

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

امیر عرفان پرست<sup>\*</sup>, اسماعیل تمدن فرد<sup>۲</sup>, الهه محمدی<sup>۳</sup>, شقایق نعمتی<sup>۴</sup>, رقیه محمدی<sup>۵</sup>

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

### چکیده

**پیش زمینه 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 کتابنین - گزیلازین بررسی گردید. برای آشکار شدن مکانیسم‌های احتمالی اثر ویتامین  $B_{12}$ ، از یوهمبین (آتاگونیست 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 کتابنین (۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) ایجاد گردید. پس از ایجاد هیپرگلیسمی میزان گلوکز خون دم در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ اندازه‌گیری شد. داده‌ها با روش آماری آنالیز واریانس دو طرفه و سپس آزمون توکی تجزیه و تحلیل شدند.

**یافته‌ها:** پس از تزریق کتابنین - گزیلازین سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ به طور معنی‌داری افزایش یافت. ویتامین  $B_{12}$  (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 کتابنین - گزیلازین را کاهش دادند. تزریقات تواأم مقادیر غیر مؤثر ویتامین  $B_{12}$ ، یوهمبین و انسولین به ترتیب در مقادیر ۰/۱۲۵، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۵، هیپرگلیسمی ناشی از کتابنین - گزیلازین را به طور معنی‌داری تخفیف دادند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج مطالعه حاضر اثرات کاهش دهنده هیپرگلیسمی حاد را برای ویتامین  $B_{12}$ ، 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، کتابنین-گزیلازین، انسولین، یوهمبین، موش صحرایی

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

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم پایه، صندوق پستی: ۵۷۱۵۳-۱۱۷۷، تلفن: ۰۵۷۰۰۵۰۸-۳۲۷۷۰

Email: a.erfanparast@urmia.ac.ir

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 غذایی حیوانی، کمبود شدید ویتامین  $B_{12}$  در جمیعت‌های انسانی متداول نیست، با این حال کمبود نسبی آن در رژیم‌های گیاهخواری و کمبود پروتئینی ممکن است

### 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). از آنجایی که

<sup>۱</sup> استادیار فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه (نویسنده مسئول)

<sup>۲</sup> استاد فیزیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۳</sup> دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۴</sup> دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۵</sup> دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

مدل‌های مختلف در حیوانات آزمایشگاهی استفاده می‌کنند. به عنوان مثال، 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 به عنوان 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<sub>12</sub> هم در عملکرد سیستم عصبی خود مختار 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<sub>12</sub> بر هیپرگلیسمی حاد ناشی از کتامین-گزیلازین در موش‌های صحرایی بررسی شده است. برای بررسی مکانیسم احتمالی اثر ویتامین B<sub>12</sub> بر میزان گلوکز خون، علاوه از استفاده جدآگانه از آنتاگونیست گیرنده آلفا-۲ آدرنرژیک (یوهمبین) و انسولین، از استفاده توأم ویتامین B<sub>12</sub> 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 ۲۵۰-۳۰۰ 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 ۲۱-۲۳ 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:

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<sub>12</sub> در متابولیسم گلوکز نقش بسیار اساسی دارد. به عنوان مثال، ویتامین B<sub>12</sub> به همراه اسیدفولیک بر افزایش گلوکز و کاهش انسولین خون ناشی از نیکوتین در موش صحرایی اثرات جلوگیری کننده داشته‌اند (۴). همچنین، ویتامین‌های گروه B شامل ترکیبی از ویتامین‌های B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> و B<sub>12</sub> 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 هیپوталاموسی مانند هسته ونترومیال و غیر هیپوталاموسی مانند آمیگدال در تنظیم مرکزی گلوکز خون نقش دارند (۶). تعدادی از هورمون‌ها شامل انسولین، گلوکاکون، پیتید شبه گلوکاکون ۱ و لپتین در تنظیم گلوکز خون مؤثر هستند (۷). کبد با انجام اعمال متابولیکی مانند گلیکوزنر، گلیکوژنولیز، گلیکولیز و گلوكونಥونز 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 (آنتاگونیست 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 یوهمبین (آنتاگونیست گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک) از افزایش میزان گلوکز خون ایجاد شده توسط استرس بی‌حرکتی جلوگیری کرده است (۱۳).

