میزان هیپرگلیسمی ناشی از کتامین و گزیلازین را در موش‌های صحرایی کاهش داد. انسولین از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده ترشح می‌شود و یک نقش مرکزی در تنظیم گلوکز خون دارد (۷). مشخص شده است که گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک با مهار ترشح انسولین از سلول‌های بتا و کاهش برون‌ده سمپاتوآدرنال در تنظیم گلوکز خون نقش دارند (۹). تزریق داخل عضلانی گزیلازین به دلایل کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین و کاهش برداشت گلوکز موجب افزایش میزان گلوکز خون شده است (۱۱). هم دکسمدتومیدین وهم مدتومیدین، آگونیست های گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک، از طریق پروتئین‌های G حساس به سم پرتوزیس و با فعال کردن کانال‌های پتاسیمی دریچه دار حساس به ولتاژ و مهار کانال‌های کلسیمی موجب مهار ترشح انسولین از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس لوزالمعده موش صحرائی شده‌اند (۲۳). اگرچه در مطالعه حاضر میزان انسولین اندازه‌گیری نشده است ولی اصلاح هیپرگلیسمی ناشی از کتامین-گزیلازین به‌وسیله افزایش دادن انسولین خون با تزریق انسولین برون زاد نشان می‌دهد که بین سیستم آلفا-۲ آدرنرزیک و انسولین در تنظیم میزان گلوکز خون ارتباط وجود دارد.

در مطالعه حاضر تجویز توأم ویتامین $B_{12}$ و انسولین نیز اثر کاهش دهنده بر هیپرگلیسمی ناشی از کتامین - گزیلازین ایجاد کرد. مشخص شده است که بین مقادیر کم ویتامین $B_{12}$ خون با هم چاقی و هم افزایش حساسیت به انسولین در مادران آبستن غیر دیابتی ارتباط وجود دارد (۲۴). ویتامین $B_{12}$ باعث حفظ فعالیت بیولوژیکی انسولین می‌گردد و این عمل را با در معرض گذاشتن بیشتر گیرنده‌های انسولین در سطح سلول انجام می‌دهد (۲۵). گزارش شده است که تجویز دهانی توأم ویتامین $B_{12}$ و انسولین موجب کاهش معنی‌دار میزان گلوکز خون در موش صحرایی مبتلا به دیابت تجربی با استربتوزوتوسین می‌شود و پیشنهاد شده‌است که این ویتامین به‌عنوان حامل انسولین می‌تواند عمل کند (۲۶). بنابراین بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر به نظر می‌رسد که بین ویتامین $B_{12}$ و انسولین در کاهش دادن میزان گلوکز خون در هیپرگلیسمی ناشی از کتامین-گزیلازین یک تداخل عمل وجود داشته باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که تجویز توأم مقادیر غیرموثر ویتامین $B_{12}$، انسولین و یوهمبین موجب کاهش معنی‌دار هیپرگلیسمی شد. این اثر کاهش دهنده، مشابه اثرات تجویز به‌تنهایی انسولین، ویتامین $B_{12}$ و یوهمبین در مقادیر بالا می‌باشد. این موضوع نشان‌دهنده همکاری عملکردی بین ویتامین $B_{12}$، انسولین و سیستم آدرنرژیک در تنظیم گلوکز خون می‌باشد. با توجه به این که بین ویتامین $B_{12}$ و سیستم آدرنرژیک و همچنین بین ویتامین $B_{12}$ و انسولین ارتباط عملکردی وجود دارد (۱۸، ۲۴، ۲۵)، می‌توان نقش این ویتامین را در همکاری با سیستم‌های آدرنرژیک و انسولین در تنظیم میزان گلوکزخون مطرح نمود که برای رسیدن به این هدف نیاز به تحقیقات گسترده وجود دارد.

به‌طور کلی، نتایج مطالعه حاضر نشان دادند که کتامین-گزیلازین موجب هیپرگلیسمی حاد می‌شود و استفاده به تنهائی و

توأم ویتامین $B_{12}$، یوهمبین و انسولین هیپرگلیسمی ناشی از کتامین-گزیلازین را اصلاح می‌کند. به‌عبارت‌دیگر، بین ویتامین $B_{12}$، سیستم سمپاتیک و انسولین در ارتباط با تنظیم گلوکز خون ارتباط عملکردی وجود دارد.

