

## بررسی پارامترهای هماتولوژیک در موش‌های صحرایی ماده دیابتی شده با استرپتوزوسین

محمد رضا شهرکی<sup>\*</sup>، حمیده میرشکاری<sup>۱</sup>، الهام شهرکی<sup>۱</sup>، احمد رضا شهرکی<sup>۲</sup>

### چکیده

مقدمه: کم خونی، به ویژه در بیماران مبتلا به نفروپاتی، با دیابت همراهی دارد. از آنجا که بعضی گزارش‌ها بر این دلالت می‌کنند که کم خونی ممکن است در غیاب نفروپاتی هم مشاهده شود، در این مطالعه اثر دیابت نوع ۱ بر کمیت‌های هماتولوژیک، در موش‌های صحرایی ماده دیابتیک شده با استرپتوزوسین مورد بررسی قرار گرفت.

روش‌ها: در این مطالعه ۱۵ سر موش صحرایی ماده، بالغ (Virgin) از نژاد Wistar-albino انتخاب و کمیت‌های هماتولوژیک آنها از جمله: گلبول‌های سفید، قرمز، پلاکت‌ها، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV, MCH, MCHC و قند خون اندازه‌گیری شد. سپس تمام حیوانات با دوز ۶۵ mg / kg(IP) استرپتوزوسین دیابتی شدند و کمیت‌های فوق پس از ۴۵ روز مجدداً اندازه‌گیری شد. اطلاعات بدست آمده با نرم افزار رایانه‌ای SPSS و تست آماری Paired- T test آنالیز گردید. نتایج حاصل به صورت Mean±SD در جداول آماری گزارش و اختلافات آماری با  $P < 0/05$  معنی دار تلقی گردید. یافته‌ها: نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که کمیت‌های هماتولوژیک از جمله: تعداد گلبول‌های سفید، قرمز، پلاکت‌ها، هموگلوبین، هماتوکریت، MCV, MCHC و MCH نسبت به قبل از دیابتیک شدن کاهش و مقدار قند خون افزایش معنی داری را نشان می‌دهد.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در حیوانات مبتلا به دیابت نوع ۱ القا شده با استرپتوزوسین، کمیت‌های هماتولوژیک کاهش می‌یابد که سازوکار دقیق آن نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

واژگان کلیدی: دیابت، گلبول‌های قرمز، گلبول‌های سفید، هموگلوبین، آنمی

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان  
۲- دانشکده پزشکی، مرکز پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی

\*نشانی: زاهدان، بزرگراه خلیج فارس، روبروی بیمارستان علی ابن ابیطالب، مجتمع پزشکی پردیس، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی، کد پستی: ۴۳۱۷۵-۹۸۱۶۷، تلفن: ۵-۳۴۱۴۵۵۲-۰۵۴۱، ۰۹۱۵۳۴۱۵۶۰۸، نمابر: ۰۵۴۱-۳۴۱۴۵۶۳، پست الکترونیک: mshahrakim@yahoo.com

## مقدمه

بیماری دیابت نقش مؤثری در پاتوفیزیولوژی بیماری‌های شایع انسان از جمله: بیماری‌های قلبی عروقی و فشار خون ایفا می‌کند [۱-۳]. عوارض دیابت در جوامع مختلف به یکی از معضلات بهداشتی تبدیل شده است [۴-۶]. چنین پیش بینی می‌شود که تعداد مبتلایان به این بیماری تا سال ۲۰۱۰ از ۱۵۰ میلیون به ۲۲۱ میلیون نفر افزایش یابد [۶]. ابتلا به این بیماری، گذشته از عوارض قلبی عروقی، سایر عوارض شناخته شده اختلال عملکرد کلیه و کم خونی را نیز در پی دارد [۷]. Subbiah و همکاران گزارش کردند که در حیوانات دیابتی، سطح هموگلوبین تام کاهش می‌یابد که خود نشانه آنمی می‌باشد [۸]. Nuria و همکاران در مطالعه‌ای دیگر نشان دادند که کم خونی خطرناک بیشتر در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱ دیده می‌شود [۹]. شواهد تجربی نشان می‌دهد که در بیماران مبتلا به دیابت حتی، در غیاب نفروپاتی، میزان هموگلوبین کاهش یافته و علایم آنمی ظاهر می‌شود، در صورتی که دیگر سلول‌های خونی از جمله لوکوسیت‌ها تغییر معنی داری نشان نمی‌دهند [۱۰]. تعدادی از مطالعات نشان می‌دهند که در بیماران دیابتی، آنمی پس از ظهور علایم نفروپاتی در این بیماران تظاهر نموده و آنمی در نفروپاتی دیابتی سریع‌تر از آنمی حاصل از سایر نفروپاتی‌ها خودنمایی می‌کند، ضمن این‌که این آنمی با کاهش میزان اریتروپوئیتین سرم نیز همراه است [۱۱-۱۳]. همچنین گزارش شده است که در بیماران دیابتی عمل گلبول‌های سفید به ویژه نوتروفیل مختل و این امر زمینه را برای ابتلا به عفونت مهیا می‌نماید [۱۴]. به علاوه بررسی‌های دیگر نشان می‌دهند که در بیماران مبتلا به دیابت، فعالیت تعدادی از آنزیم‌های مسیر بیوستتر Hem از جمله دو آنزیم: آمینولولونیک اسید دهیدروژناز<sup>۱</sup> و پروفوبیلینوژن دامیناز<sup>۲</sup> که دو آنزیم مهم در مسیر سنتز هم می‌باشند، کاهش می‌یابد [۱۵ و ۱۶]. با توجه به مطالعات ارائه شده فوق و به ویژه درگیر شدن و مختل شدن دو آنزیم آمینولولونیک اسید دهیدروژناز و