هیپرگلیسمی یا افزایش سطح گلوکز خون می‌تواند به صورت حاد متعاقب استرس و یا به شکل مزمن در دیابت ایجاد می‌شود (۱۴، ۱۵). برای مطالعه مکانیسم‌های درگیر در هیپرگلیسمی حاد از

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 پنجم، 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 به صورت  $\text{mean} \pm \text{SEM}$  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 کتابیین- گزیلازین در گروه‌های موردمطالعه تفاوتی نداشت. در گروه دریافت‌کننده سالین نرمال، سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتابیین- گزیلازین با میزان آن در دقیقه ۳۰ قبل از تزریق اختلاف معنی‌دار نشان داد ( $P < 0.05$ ).

تزریق داخل صفاقی ویتامین ۱۲B در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن بر هیپرگلیسمی ایجاد شده اثر معنی‌داری نداشت. در گروه‌های دریافت‌کننده ویتامین ۱۲B در مقادیر ۰/۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن سطح گلوکز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتابیین - گزیلازین به طور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین کاهش یافت. اثر ویتامین ۱۲B (۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) در دقیقه ۱۲۰ پس از تزریق کتابیین - گزیلازین با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتابیین - گزیلازین اختلاف معنی‌دار نشان نداد (نمودار ۱).

تزریق داخل صفاقی یوهمبین در مقدار ۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن تغییر معنی‌داری در هیپرگلیسمی ایجاد نکرد. در حالی که در مقدار ۱ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن سطح گلوکز خون را در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق به طور معنی‌دار ( $P < 0.05$ ) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده سالین کاهش داد و این کاهش با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتابیین- گزیلازین اختلاف معنی‌دار نشان نداد (نمودار ۲ الف). با به کارگیری توازن مقادیر غیر مؤثر از ویتامین ۱۲B و یوهمبین (به ترتیب ۰/۱۲۵ و ۰/۲۵ میلی‌گرم و

در این مطالعه از پودرهای ویتامین ۱۲B و یوهمبین، تهیه شده از شرکت دارویی سیگما - آدریج آمریکا، انسولین ساخت شرکت اکسیبر ایران، کتابیین و گزیلازین ساخت شرکت آلفاسان هلند، و سالین نرمال ( محلول کلورور 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، ۰/۰۵ و ۰/۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن ویتامین ۱۲B، گروه‌های پنج و شش مقادیر ۰/۲۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن یوهمبین، گروه هفت ویتامین ۱۲B در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و یوهمبین در مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و نه انسولین در مقدار ۰/۲۵ میلی‌گرم به صورت توأم، گروه‌های هشت و نه انسولین در مقدار ۰/۰۵ و ۰/۱ واحد بر کیلوگرم وزن بدن، گروه ده ویتامین ۱۲B در مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم به صورت توأم و گروه یازده ویتامین ۱۲B در مقدار ۰/۱۲۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، انسولین در مقدار ۰/۰۵ واحد بر کیلوگرم و یوهمبین در مقدار ۰/۰۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم را به صورت توأم دریافت کردند. در گروه‌های مذکور، تزریق سالین نرمال و داروها ۱۵ دقیقه پس از تزریق مخلوط کتابیین- گزیلازین و به صورت داخل صفاقی صورت گرفت. در همه گروه‌های موردمطالعه، سی دقیقه قبل از تزریق و در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتابیین- گزیلازین گلوکز خون اندازه‌گیری شد.

### روش ایجاد هیپرگلیسمی حاد:

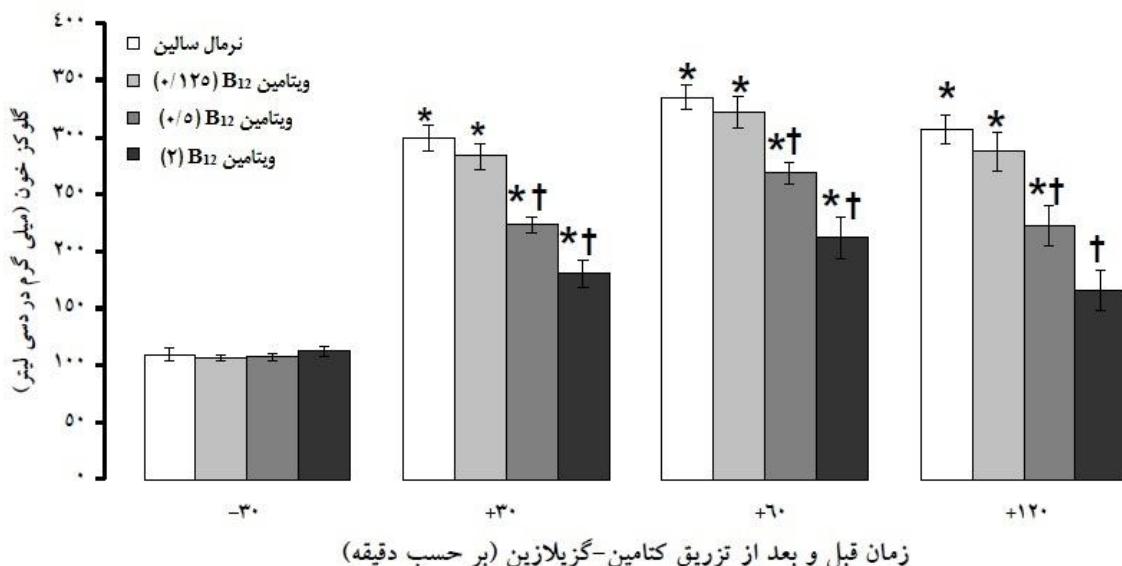
برای ایجاد هیپرگلیسمی از روش توصیف شده توسط Saha و همکاران استفاده شد (۱۶). به حیوانات، کتابیین در مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن و گزیلازین ۱۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن، به صورت داخل صفاقی تزریق شد. سی دقیقه قبل از تزریق، و در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتابیین- گزیلازین گلوکز 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

انسولین در مقدار ۵/۰ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن موجب تخفیف معنی دار ( $P<0.05$ ) در هیپرگلیسمی ایجاد شده در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین در مقایسه با گروههای دریافت کننده سالین نرمال و استفاده به تنها ۵/۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن از ویتامین ۱۲ ب ۵/۰ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن از انسولین شد، و با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین-گزیلازین اختلاف معنی دار ( $P<0.05$ ) نشان داد (نمودار ۳ ب).