## References:

1. Shipton MJ, Tachil J. Vitamin B12 deficiency-A 21st century perspective. Clin Med (Lond) 2015; 15(2): 145-50.
2. Fang H, Kang J, Zhang D. Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives. Microb Cell Fact 2017; 16(1): 15.
3. Rizzo G, Lagana AS, Rapisarda AM, La Ferrera GM, Buscema M, Rossetti P, et al. Vitamin B12 among vegetarians: status, assessment and supplementation. Nutrients 2016; 8(12): 767.
4. Bhattacharjee A, Prasad SK, Pal S, Maji B, Syamal AK, Mukherjee S. Synergistic protective effect of folic acid and vitamin B12 against nicotin-induced oxidative stress and apoptosis in pancreatic islets of the rat. Pharm Biol 2016; 54(3): 433-44.
5. Abdulmajeed NA, Alnahdi HS, Ayas NO, Mohamed AM. Amelioration of cardiotoxic impacts of diclofenac sodium by vitamin B complex. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2015; 19(4): 671-81.
6. Diepenbroek C, Serlie MJ, Fliers E, Kalsbeek A, Fleur SE. Brain areas and pathways in the regulation of glucose metabolism. Biofactors 2013; 39(5): 505-13.
7. Röder PV, Wu B, Liu Y, Han W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. Exp Mol Med 2016; 48(3): e219.
8. Han SH, Kang G, Kim JS, Choi BH, Koo SH. Regulation of glucose metabolism from a liver-centric perspective. Exp Mol Med 2016; 48(3): e218.
9. Fagerholm V, Haaparanta M, Scheinin M. α2-adrenoceptor regulation of blood glucose homeostasis. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2011; 108(6):365-70.
10. Boyda HN, Procyshyn RM, Pang CC, Barr AM. Peripheral adrenoceptors: the impetus behind glucose dysregulation and insulin resistance. J Neuroendocrinol 2013; 25(3): 217-28.
11. Xiao YF, Wang B, Wang X, Du F, Benzinou M, Wang YX. Xylazine-induced reduction of tissue sensitivity to insulin leads to acute hyperglycemia in diabetic and normoglycemic monkeys. BMC anesthesiol 2013; 13(1): 33.
12. Ruohonen ST, Ranta-Panula V, Bastman S, Chrusciel P, Scheinin M, Streng T. Potentiation of glybenclamide hypoglycemia in mice by MK-467, aperipherally acting α2-adrenergic antagonist. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2015; 117(6): 392-408.
13. Kang YJ, Sim YB, Park SH, Sharma N, Suh HW. Involvement of α2-adrenergic receptor in the regulation of the blood glucose level induced by immobilization stress. Arch Pharm Res 2015; 38(5): 921-9.
14. Harp JB, Yancopoulos GD, Gromada J. Glucagon orchestrates stress-induced hyperglycemia. Diabetes Obes Metab 2016; 18(7): 643-53.
15. Stefano GB, Challenger S, Kream RM. Hyperglycemia-associated alterations in cellular signaling and dysregulated mitochondrial bioenergetics in human metabolic disorders. Eur J Nutr 2016; 55(8): 2339-45.
16. Saha JK, Xia J, Grondin JM, Engle SK, Jakubowski JA. Acute hyperglycemia induced by ketamine/xylazine anesthesia in rats: mechanisms and implications for preclinical models. Exp Biol Med (Maywood) 2005; 230(10):777-84.
17. Saha JK, Xia J, Engle SK, Chen YF, Glaesner W, Jakubowski JA. A model of controlled acute hyperglycemia in rats: Effects of insulin and

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

glucagon-like peptide-1 analog. J Pharmacol Exp Ther 2006; 316(3): 1159-64.