پروفوبیلینوژن دامیناز در مسیر Hem و اظهار نظرهای مختلف در مورد بروز کم خونی ناشی از دیابت، در مطالعه حاضر کمیت‌های های هماتولوژیک در موش‌های صحرایی ماده دیابتیک شده با استرپتوزوسین بعد از ۴۵ روز مورد بررسی قرار گرفته است.

## روش‌ها

این مطالعه تجربی از نوع بنیادی کاربردی است و جمعیت مورد مطالعه، ۱۵ سر موش صحرایی ماده از نژاد Wister-Albino در محدوده وزنی ۲۰۰-۱۶۰ گرم بودند [۱۷ و ۱۸] که پس از توزین (با ترازوی GOTTL.KERN&SOHN ساخت ژاپن) هر حیوان در یک قفس مجزا قرار گرفت. حیوانات مورد بررسی در شرایط ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داشتند، درجه حرارت اتاق نگهداری ۲۴±۲ درجه سانتیگراد بود و حیوانات مورد بررسی دسترسی کامل به آب و غذا داشتند. پس از یک هفته خوگیری، تمام حیوانات مورد بررسی در شرایط گرسنگی شبانه با اتر (مرک آلمان) عمیقاً بیهوش و از ورید دمی آنها خون‌گیری جهت اندازه‌گیری پارامترهای هماتولوژیک (گلبول‌های سفید، قرمز، پلاکتها، هموگلوبین، هماتوکریت، MCHC، MCV و MCH) و قند انجام گرفت. پس از ۵ روز، تمام حیوانات مورد بررسی با دوز ۶۵ mg/kg استرپتوزوسین به صورت داخل صفاقی [۸ و ۱۷] دیابتیک شدند، به مدت یک هفته رفتار تغذیه‌ای حیوانات از جمله پر خوری، پر نوشی و پر اداری مد نظر قرار گرفت، جهت حصول اطمینان در پایان یک هفته مجدداً تمام حیوانات مورد بررسی با اتر بیهوش و در شرایط گرسنگی شبانه خون‌گیری جهت اندازه‌گیری قند خون انجام گرفت. حیوانات مورد بررسی بدون هیچ پروتکل درمانی به مدت ۴۵ روز با دسترسی کامل به آب و غذای تحت نظر بودند [۱۷]. در پایان دوره آزمایش و در شرایط گرسنگی شبانه، تمام حیوانات مورد بررسی، عمیقاً با اتر بیهوش و با قطع وریدهای گردن، خون‌گیری از هر حیوان جهت اندازه‌گیری شاخص‌های مورد نظر انجام شد. بر روی نمونه خون ناشتا: اندازه‌گیری گلبول‌های سفید، قرمز، پلاکتها، MCH، MCHC، MCV

1- Amino levulinic acid dehydratase

2 -Porphobilinogen deaminase

## یافته‌ها

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که پارامترهای هماتولوژیک از جمله: تعداد گلبول‌های قرمز، هماتوکریت، هموگلوبین، MCV، MCHC، گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها در موش‌های صحرایی ماده بالغ دیابتیک شده با استرپتوزوسین پس از ۴۵ روز بدون دریافت هیچ پروتکل درمانی کاهش معنی داری نسبت به قبل از دیابتیک شدن داشت، ضمن این که قند خون این حیوانات نسبت به قبل از دیابتیک شدن افزایش معنی داری نشان می‌دهد (جدول ۱).