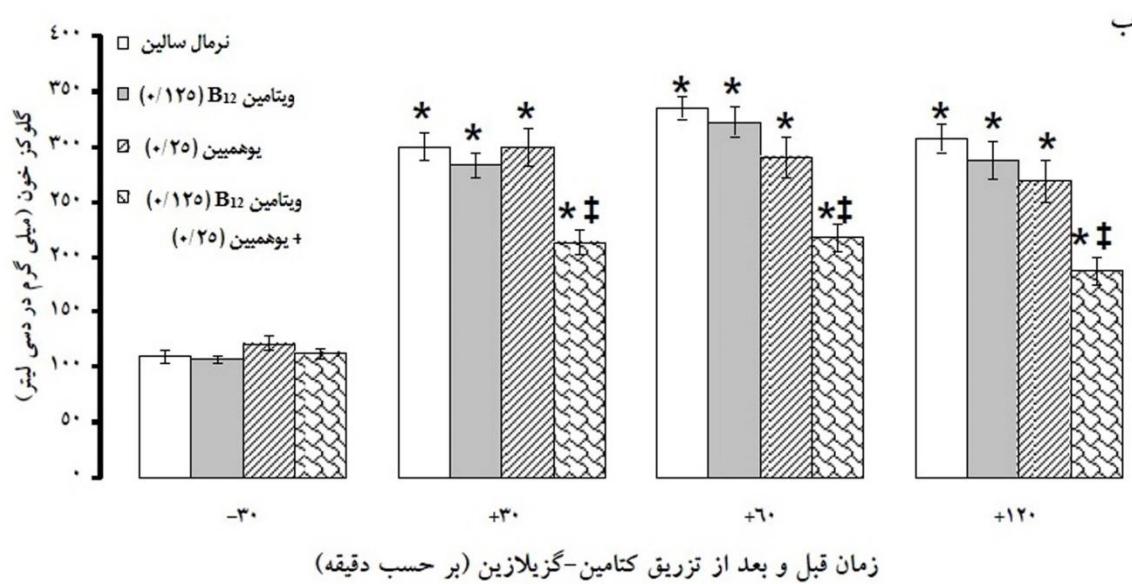
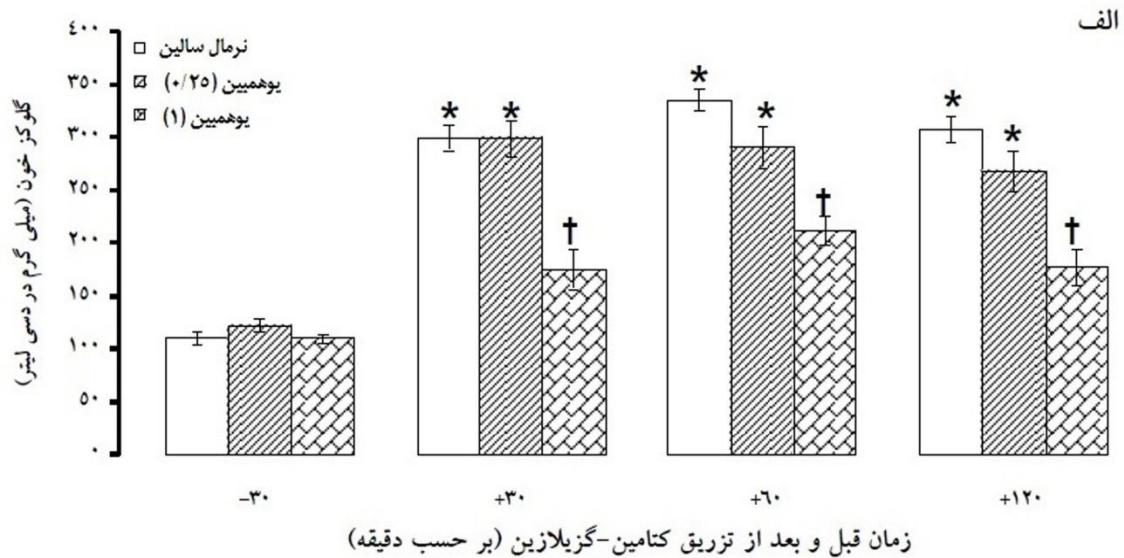
تزریق تواأم مقادیر غیر مؤثر انسولین (۵/۰ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن)، یوهمبین (۲۵/۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و ویتامین ۱۲ (۲۵/۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) موجب کاهش معنی دار ( $P<0.05$ ) هیپرگلیسمی ناشی از تزریق کتامین-گزیلازین در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ شد. این کاهش در حدی بود که با میزان گلوكز خون در دقیقه ۳۰ قبل از تزریق اختلاف معنی دار نشان نداد (نمودار ۴).

میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) در مقایسه با استفاده به تنها ۵/۰ ویتامین ۱۲ و یوهمبین، هیپرگلیسمی ایجاد شده در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین به طور معنی دار ( $P<0.05$ ) تخفیف یافت ولی به مقدار آن در دقیقه ۳۰ قبل از بیهوشی نرسید (نمودار ۲ ب).

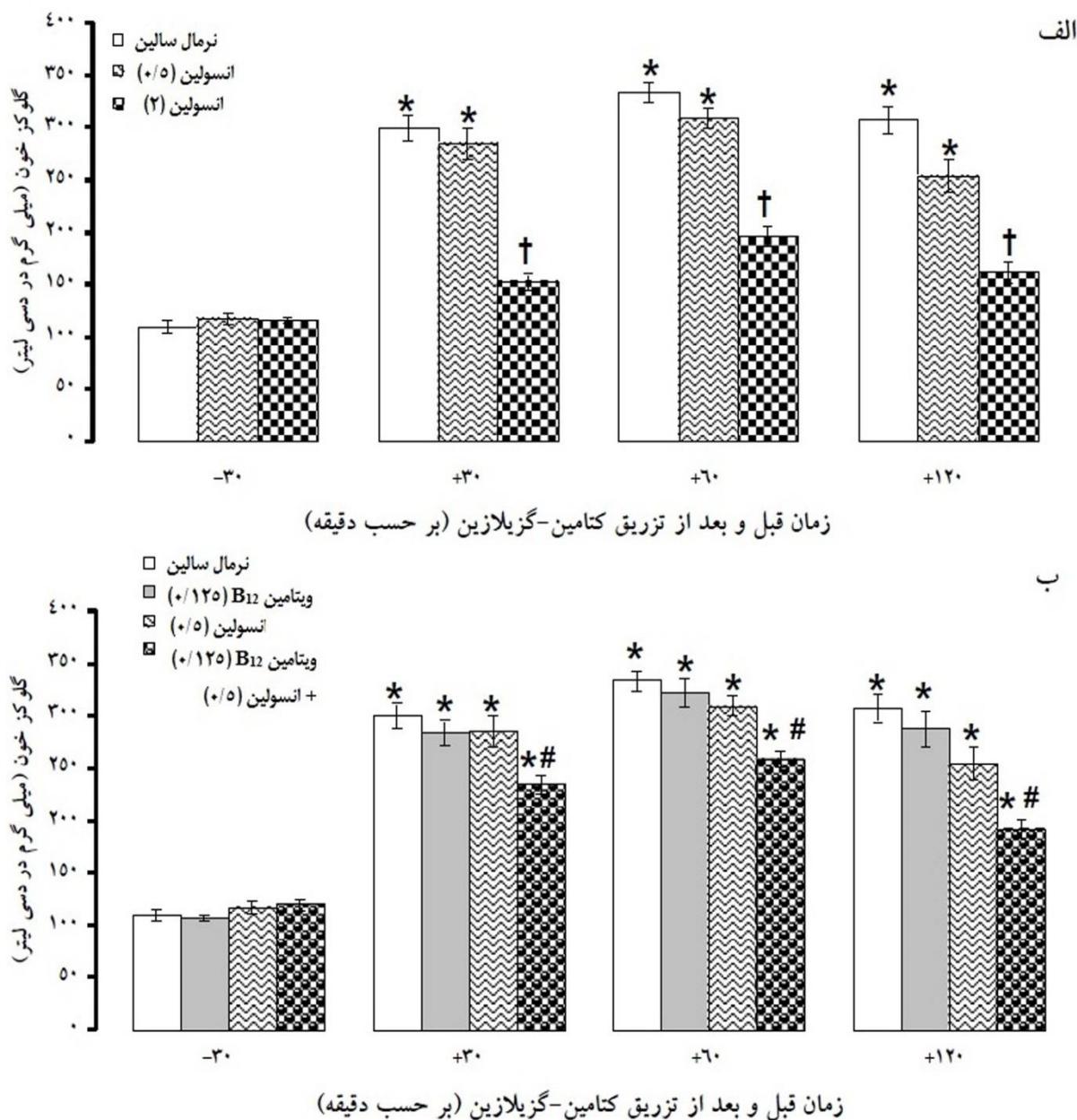
تزریق داخل صفاقی انسولین در مقدار ۵/۰ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن اثر معنی داری ( $P<0.05$ ) در هیپرگلیسمی ایجاد شده در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ به دنبال تزریق کتامین-گزیلازین نگذاشت، در حالی که در مقدار ۲ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن، انسولین سطح گلوكز خون را در مoshهای صحرایی تزریق شده با کتامین-گزیلازین در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق کتامین-گزیلازین به طور معنی دار ( $P<0.05$ ) کاهش داد. این کاهش با دقیقه ۳۰ قبل از تزریق کتامین-گزیلازین اختلاف معنی داری نشان نداد (نمودار ۳ الف). تزریق داخل صفاقی ویتامین ۱۲ در مقدار ۲۵/۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن تتوأم با



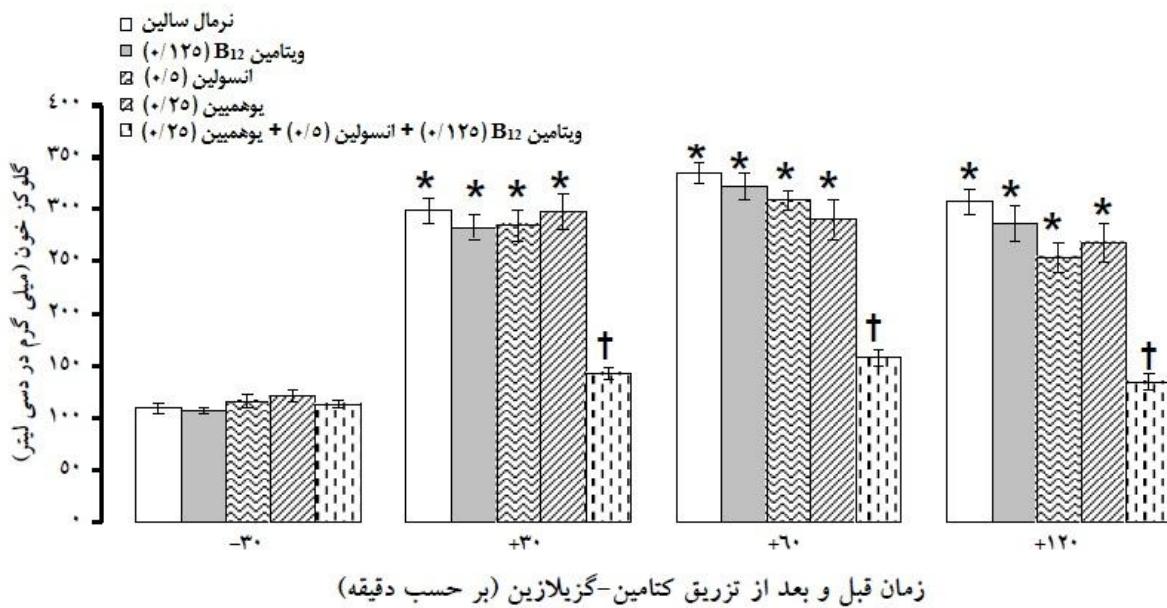
**نمودار (۱):** اثر ویتامین ۱۲ بر هیپرگلیسمی ناشی از تزریق داخل صفاقی کتامین-گزیلازین موش صحرائی. بررسی تغییرات سطح گلوكز خون در مoshهای صحرائی بی هوش تزریق شده با سالین نرمال و ویتامین ۱۲ به روش داخل صفاقی. داده ها به صورت mean  $\pm$  standard error of mean بیان شده اند. تعداد حیوان در هر گروه: شش سر موش صحرائی. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق داخل صفاقی کتامین ۱۰۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و گزیلازین (۱۰ میلی گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) انجام شد. تزریق داخل صفاقی سالین نرمال و ویتامین ۱۵ دقیقه پس از تزریق کتامین-گزیلازین انجام شد. علامت (\*) وجود اختلاف معنی دار در سطح ( $p<0.05$ ) را با قبل (دقیقه -۳۰) از تزریق کتامین-گزیلازین نشان می دهد. علامت (+) وجود اختلاف معنی دار در سطح ( $p<0.05$ ) با گروه دریافت کننده سالین نرمال را در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ نشان می دهد. مقادیر ویتامین ۱۲ بر حسب میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.



نمودار (۲): اثر تزریق داخل صفاقی یوهمبین (الف) و تزریق توأم ویتامین  $B_{12}$  و یوهمبین (ب) بر هیپرگلیسمی ناشی از کتابین-گزیلازین در موش صحرائی. داده‌ها به صورت mean  $\pm$  standard error of mean بیان شده‌اند. تعداد حیوان در هر گروه: شش سر موش صحرائی. برای ایجاد هیپرگلیسمی تزریق داخل صفاقی کتابین (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 کتابین-گزیلازین انجام شد. علامت (\*) وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ( $p < 0.05$ ) را با قبل (دقیقه -۳۰) از تزریق کتابین-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 به تنها بی ویتامین  $B_{12}$  (۰/۱۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) و به تنها بی یوهمبین (۰/۰۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) نشان می‌دهد. مقادیر یوهمبین و ویتامین  $B_{12}$  بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.