18. Rehman HU. Vitamin B12 deficiency causing night sweats. Scott Med J 2014; 59(4): e8-11.
19. Morgan CJ, Curran HV. Ketamine use: a review. Addiction 2012; 107(1): 27-38.
20. Vien A, Chhabra N. Ketamine-induced muscle rigidity during procedural sedation mitigated by intravenous midazolam. Am J Emerg Med 2017; 35(1): 200.e-200.e4.
21. Sim YB, Park SH, Kang YJ, Jung JS, Ryu OH, Choi MG, Suh HW. Interleukin-1β (IL-1β) increases pain behavior and the blood glucose level: possible involvement of sympathetic nervous system. Pharmacol Biochem Behav 2012; 102(1): 170-6.
22. Bebarta VS, Pitotti RL, Dixon PS, Valtier S, Esquivel L, Bush A, Little CM. Hydroxocobalamin and epinephrine both improve survival in a swine model of cyanide-induced cardiac arrest. Ann Emerg Med 2012; 60(4): 415-22.
23. Kodera SY, Yoshida M, Dezaki K, Yada T, Murayama T, Kawakami M, Kakei M. Inhibition of insulin secretion from rat pancreatic islets by dexmedetomidine and medetomidine, two sedatives frequently used in clinical settings. Endocr J 2013; 60(3): 337-46.
24. Knight BA, Shields BM, Brook A, Hill A, Bhat DS, Hattersley AT, Yajnik CS. Lower circulating B12 is associated with higher obesity and insulin resistance during pregnancy in a non-diabetic white British population. PloS One 2015; 10(8): e0135268.
25. Petrus AK, Allis DG, Smith RP, Fairchild TJ, Doyle RP. Exploring the implications of vitamin B12 conjugation to insulin on insulin receptor binding. Chem Med Chem 2009; 4(3):421-6.
26. Petrus AK, Vortherms AR, Fairchild TJ, Doyle RP. Vitamin B12 as a carrier for the oral delivery of insulin. Chem Med Chem 2007; 2(12):1717-21.

Original Article

# THE EFFECT OF VITAMIN B12 ON ACUTE MODEL OF HYPERGLYSEMIA INDUCED BY KETAMINE-XYLAZINE IN RATS

*Amir Erfanparast[1]*, Esmaeal Tamaddonfard[2], Elahe Mohammadi[3], Shaghayegh Nemati[4], Roghyaeh Mohammadi[5]*

***Received: 22 Nov, 2016; Accepted: 27 Dec, 2016***

Downloaded from umj.umsu.ac.ir at 5:27 +0430 on Wednesday April 25th 2018

## Abstract

***Background & Aims***: Sympathetic nervous system thorough α-2 adrenoceptors and insulin have principal roles in blood glucose regulation. On the other hand, vitamin B12 participates in sympathetic system and insulin functions. In this study, the effect of vitamin B12 on acute hyperglycemia induced by ketamine-xylazine was investigated. In order to clarify the possible mechanism of the effect of vitamin B12, we used yohimbine (an α2-adrenergic receptor antagonist) and insulin.

***Materials & Methods***: Sixty-six rats were divided into 11 experimental groups and were injected intraperitoneally with normal saline, vitamin B12, yohimbine and insulin 15 min. after acute hyperglycemia induction. Acute hyperglycemia was induced with intraperitoneal injection of a mixture of ketamine (100 mg/kg) and xylazine (10 mg/kg). The tail blood glucose levels were measured at 30, 60, and 120 min. after hyperglycemia induction. Data were analyzed using two-way ANOVA followed by Tukey's test.

***Results***: Blood glucose levels were significantly ($P<0.05$) increased at 30, 60, and 120 minutes after ketamine-xylazine injection. Vitamin B12 (0.5 and 2 mg/kg), yohimbine (1 mg/kg) and insulin (2 IU/kg) decreased the acute hyperglycemia induced by ketamine-xylazine. Furthermore, co-administration of ineffective doses of vitamin B12 (0.125 mg/kg), yohimbine (0.5 mg/kg), and insulin (0.5 IU/kg) significantly reduced the hyperglycemia.

Conclusion: The results of the present study showed that vitamin B12, yohimbine and insulin decreased acute hyperglycemia. Synergistic effects were observed between vitamin B12 with yohimbine and insulin in reducing the hyperglycemia.

***Keywords***: Vitamin B12, Acute hyperglycemia, Ketamin-Xylazine, Yohimbine, Insulin, Rats

Address: Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran

***Tel***: +98 44 31942617

***Email:*** a.erfanparast@urmia.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2017: 28(1): 38 ISSN: 1027-3727

[1] *Assistant Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran* (Corresponding Author)

[2] *Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran*

[3] *DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran*

[4] *DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran*

[5] *DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran*