دانشگاه ارومیه

دانشکده دامپزشکی

سال تحصیلی: ۹۳-۱۳۹۲ شمارهٔ پایان‌نامه: ۱۳-۲ د

پایان‌نامه

جهت اخذ درجهٔ دکتری تخصصی دامپزشکی (DVSc) در رشتهٔ داخلی دام‌های بزرگ

عنوان:

مطالعه اثرات هیپرلیپیدمی تجربی و عصاره هیدروالکلی سیر بر شاخص‌های حساسیت به انسولین در گوسفند

نگارنده:

حمید اکبری

هیأت داوران:

دکتر بهرام دلیرنقده، استاد راهنما و رئیس هیأت داوران، دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

دکتر سیامک عصری رضایی، استاد مشاور، دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

پروفسور محمدحسن خادم انصاری، داور خارجی، استاد دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ارومیه

دکتر رسول پیرمحمدی، داور خارجی، دانشیار دانشکده علوم دامی دانشگاه ارومیه

پروفسور علیقلی رامین، داور داخلی، استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه

دکتر حسن ملکی نژاد، داور داخلی، دانشیار فارماکولوژی دانشگاه ارومیه

© حق چاپ و انتشار برای دانشگاه ارومیه محفوظ می‌باشد.

فهرست

عنوان صفحه

چکیده فارسی

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه ۱

۱-۱-۱ تجربه اول (مطالعه مقدماتی) ۱

۱-۱-۲ تجربه دوم ۲

فصل دوم: کلیات

۲-۱ دیابت ملیتوس ۷

۲-۱-۱ دیابت نوع ۱ ..... ۷

۲-۱-۲ دیابت نوع ۲ ..... ۷

۲-۱-۳ نقص ژنتیکی سلول‌های بتا ۸

۲-۱-۴ نقص ژنتیکی در کارکرد انسولین ۸

۲-۱-۵ دیابت پانکراس اگزوکرین ۸

۲-۱-۶ آندوکرینوپاتی‌ها ۸

۲-۱-۷ دیابت القا شده با داروها یا مواد شیمیایی ۹

۲-۱-۸ عفونت‌ها ۹

۲-۱-۹ اشکال غیرمعمول دیابت با واسطه‌ی ایمنی ۹

۲-۲ دیابت ملیتوس نوع ۲ ..... ۹

۲-۲-۱ پاتوفیزیولوژی دیابت ملیتوس نوع ۲ ..... ۱۰

۱-۱-۲-۲ استعداد ژنتیکی در NIDDM ۱۰
۲-۱-۲-۲ اختلالات متابولیکی در NIDDM ۱۲
۳-۱-۲-۲ فاز اول و دوم ترشح انسولین ۱۳
۴-۱-۲-۲ نقص در ترشح انسولین ۱۴
۵-۱-۲-۲ اتیولوژی کاهش انسولین در NIDDM ۱۵
۳-۲ هورمون انسولین ۱۵
۱-۳-۲ ساختار شیمیایی و اختصاصی بودن گونه‌ای انسولین ۱۵
۲-۳-۲ ساخت و ترشح انسولین ۱۶
۳-۳-۲ متابولیسم انسولین ۱۷
۴-۳-۲ فعال شدن گیرنده‌های سلول هدف توسط انسولین ۱۷
۵-۳-۲ اثرات انسولین ۱۸
۱-۵-۳-۲ اثرات انسولین بر متابولیسم کربوهیدرات ۱۸
۲-۵-۳-۲ اثرات انسولین بر متابولیسم چربی ۱۹
۳-۵-۳-۲ اثرات انسولین بر متابولیسم پروتئین ۲۰
۶-۳-۲ مقاومت به انسولین ۲۰
۱-۶-۳-۲ محل‌های مقاومت به انسولین در NIDDM ۲۱
۲-۶-۳-۲ تولید گلوکز کبدی ۲۱
۳-۶-۳-۲ مصرف گلوکز توسط بافت‌های احشایی ۲۱
۴-۶-۳-۲ مصرف گلوکز در بافت‌های محیطی ۲۱
۵-۶-۳-۲ انتقال گلوکز ۲۲
۶-۶-۳-۲ مکانیسم مقاومت به انسولین ۲۲
۷-۶-۳-۲ تنظیم انتقال گلوکز: هدایت سیگنال انسولین به صورت طبیعی ۲۳
۸-۶-۳-۲ مکانیسم مقاومت به انسولین در کبد ۲۷
۷-۳-۲ اختلال در عملکرد سلول‌های چربی و نقش آن در مقاومت به انسولین ۲۷