نمودار (۳): اثر تزریق داخل صفاقی انسولین (الف) و تزریق توأم ویتامین B<sub>12</sub> و انسولین (ب) بر هیپرگلیسمی ناشی از کتامین - گزیلازین در موش صحرائی. داده‌ها به صورت mean ± standard error of mean (mean ± SEM) 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<sub>12</sub> (۰/۱۲۵) می‌نماید. علامت (۰/۵) وجود اختلاف معنی‌دار به ازای کیلوگرم وزن بدن و انسولین (۰/۵) نشان می‌دهد. مقادیر ویتامین B<sub>12</sub> بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و انسولین بر حسب واحد بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.



نمودار (۴): اثر تزریق داخل صفاقی توأم ویتامین ۱۲ B، انسولین و یوهمبین بر هیپرگلیسمی ناشی از کتامین - گزیلازین در موش صحرائی. داده‌ها به صورت mean  $\pm$  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 ۱۲ B، 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 تنها ویتامین ۱۲ B (۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن)، به تنها انسولین (۰/۵ واحد به ازای کیلوگرم وزن بدن) و به تنها یوهمبین (۰/۲۵ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن) نشان می‌دهد. مقادیر ویتامین ۱۲ B و یوهمبین بر حسب میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و انسولین بر حسب واحد بر کیلوگرم وزن بدن بیان شده است.

بخشی و شل کنندگی عضلانی همراه داروهای بی هوشی نظیر کتامین و ایزوکلوران در حیوانات آزمایشگاهی مورد مصرف قرار می‌گیرد (۱۶، ۱۷). در این رابطه، استفاده از گزیلازین در ترکیب با کتامین باعث افزایش غلظت گلوكز پلاسمما و کاهش سطح انسولین در موش صحرائی شده است و به عنوان مدلی برای بررسی مکانیسم‌های عصبی و هورمونی دخیل در تنظیم سطح گلوكز خون معرفی شده است (۱۶).

در مطالعه حاضر، یوهمبین میزان هیپرگلیسمی ناشی از کتامین و گزیلازین را در موش‌های صحرائی کاهش داد. این موضوع نشان می‌دهد که گیرنده‌های آلفا-۲ آدرنرژیک در تنظیم سطح گلوكز 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

## بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر، سطح گلوكز خون در دقایق ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق داخل صفاقی کتامین-گزیلازین در مقایسه با قبل (دقیقه -۳۰) از تزریق کتامین-گزیلازین به طور معنی‌داری افزایش یافت. کتامین عموماً به عنوان یک داروی تسکین‌دهنده، بی‌هوش کننده سریع الاثر و یک ماده ضد درد شناخته شده است و مکانیسم اثر اصلی آن بر روی گیرنده گلوتامات، نوروتنرنسیمتیر تحریکی عمدۀ در مغز، است. کتامین آنتاگونیست گیرنده‌های NMDA، یکی از سه گیرنده گلوتامات می‌باشد (۱۹). استفاده به تنها از کتامین برای ایجاد بی‌هوشی و تسکینی با یک سری اثرات جانبی از جمله 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

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 به وسیله افزایش دادن انسولین خون با تزریق انسولین برون زاد نشان می‌دهد که بین سیستم آلفا-۲‌آدرنرژیک 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 استرتیتوزوتوسین می‌شود و پیشنهاد شده است که این ویتامین به عنوان 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 بهنهایی انسولین، ویتامین  $B_{12}$  و یوهمبین در مقادیر بالا می‌باشد. این موضوع نشان دهنده 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 (۲۴، ۲۵)، می‌توان نقش این ویتامین را در همکاری با سیستم‌های آدرنرژیک و انسولین در تنظیم میزان گلوکز خون مطرح نمود که برای رسیدن به این هدف نیاز به تحقیقات گسترده وجود دارد.