۲-۳-۷-۱ لپتین ۲۸
۲-۳-۷-۲ ادیپونکتین ۲۹
۲-۳-۷-۳ رتینول بایندینگ پروتئین ۴ (RBP_4) ۲۹
۲-۳-۷-۴ TNF آلفا ۲۹
۲-۳-۷-۵ رزیستین ۲۹
۲-۳-۷-۶ IL_6 ..... ۳۰
۲-۴ درمان مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲ ..... ۳۰
۲-۴-۱ تغذیه ۳۰
۲-۴-۲ ورزش ۳۱
۲-۴-۳ درمان دارویی ۳۱
۲-۴-۳-۱ سولفانیل‌اوره‌ها ۳۱
۲-۴-۳-۲ بیگوانیدها ۳۲
۲-۴-۳-۳ تیازولیدینودیون‌ها ۳۲
۲-۴-۳-۴ مهارکننده‌های آلفا-گلوکوزیداز ۳۳
۲-۴-۳-۵ انسولین ۳۳
۲-۵ روش‌های ارزیابی حساسیت/ مقاومت به انسولین ۳۳
۲-۵-۱ روش کلامپ با هیپرانسولینمی و سطح ثابت گلوکز ۳۳
۲-۵-۲ تست تضعیف انسولین ۳۴
۲-۵-۳ تست تحمل گلوکز داخل وریدی با نمونه‌گیری‌های متعدد ۳۴
۲-۵-۴ تست تحمل خوراکی گلوکز ۳۵
۲-۵-۵ مدل هموستاز ارزیابی مقاومت به انسولین (HOMA-IR) ۳۶
۲-۵-۶ شاخص ارزیابی حساسیت به انسولین به‌صورت کمی ۳۶
۲-۶ استفاده از مدل‌های دامی در تحقیقات دیابت ۳۸
۲-۶-۱ مدل‌های دامی برای دیابت نوع ۱ ..... ۳۸

۲-۶-۲ مدل‌های دامی برای ایجاد دیابت نوع ۲ ..... ۳۹
۲-۷ بیماری‌های مرتبط با مقاومت به انسولین در دام‌ها ۴۱
۲-۷-۱ سندرم هیپرلیپمیای تک‌سمی‌ها ۴۱
۲-۷-۲ سندرم متابولیک اسب‌سانان ۴۱
۲-۷-۳ کتوزیس نوع ۲ و سندرم گاو چاق ۴۴
۲-۷-۴ توکسمی آبستنی ۴۴
۲-۷-۵ جابجایی شیردان ۴۴
۲-۸ مشخصات و ویژگی‌های گیاه سیر ۴۵
۲-۸-۱ توزیع جغرافیایی سیر ۴۵
۲-۸-۲ تاریخچه استفاده از گیاه سیر ۴۵
۲-۸-۳ فرآورده‌های سیر ۴۵
۲-۸-۴ ترکیبات شیمیایی و اجزاء سازنده سیر ۴۶
۲-۸-۵ خواص درمانی سیر ۴۷
۲-۸-۵-۱ اثر سیر در کاهش چربی و کلسترول خون ۴۷
۲-۸-۵-۲ اثرات سیر بر فشارخون ۴۸
۲-۸-۵-۳ نقش سیر در جلوگیری از تجمع پلاکتی ۴۸
۲-۸-۵-۴ اثرات ضد ویروسی سیر ۴۸
۲-۸-۵-۵ اثرات ضد باکتریایی سیر ۴۹
۲-۸-۵-۶ اثرات ضد قارچی سیر ۴۹
۲-۸-۵-۷ اثرات آنتی اکسیدانی سیر ۴۹
۲-۸-۵-۸ اثرات ضد سرطانی سیر ۵۰
۲-۸-۵-۹ اثرات ضد دیابتی سیر ۵۰

فصل سوم: مواد و روش کار

۳-۱ مواد ۵۱

۳-۱-۱ دام‌های مورد استفاده ۵۱

۳-۱-۲ مواد مصرفی ۵۱

۳-۱-۳ مواد غیر مصرفی ۵۲

۳-۲ روش کار ۵۲

۳-۲-۱ تجربه اول (مطالعه مقدماتی) ۵۲

۳-۲-۱-۱ گروه‌بندی دام‌ها ۵۲

۳-۲-۱-۲ نحوه‌ی جاگذاری آنژیوکت و محاسبه دز لیپید ۵۳

۳-۲-۱-۳ خون‌گیری و اندازه‌گیری پارامترهای آزمایشگاهی ۵۳

۳-۲-۱-۴ مشخص کردن میزان مقاومت به انسولین ۵۴

۳-۲-۲ تجربه دوم ۵۴

۳-۲-۲-۱ گروه‌بندی دام‌ها ۵۴

۳-۲-۲-۲ نحوه‌ی جاگذاری آنژیوکت و محاسبه دز لیپید و سیر ۵۴

۳-۲-۲-۳ پروتکل تست تحمل داخل وریدی گلوکز ۵۵

۳-۲-۲-۴ خون گیری و اندازه‌گیری پارامترهای آزمایشگاهی ۵۵

۳-۳ تجزیه و تحلیل آماری ۵۶

۳-۴ پودر سیر و تهیه عصاره هیدروالکلی ۵۷

۳-۵ آنالیز عصاره هیدروالکلی پودر سیر با استفاده از دستگاه کروماتوگراف گازی متصل به طیف‌نگار جرمی (GC-MS) ۵۷

۳-۶ تجربه HPLC برای تعیین محتوای آلیسین در عصاره هیدروالکلی پودر سیر ۵۸

فصل چهارم: نتایج

۴-۱ نتایج ۵۹

۴-۱-۱ تجربه اول (مطالعه مقدماتی) ۵۹

۴-۱-۲ تجربه دوم ۶۴

۴-۲ نتایج آنالیزهای بیوشیمیایی سیر ۷۷

فصل پنجم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات

۵-۱ بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات ۷۹

۵-۱-۱ تجربه اول (مطالعه مقدماتی) ۷۹

۵-۱-۲ تجربه دوم ۸۳

فصل ششم: منابع

۶-۱ منابع ۹۱

چکیده انگلیسی

چکیده‌ی پایان‌نامه‌ی دکترای تخصصی (DVSc) با شماره‌ی **۱۳-۲د**

دانشگاه ارومیه، سال‌تحصیلی: **۹۳-۱۳۹۲**

نگارنده: **حمید اکبری**

عنوان: **مطالعه اثرات هیپرلیپیدمی تجربی و عصاره هیدروالکلی سیر بر شاخص‌های حساسیت به انسولین در گوسفند**

هدف این مطالعه، ارزیابی اثرات انفوزیون وریدی نوعی امولسیون لیپیدی مشتق از سویا (Lipovenoes 10%) و عصاره هیدروالکلی سیر بر روی شاخص‌های حساسیت به انسولین از طریق تست تحمل داخل وریدی گلوکز (IVGTT) در قالب یک طرح مربع لاتین ۴×۴ بر روی ۴ گوسفند سالم بود. نرمال سالین (گروه NS)، محلول لیپیدی (گروه LE)، محلول لیپیدی+عصاره هیدروالکلی سیر (گروه LE+GE) و عصاره هیدروالکلی سیر (گروه GE) به صورت انفوزیون وریدی به مدت ۶ ساعت با سرعت ۰,۰۲۵ ml/kg/min تجویز گردید و غلظت اسیدهای چرب غیراستریفیه (NEFA)، بتاهیدروکسی بوتیرات (BHBA)، تری گلیسیرید (TG)، کلسترول، اوره، کراتی‌نین، کورتیزول، گلوکز و انسولین قبل از تجویز (سطح پایه) و سپس در ساعت‌های ۲، ۴، ۶، ۱۲، ۲۴ و ۴۸ پس از تجویز اندازه‌گیری شد. پس از گذشت ۶ ساعت از شروع انفوزیون‌ها IVGTT انجام شد. انفوزیون LE و LE+GE در مقایسه با سطح پایه و انفوزیون NS و GE، منجر به افزایش معنی‌دار غلظت NEFA، BHBA و TG ($P<0.05$) شد. انفوزیون GE به صورت معنی‌داری غلظت کلسترول سرم را کاهش داد ($P<0.05$). تغییرات اوره و کراتی‌نین در محدوده‌ی فیزیولوژیک غلظت اوره و کراتی‌نین سرم گوسفند بود. انفوزیون LE و LE+GE غلظت گلوکز پلاسما را به صورت معنی‌داری افزایش ($P<0.05$) و انفوزیون GE کاهش ($P<0.05$) داد. در ساعت ۱۲ پس از شروع همه‌ی انفوزیون‌ها به غیر از LE و در ساعت ۲۴ پس از شروع انفوزیون GE، غلظت انسولین سرم در مقایسه با سطح پایه به صورت معنی‌داری افزایش یافت ($P<0.05$). متعاقب انفوزیون LE، مقادیر شاخص حساسیت به انسولین (SI) کاهش و در گروه GE افزایش یافت. انفوزیون GE و LE+GE در مقایسه با NS به صورت معنی‌داری شاخص تأثیرگذاری گلوکز (Sg) را کاهش داد ($P<0.01$). پاسخ فاز حاد انسولین به گلوکز (AIRs) در درمان LE به طور معنی‌داری نسبت به NS و GE افزایش یافت ($P<0.05$). پتانسیل اثر انسولین (DI) در درمان LE به صورت معنی‌داری کمتر از NS ($P<0.001$)، GE ($P<0.05$) و LE+GE بود. نتایج این مطالعه نشان داد که، انفوزیون لیپوونوس در گوسفند مقاومت به انسولین ایجاد کرد؛ بنابراین می‌توان به عنوان مدلی در نشخوارکنندگان برای بررسی پاتوژنز بیماری‌های مرتبط با مقاومت به انسولین مثل توکسمی آبستنی گوسفند استفاده کرد. همچنین عصاره هیدروالکلی سیر باعث بهبود حساسیت به انسولین و کاهش پروفایل لیپیدی خون شد؛ بنابراین در درمان بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ و سندرم‌های مرتبط با مقاومت به انسولین در دام‌های بزرگ می‌توان استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی:

محلول لیپیدی، سیر، مقاومت به انسولین، گوسفند

فصل اول

مقدمه

Introduction

۱-۱ مقدمه

قبل از شروع تجربه اصلی یک مطالعه مقدماتی به منظور ارزیابی چگونگی پاسخ دام‌ها به دز مورد نظر از انفوزیون وریدی امولسیون لیپیدی مشتق از سویا و بررسی برخی از اجزای خون به دنبال تجویز امولسیون در گوسفند به عنوان مدلی از نشخوارکنندگان صورت گرفت.

۱-۱-۱ تجربه اول (مطالعه مقدماتی[1])

بسیاری از بیمارانی که از بالانس منفی انرژی رنج می‌برند و در آن‌ها این وضعیت مدت‌های طولانی ادامه دارد، ممکن است عوارض شدیدی مثل افزایش بیماری‌های عفونی را داشته باشند (Calder et al., 2010). در انسان و دام‌هایی که قادر به تغذیه خوراکی نیستند، تغذیه غیرخوراکی[2] باعث تسریع ترمیم زخم‌ها، کاهش از دست دادن پروتئین عضلات و وزن بدن و بهبود عملکرد سیستم ایمنی می‌شود (Carr and Holcombe, 2009). در بیمارانی با بالانس منفی انرژی، استفاده طولانی مدت از تغذیه غیرخوراکی متکی به گلوکز، عوارضی مثل هیپرگلیسمی، کمبود اسیدهای چرب آزاد، تولید بیش از حد دی‌اکسید کربن و اختلال در عملکرد کبد دارد (Miller, 2001; Sobotka and Camilo, 2009). اگر مجبور به تغذیه غیرخوراکی به مدت طولانی هستیم، محلول‌های لیپیدی به صورت وریدی می‌توانند برای تأمین کالری مورد نیاز و جلوگیری از تجزیه پروتئین بدن مورد استفاده قرار گیرند. لیپیدها از جمله ترکیباتی هستند که انرژی زیادی در حدود ۹ kcal به ازای هر گرم لیپید تولید می‌کنند (Carr and Holcombe, 2009). امولسیون‌های لیپیدی وریدی (ILE)[3] عمدتاً به عنوان یک منبع اسیدهای چرب ضروری در افرادی که نیاز به تغذیه غیرخوراکی دارند، ساخته شده‌اند. این امولسیون‌ها، ترکیبی از اسیدهای چرب متوسط تا بلند زنجیر مشتق از روغن‌های گیاهی (مثل سویا)، فسفاتیدهای تخم‌مرغ و گلیسیرین هستند (Gwaltney-Brant and Meadows, 2012). در طب انسانی، این امولسیون‌ها در افرادی که قادر به تغذیه خوراکی نیستند و یا اینکه مشکلات گوارشی دارند برای تأمین انرژی و اسیدهای چرب ضروری توصیه می‌شوند (Meisel et al., 2011). بعلاوه، اخیراً از ILE به عنوان پادزهر در سیستم قلبی عروقی و CNS برای جلوگیری از اثرات سمی داروهای بی‌حسی موضعی و عمومی در طب انسانی استفاده شده است (Cave et al., 2011; Garrett

[1]. Pilot study
[2]. Parenteral nutrition
[3]. Intravenous lipid emulsions (ILE)

et al., 2013). این ترکیبات به عنوان یک روش جدید در درمان مسمومیت با داروهای بی‌حسی موضعی محسوب می‌شوند (Rothschild et al., 2010). همچنین نویددهنده یک پادزهر مؤثر در کلاپس قلبی عروقی یا ایست قلبی در اثر مسمومیت با داروهای چربی دوست می‌باشند (Cave and Harvey, 2009; Rothschild et al., 2010). تأثیر امولسیون‌های لیپیدی برای درمان مسمومیت با طیف وسیعی از داروها شامل، بتابلوکرها، بلوکرهای کانال کلسیم، حشره‌کش‌ها، علف‌کش‌ها، و انواعی از داروهای روان‌گردان نشان داده شده است (Rothschild et al., 2010).

برخلاف اطلاعاتی که از طب انسانی وجود دارد، اطلاعات بسیار کمی در مورد ILE، برای تغذیه غیرخوراکی یا مدیریت مسمومیت‌ها در دامپزشکی وجود دارد. تعداد محدودی مقاله در این مورد در دام‌ها (گربه، سگ، خرگوش و خوک) به صورت مطالعات تجربی وجود دارد (Fernandez et al., 2011). اخیراً از ILE برای درمان مسمومیت‌های خاص در دام‌های کوچک استفاده شده است (Gwaltney-Brant and Meadows, 2012). اگرچه، بر اساس اطلاعات مؤلف تا کنون در مورد استفاده از ILE به عنوان تغذیه غیرخوراکی یا پادزهر در نشخوارکنندگان گزارشی به چاپ نرسیده است. به عنوان یک کار مقدماتی، هدف این مطالعه بررسی اثرات انفوزیون وریدی امولسیون لیپیدی مشتق از سویا بر روی برخی از متغیرهای خونی در گوسفند به عنوان مدلی از نشخوارکنندگان بود.

۲-۱-۱ تجربه دوم

اثرات حاصل از تغییرات مقادیر انسولین خون و یا تغییر در پاسخگویی بافت‌ها به انسولین در روند بیماری‌زایی اختلالات متعدد در انسان و دام از جمله در بیماری دیابت ملیتوس به طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است. دیابت ملیتوس به دو شکل اتفاق می‌افتد. نوع ۱ دیابت که از آن به عنوان دیابت ملیتوس وابسته به انسولین نیز نام برده می‌شود، با ناتوانی پانکراس در تولید مقادیر کافی انسولین همراه بوده و با کاهش غلظت انسولین خون مشخص می‌شود (Daneman, 2006). دیابت ملیتوس نوع ۲ که از آن تحت عنوان دیابت ملیتوس غیر وابسته به انسولین نیز نام برده می‌شود عمدتاً در افراد چاق روی می‌دهد. در این نوع از دیابت، غده پانکراس ابتدا از کارکرد طبیعی برخوردار است ولی بافت‌ها نسبت به انسولین مقاوم هستند. در نتیجه، بافت‌های وابسته به انسولین، به خصوص کبد، عضلات و بافت‌های چربی توانایی خود را در متابولیسم گلوکز برای تولید انرژی از دست می‌دهند (Rolland and Broom, 2009). دیابت نوع

۲ در واقع یک اختلال چند عاملی است که پاتوفیزیولوژی آن با مقاومت به انسولین، اختلال در سنتز گلوکز توسط کبد و کاهش عملکرد سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس مشخص می‌شود (Mahler and Adler, 1999). این نوع از دیابت در نشخوارکنندگان بالغ همچون گوسفند نیز روی می‌دهد (Williams et al., 2004). در انسان طیف گسترده‌ای از اختلالات همچون چاقی بیش از حد، اختلالات چربی خون، پرفشاری خون، فراوانی ابتلا به روندهای عفونی، بیماری‌های عروق اکلیلی قلب، افزایش ابتلا به سرطان، تنش‌های اکسیداتیو، آندوتوکسمی و روندهای التهابی از جمله مواردی هستند که در آن‌ها کاهش پاسخگویی بافت‌ها به انسولین و کاهش ورود وابسته به انسولین گلوکز به بافت‌ها به عنوان عامل خطر بااهمیتی تلقی شده است (Kronfeld et al., 2005). اختلالات متعدد تقریباً مشابهی در تک سمی‌ها به ویژه چاقی موضعی یا عمومی، سندرم هیپرلیپیمیای تک سمی‌ها (Hughes et al., 2004) و آماس بافت مورق سم (de Laat et al., 2010) از جمله مواردی هستند که مقاومت به انسولین را در ایجاد آن‌ها بااهمیت تلقی کرده‌اند (Kronfeld et al., 2005). در نشخوارکنندگان نیز اختلالات بااهمیتی همچون کتوزیس نوع ۲ در گاو، سندرم گاو چاق (Hayirli, 2006)، جابجایی شیردان (Cameron et al., 1998; Pravettoni et al., 2004; Winden and Kuiper, 2003) و توکسمی آبستنی در گوسفند (Henze et al., 1998) با تغییر در متابولیسم انسولین خون همراه هستند.

انسولین، علاوه بر اینکه تنظیم متابولیسم گلوکز را در بیشتر بافت‌های بدن بر عهده دارد، نقش عمده‌ای را هم در متابولیسم چربی‌ها ایفا می‌کند و موجب افزایش سنتز اسیدهای چرب، عمدتاً در کبد، و ذخیره آن به صورت تری گلیسرید در بافت‌های چربی می‌شود (Stumvoll et al., 2005). در عضلات، انسولین باعث تبدیل گلوکز به گلیکوژن می‌شود، به این صورت که با میانجی‌گری انسولین، گلوکز توسط GLUT4[1] (انتقال‌دهنده گلوکز) وارد سلول‌های عضلانی می‌شود و توسط آنزیم هگزوکیناز ۲ به گلوکز ۶-فسفات تبدیل می‌شود، سپس تبدیل به UDP-glucose (یوریدین دی فسفات گلوکز)[2] شده و در نهایت توسط آنزیم گلیکوژن سینتاز تبدیل به گلیکوژن می‌شود و در عضلات ذخیره می‌گردد. در کبد گلوکز از مسیر دیگری نیز تبدیل به گلیکوژن می‌شود که در آن نیز انسولین نقش مهمی را ایفا می‌کند. در اختلالات متابولیسمی چربی‌ها، از جمله در هیپرلیپیدمی که توأم با افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد خون است، فعالیت تحریکی انسولین بر روی انتقال گلوکز به درون میوسیت‌ها و هپاتوسیت‌ها کاهش می‌یابد که

[1] . Glucose transporter-4
[2] . Uridine diphosphate glucose

مکانیسم احتمالی آن در عضلات، افزایش متابولیت‌های چربی از جمله آسیل کوآنزیم A و دی‌آسیل گلیسرول در داخل سلول‌های عضلانی و متعاقب آن فعال شدن مسیر سرین/ترئونین کیناز است که منجر به کاهش فعالیت تحریکی انسولین از طریق فسفوریله شدن سرین/ترئونین سوبسترای گیرنده انسولین (IRS_1)[1] می‌شود (Shulman, 2000). مکانیسم مشابهی هم در مقاومت به انسولین هپاتوسیت‌ها رخ می‌دهد، به این صورت که افزایش متابولیت‌های چربی از جمله دی‌آسیل گلیسرول منجر به فعال شدن پروتئین کیناز C می‌شود که آن هم فعالیت تحریکی انسولین از طریق فسفریلاسیون تیروزین را روی سوبسترای گیرنده انسولین (IRS_2)[2] کاهش می‌دهد، بدین ترتیب گلوکز کمتری وارد این سلول‌ها شده و گلیکوژن کمتری هم تولید می‌شود (Lewis et al., 2002; Morino et al., 2006; Shulman, 2000). با مکانیسمی که در بالا ذکر شد، افزایش NEFA باعث به وجود آمدن مقاومت به انسولین می‌شود که در این حالت انسولین توانایی خود را در مهار لیپاز حساس به هورمون (HSL)[3] از دست می‌دهد و NEFA بیشتری از بافت چربی آزاد می‌شود و در ادامه چرخه معیوبی شکل می‌گیرد (Lewis et al., 2002).

با توجه به نقش انسولین در ایجاد اختلالات متعدد در انسان، در طی سالیان متمادی تحقیقات بی‌شماری در این رابطه به عمل آمده است و همچنین از انواع حیوانات آزمایشگاهی در نشان دادن کم و کیف و چگونگی این تغییرات و عواقب حاصل از آن استفاده شده است. همچنین، تحقیقات گسترده‌ای برای درمان اختلالات وابسته به انسولین در انسان و حیوانات آزمایشگاهی به عمل آمده است. در اسب نیز تحقیقات متعددی در رابطه با سندرم متابولیک که مقاومت به انسولین از ارکان اصلی در آن است صورت گرفته است (Frank et al., 2010; Philip J, 2002). با این وجود، هنوز نقش غده پانکراس و ترشحات بخش درون‌ریز آن از جمله انسولین در دام‌های بزرگ به ویژه در نشخوارکنندگان چندان مورد بررسی قرار نگرفته است. جهت مطالعه نقش انسولین در ایجاد اختلالات مذکور، معمولاً از القای دیابت توسط استرپتوزوتوسین در حیوانات آزمایشگاهی (Al-Qattan et al., 2008; Eidi et al., 2006; Junod et al., 1969; Lenzen, 2008) و گوسفند (Dickinson et al., 1991; Dickinson et al., 1998) یا ایجاد مقاومت به انسولین از طریق تزریق کورتیکواستروئیدها استفاده می‌شود (Holness and Sugden, 2001; Sternbauer et al., 1998b). برای ایجاد مقاومت به انسولین در اسب از دگزامتازون (Tiley et al., 2007) و در گوساله از

[1] . Insulin receptor substrate-1
[2] . Insulin receptor substrate-2
[3] . Hormone sensitive lipase

کلنبوترول (Sternbauer et al., 1998a) و فلومتازون (Sternbauer et al., 1998b) استفاده شده است. در مطالعه‌ای نشان داده شده است که با تزریق امولسیون چربی دامی در گاو می‌توان هیپرلیپیدمی شدید و مقاومت به انسولین ایجاد کرد (Mashek et al., 2005; Pires et al., 2007b). با این حال، جزئیات ارتباط متقابل بین تغییرات انسولین و پاسخ‌های آندوکرین و همچنین تغییرات ایجادشده در متابولیت‌های مختلف خون در دام‌های بزرگ چندان مورد توجه قرار نگرفته است. از طرف دیگر، هنوز راهکار موثر و مفیدی در درمان دارویی سندرم‌های وابسته به مقاومت به انسولین چه در شکل تجربی یا طبیعی آن در دام‌ها ارائه نشده است. در طب انسانی برای درمان مقاومت به انسولین و دیابت نوع ۲، در کنار مدیریت تغذیه‌ای و تحرک فیزیکی فرد مبتلا، فرآورده‌های دارویی حساس کننده به انسولین مانند مت‌فورمین و داروهای افزاینده ترشح انسولین همچون گلی‌بنکلامید به شکل رایج مورد استفاده قرار می‌گیرند (Mahler and Adler, 1999; Srinivasan et al., 2008). در تک سمیان مبتلا به سندرم متابولیک، تاکنون تنها مت‌فورمین و لووتیروکسین مورد بررسی قرارگرفته‌اند ولی هنوز شواهد قطعی و علمی در استفاده از آن‌ها بسیار اندک است (Frank et al., 2010). در نشخوارکنندگان نیز تاکنون تحقیقات مدونی در این راستا به عمل نیامده است. در گاو نشان داده شده است که افزودن کرومیوم به جیره تحمل گلوگز و پاسخگویی انسولین را بهبود می‌بخشد (Hayirli et al., 2001; Ott and Kivipelto, 1999).

در رت هم نشان داده شده است که استفاده از سیر و انواع فرآورده‌های آن سبب افزایش حساسیت به انسولین می‌شود (Liu et al., 2005). سیر یکی از گیاهانی است که تحقیقات فراوانی در مورد اثرات مفید آن صورت گرفته است. ترکیبات ارگانوسولفوره موجود در سیر که بوی خاص سیر را ایجاد می‌کنند، مسئول اثرات درمانی مختلف حاصل از سیر نیز هستند. تقویت وضعیت آنتی‌اکسیدانی؛ کاستن از اکسیداسیون LDL؛ کاستن از تجمع پلاکت‌ها؛ پیشگیری از آترواسکلروزیس، هیپرلیپیدمی، ترمبوز؛ افزودن خواص الاستیک عروق خونی؛ کاهش فشارخون و عوارض قلبی عروقی در بیماران دیابتی، از جمله اثرات مفید نسبت داده‌شده به سیر و فرآورده‌های مختلف آن هستند (Afzal et al., 2000). در مطالعات متعددی نشان داده شده است که سیر موجب کاهش کلسترول تام سرم، LDL، VLDL و تری گلیسیریدها می‌شود (Chi et al., 1982; Durak et al., 2004; Jain et al., 1993; Warshafsky et al., 1993) و از طریق مهار آنزیم HMG-CoA reductase (آنزیمی که در بیوسنتز کلسترول نقش دارد) اثر آنتی‌هیپرلیپیدمیک اعمال

می‌کند (Merat and Fallalizadeh, 1996) و چنین روندی ممکن است از جمله علل کاهش قابل‌توجه لیپیدهای خون توسط سیر باشد (Chi et al., 1982).

با توجه به مطالعات مذکور، این مطالعه برای نیل به اهداف زیر طراحی گردید:

۱. بررسی اثرات حاصل از تجویز امولسیون چربی بر مقادیر انسولین، کورتیزول و متابولیت‌های خون و ارتباط متقابل بین آن‌ها.