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

نخاعی و داخل بطني مغزی یوهمبین هیپرگلیسمی ناشی از استرس بی‌حرکتی را مهار نموده است و پیشنهاد کرده‌اند که گیرنده‌های آلفا-۲‌آدرنرژیک محیطی، نخاعی و مغزی در تنظیم گلوکز خون نقش دارند (۱۳). همچنین، تزریق داخل نخاعی اینتلوكین-۱ با 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. به علاوه، بکار بردن توأم ویتامین  $B_{12}$  با یوهمبین اثر هیپرگلیسمی کتامین-گزیلازین را کاهش داد. این موضوع نشان دهنده همکاری بین ویتامین  $B_{12}$  و گیرنده‌های آلفا-۲‌آدرنرژیک در تنظیم گلوکز خون است. اگرچه گزارشی درمورد همکاری بین ویتامین  $B_{12}$  و گیرنده‌های آلفا-۲‌آدرنرژیک 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  $B_{12}$ ) به طور 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-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-۲‌آدرنرژیک با مهار ترشح انسولین از سلول‌های بتا و کاهش بروند 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 و هم مدتومیدین، آگونیست‌های گیرنده آلفا-۲‌آدرنرژیک، 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

$B_{12}$ , سیستم سمپاتیک و انسولین در ارتباط با تنظیم گلوکز خون ارتباط عملکردی وجود دارد.

توأم ویتامین  $B_{12}$ , یوهمبین و انسولین هیپرگلیسمی ناشی از کتابتین-گزیلازین را اصلاح می‌کند. به عبارت دیگر، بین ویتامین

## References:

- Shipton MJ, Tachil J. Vitamin B12 deficiency-A 21st century perspective. *Clin Med (Lond)* 2015; 15(2): 145-50.
- Fang H, Kang J, Zhang D. Microbial production of vitamin B12: a review and future perspectives. *Microb Cell Fact* 2017; 16(1): 15.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Röder PV, Wu B, Liu Y, Han W. Pancreatic regulation of glucose homeostasis. *Exp Mol Med* 2016; 48(3): e219.
- 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.
- Fagerholm V, Haaparanta M, Scheinin M.  $\alpha 2$ -adrenoceptor regulation of blood glucose homeostasis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011; 108(6):365-70.
- 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.
- 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.
- Ruohonen ST, Ranta-Panula V, Bastman S, Chrusciel P, Scheinin M, Streng T. Potentiation of glybenclamide hypoglycemia in mice by MK-467, a peripherally acting  $\alpha 2$ -adrenergic antagonist. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2015; 117(6): 392-408.
- Kang YJ, Sim YB, Park SH, Sharma N, Suh HW. Involvement of  $\alpha 2$ -adrenergic receptor in the regulation of the blood glucose level induced by immobilization stress. *Arch Pharm Res* 2015; 38(5): 921-9.
- Harp JB, Yancopoulos GD, Gromada J. Glucagon orchestrates stress-induced hyperglycemia. *Diabetes Obes Metab* 2016; 18(7): 643-53.
- 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.
- 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.
- Saha JK, Xia J, Engle SK, Chen YF, Glaesner W, Jakubowski JA. A model of controlled acute hyperglycemia in rats: Effects of insulin and

- 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.e1-200.e4.
  21. Sim YB, Park SH, Kang YJ, Jung JS, Ryu OH, Choi MG, Suh HW. Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 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.

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

*Amir Erfanparast<sup>1\*</sup>, Esmaeal Tamaddonfard<sup>2</sup>, Elahe Mohammadi<sup>3</sup>, Shaghayegh Nemati<sup>4</sup>, Roghyae Mohammadi<sup>5</sup>*

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

### **Abstract**

**Background & Aims:** Sympathetic nervous system thorough  $\alpha$ -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  $\alpha$ 2-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

---

<sup>1</sup> Assistant Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran (Corresponding Author)

<sup>2</sup> Professor, Division of Physiology, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran

<sup>3</sup> DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran

<sup>4</sup> DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran

<sup>5</sup> DVM, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, I.R. Iran