۲. مقایسه چگونگی ارتباط متقابل بین انسولین و کورتیزول و متابولیت‌های خون به دنبال تجویز عصاره هیدروالکلی سیر و امولسیون چربی.

۳. مطالعه ارزش تجویز عصاره هیدروالکلی سیر در مقابله با مقاومت به انسولین در هیپرلیپیدمی تجربی در گوسفند.

بنابراین در مطالعه حاضر، تغییرات متابولیکی و نحوه ارتباط متقابل آن‌ها در هیپرلیپیدمی تجربی ایجادشده با تزریق داخل وریدی امولسیون چربی (Lipovenoes 10% PLR) مورد بررسی قرار می‌گیرد و اثرات حاصل از انفوزیون هم‌زمان عصاره هیدروالکلی سیر بر هیپرلیپیدمی ایجادشده ارزیابی می‌شود.

فصل دوم

کلیات

Review of literature

۱-۲ دیابت ملیتوس

دیابت ملیتوس، سندرم نقص در متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است که با کاهش ترشح انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها نسبت به انسولین همراه است.

سازمان بهداشت جهانی (WHO)[1] در سال ۱۹۸۰ بر مبنای توصیه‌های گروه داده‌های ملی دیابت ایالات‌متحده آمریکا (NDDG)[2] یک طبقه‌بندی از دیابت ملیتوس پیشنهاد کرد. این طبقه‌بندی بازبینی‌شده در سال ۱۹۸۵ نشان‌دهنده پیشرفت‌های دانش مربوط به اتیولوژی و پاتوژنز دیابت بود. اصطلاحات توصیفی دیابت *جوانان* و *بالغین* منسوخ‌شده و به ترتیب با دیابت وابسته به انسولین[3] و غیر وابسته به انسولین[4] جایگزین شدند. انجمن دیابت آمریکا (ADA)[5] در سال ۲۰۱۱ انواع دیابت را به صورت زیر طبقه‌بندی کرده است:

۱-۱-۲ دیابت نوع ۱

قبلاً دیابت وابسته به انسولین نامیده می‌شد. در اثر آسیب به سلول‌های بتای پانکراس یا بیماری‌هایی که تولید انسولین را مختل می‌کنند، به وجود می‌آید. عفونت‌های ویروسی یا اختلالات خود ایمن می‌توانند منجر به تخریب سلول‌های بتا شوند. البته وراثت هم نقش مهمی را در حساسیت سلول‌های بتا به تخریب توسط این عوامل دارد.

دیابت ملیتوس نوع ۱ در یک دوره بسیار کوتاهی با ۳ عارضه اصلی همراه است که عبارت‌اند از: افزایش غلظت گلوکز خون، افزایش مصرف چربی‌ها برای تولید انرژی و افزایش تشکیل کلسترول در کبد و تخلیه پروتئین‌های بدن. از عوارض دیگر آن می‌توان به افزایش دفع گلوکز در ادرار، دهیدراتاسیون، آسیب بافتی در اثر افزایش مزمن گلوکز خون و افزایش مصرف چربی‌ها و اسیدوز متابولیک اشاره کرد.

۲-۱-۲ دیابت نوع ۲

قبلاً دیابت غیر وابسته به انسولین نامیده می‌شد. با کاهش حساسیت بافت‌های هدف به اثرات متابولیک انسولین همراه است. این کاهش حساسیت، مقاومت به انسولین نامیده می‌شود. تأثیر اصلی کاهش

[1] . World Health Organization (WHO)
[2] . US National Diabetes Data Group (NDDG)
[3] . Dependent diabetes mellitus (DDM)
[4] . Non independent diabetes mellitus (NIDDM)
[5] . American Diabetes Association (ADA)

ترشح انسولین یا مقاومت به انسولین بر متابولیسم گلوکز خودنمایی می‌کند که مانع از دریافت و مصرف مناسب گلوکز توسط اکثر بافت‌های بدن غیر از سلول‌های مغزی می‌شود. در نتیجه غلظت گلوکز خون افزایش پیداکرده و مصرف آن توسط سلول‌ها به شدت افت می‌کند و به جای گلوکز، پروتئین و چربی مصرف می‌شود.

۲-۱-۳ نقص ژنتیکی سلول‌های بتا

این شکل از دیابت با ایجاد هیپرگلیسمی در سنین پایین مشخص می‌شود. در این حالت ساخته‌شدن انسولین مواجه با مشکل بوده، ولی کارکرد انسولین طبیعی یا دارای نقص اندکی است. این شکل ارثی بوده و صفت اتوزومی غالب در پدید آمدن آن نقش دارد.

۲-۱-۴ نقص ژنتیکی در کارکرد انسولین

ناهنجاری‌های متابولیک وابسته به جهش گیرنده‌های انسولین ممکن است از هیپرانسولینمی و هیپرگلیسمی خفیف تا دیابت شدید را شامل شوند. در گذشته این شکل از دیابت مقاومت به انسولین نوع A گفته می‌شد.

۲-۱-۵ دیابت پانکراس اگزوکرین

هر فرایندی که به گستردگی به پانکراس آسیب بزند می‌تواند سبب ایجاد دیابت شود. از جمله چنین فرایندهای اکتسابی می‌توان به پانکراتیت، تروما، عفونت، پانکراتکتومی و کارسینومای پانکراس اشاره کرد. به جز کارسینوما، در موارد دیگر آسیب پانکراس باید گسترده‌تر باشد تا به دیابت بینجامد. در این حالت، فیبروز سیستیک و هموکروماتوز به سلول‌های بتا آسیب زده و ساخته‌شدن انسولین را مختل می‌کنند.

۲-۱-۶ آندوکرینوپاتی‌ها

بسیاری از هورمون‌ها، از جمله هورمون رشد، کورتیزول، گلوکاگون، اپی‌نفرین با کارکرد انسولین اثر آنتاگونیستی دارند. مقادیر بالای این هورمون‌ها (که به ترتیب در آکرومگالی، سندرم کوشینگ، گلوکاگونوما، و فوکروموسیتوما[1] دیده می‌شوند) می‌توانند به دیابت منجر شوند.

[1]. Pheochromocytoma

۲-۱-۷ دیابت القا شده با داروها یا مواد شیمیایی

بسیاری از داروها می‌توانند ساخته‌شدن انسولین را مختل کنند. این داروها خود باعث ایجاد دیابت نمی‌شوند، ولی می‌توانند دیابت را در کسانی که مقاومت به انسولین دارند تسریع کنند. زهرابه‌هایی همچون واکور[1] و پنتامیدین داخل وریدی می‌توانند به صورت پایدار سلول‌های بتا را تخریب کنند. داروها و هورمون‌های بسیاری نیز مانند نیکوتین و گلوکوکورتیکوئیدها وجود دارند که کارکرد انسولین را مختل می‌کنند.

۲-۱-۸ عفونت‌ها

برخی از ویروس‌ها می‌توانند به طور همیشگی سلول‌های بتا را تخریب کنند. در این دسته می‌توان ویروس‌هایی مانند کوکساکی‌ویروس B[2]، سیتومگالوویروس و آدنوویروس را نام برد.

۲-۱-۹ اشکال غیرمعمول دیابت با واسطه‌ی ایمنی

در این دسته، دو حالت شناخته‌شده وجود دارد. سندرم استیفمن[3] یک اختلال خود ایمن در سیستم اعصاب مرکزی است که با خشکی عضلات مهره‌ای و اسپاسم دردناک مشخص می‌شود. نزدیک به یک سوم این بیماران مبتلا به دیابت می‌شوند. پادتَن‌های ضد گیرنده‌های انسولین می‌توانند با پیوند به گیرنده‌های انسولین در بافت‌های هدف، دیابت ایجاد کنند. این پادتَن‌ها گاهی در بیماران مبتلا به لوپوس اریتماتوز و دیگر بیماری‌های خود ایمن دیده می‌شوند. در گذشته، این نوع از دیابت به نام مقاومت به انسولین نوع B گفته می‌شد (American Diabetes Association, 2011).

۲-۲ دیابت ملیتوس نوع ۲

بسیار معمول‌تر از نوع ۱ می‌باشد و تقریباً ۹۰٪ تمام موارد ابتلا به دیابت را شامل می‌شود. در اکثر مواقع بعد از ۳۰ سالگی و اغلب هم بین ۵۰ تا ۶۰ سالگی اتفاق می‌افتد. البته در سالیان اخیر تعداد مبتلایان

[1] . Vacor
[2] . Coxsackievirus B
[3] . Stiff-man syndrome

با سن کمتر از ۲۰ سال هم رو به افزایش است و به نظر می‌رسد افزایش شیوع چاقی، مهم‌ترین عامل خطر در ایجاد دیابت نوع باشد.

۱-۲-۲ پاتوفیزیولوژی دیابت ملیتوس نوع ۲

دیابت نوع ۲ بر خلاف نوع ۱ آن با افزایش غلظت پلاسمایی انسولین (هیپرانسولینمی) همراه است. این حالت به دلیل اثرات جبرانی سلول‌های بتا برای کاهش پاسخگویی بافت‌های هدف به انسولین اتفاق می‌افتد (Stumvoll et al., 2005).

دیابت نوع ۲ در واقع یک اختلال چند عاملی است که پاتوفیزیولوژی آن با مقاومت به انسولین، اختلال در سنتز گلوکز توسط کبد و کاهش عملکرد سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس در ارتباط است (Mahler and Adler, 1999). کاهش ترشح انسولین که کمبود نسبی انسولین را به همراه دارد با مقاومت به انسولین هم همراه خواهد شد. فاکتورهای ژنتیکی نقش مهمی در پاتوژنز NIDDM دارند. عوامل محیطی مثل چاقی، فعالیت جسمانی و تغذیه هم نقش بسیار مهمی در به وجود آمدن این اختلال دارند (Jun et al., 1999). به طور کلی بیماران مبتلا از ۲ اختلال متابولیکی معمول رنج می‌برند:

۱- مقاومت به انسولین
۲- نقص در ترشح انسولین وابسته به گلوکز

۱-۱-۲-۲ استعداد ژنتیکی در NIDDM

به طور کلی NIDDM به عنوان یک بیماری ژنتیکی شناخته شده است. اگرچه نحوه به ارث رسیدن و تعداد ژن‌های مسئول آن هنوز به درستی شناخته نشده است. تعدادی از ژن‌هایی که می‌تواند در این بیماری مؤثر باشد عبارت‌اند از:

ژن‌هایی که مسئول نقص در ترشح انسولین هستند:

۱- ژن انسولین[1]
۲- ژن حمل‌کننده گلوکز- ۲[2]

[1] . Insulin gene
[2] . Glucose transporter-2 gene