، هموگلوبین، هماتوکریت و MCHC با استفاده از دستگاه Diatron مدل ABACUS -c (ساخت اتریش) به صورت خودکار اندازه گیری شد و قند خون با استفاده از کیت‌های شرکت پارس آزمون به روش گلوکز اکسیداز و بصورت یک سوکور اندازه گیری شد. لازم به ذکر است، حیواناتی وارد بررسی شدند که اولاً قند خون آنها بیشتر از ۱۰۰/۲۰۰ mg بود و حیوانات ماده بار دار از مطالعه حذف شدند. اطلاعات بدست آمده با نرم افزار رایانه‌ای SPSS ویراش ۱۱ و تست آماری Paired- T test آنالیز گردید. نتایج حاصل به صورت Mean±SD در جداول آماری گزارش گردید. اختلافات آماری با  $P < 0/05$  معنی دار تلقی شده است.

جدول ۱- میانگین پارامترهای هماتولوژیک و قند خون در موش‌های صحرایی ماده قبل و بعد از ۴۵ روز ابتلا به دیابت نوع ۱ (القاء شده با استرپتوزوسین)

پارامترهای مورد بررسی	قبل از دیابتی شدن	بعد از دیابتی شدن
تعداد گلبول‌های سفید (هزار)*	۸۶۴۰±۴۶۳	۶۸۷۰±۶۵۱
تعداد گلبول‌های قرمز (میلیون)*	۹±۰/۵	۶/۳±۰/۲
تعداد پلاکت (هزار)*	۷۹۰/۴±۴۴	۵۳۸/۸±۶۱/۲
هموگلوبین (gr/dl)*	۱۶/۴±۰/۶	۱۲/۸±۰/۴
هماتوکریت (%)*	۴۹/۵±۲	۳۳/۸±۱/۴
مقدار MCV*	۵۸/۳±۱	۵۳/۸±۰/۵
مقدار MCH**	۲۰/۴±۰/۴	۱۹±۰/۸
مقدار MCHC*	۳۸/۱±۰/۴	۳۳/۳±۰/۲
قند mg/ml*	۸۴/۴±۴	۲۳۳±۲۳/۶

Mean±SE ††مقادیر± نشانگر

\*\* معنی دار نبود  $P < 0/05$

‡ براساس آزمون مورد استفاده Paired t-test

\* معنی دار بود  $P < 0/05$

§ n= ۱۵ تعداد حیوانات مورد بررسی

## بحث

نتایج بررسی حاضر با مطالعه Subbiah و همکاران اثر آلوورا بر بهبود عوارض ناشی از دیابت را بررسی نمودند [۸] هم خوانی دارد، بطوری که در هر دو مطالعه میزان هموگلوبین نسبت به حیوان سالم کاهش معنی داری نشان می‌دهد، ضمن این که جنسیت و مدت زمان ابتلای به بیماری در حیوانات مورد بررسی در دو مطالعه متفاوت بوده است. نتایج حاصل از این بررسی با مطالعه Kathrine J و همکاران که کم خونی ناشی از ابتلای به

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در موش‌های صحرایی ماده دیابتیک شده با استرپتوزوسین (دیابت نوع ۱) که هیچ پروتکل درمانی نداشتند، کمیت‌های مورد بررسی از جمله: تعداد گلبول‌های قرمز، درصد هماتوکریت، مقادیر هموگلوبین، MCV، MCHC، MCH، تعداد گلبول‌های سفید و پلاکت‌ها نسبت به حالت نرمال کاهش معنی داری پیدا کرده بود. بعضی از

موجب افت تولید اریتر و پوئین از سایر منابع شده باشد و از این طریق توانسته است کمیت‌های هماتولوژیک مورد بررسی را کاهش دهد. همچنین در بررسی حاضر، نشان داده شد که تعداد گلبول‌های سفید حیوانات مورد بررسی پس از ابتلا به دیابت نسبت به قبل آن کاهش معنی داری دارد. نتایج این بخش از بررسی با مطالعه Ohaeri و همکاران که اثر روغن سیر بر دیابت را مطالعه نمود، مطابقت دارد، به طوری که گزارش شد [۱۳] روغن سیر در حیوانات دیابتیک شده موجب افزایش تعداد گلبول‌های سفید می‌شود (پس می‌توان گفت که به دنبال ابتلای به دیابت، گلبول‌های سفید کاهش یافته‌اند و روغن سیر منجر به بهبود این وضعیت شده است). هرچند در بررسی Ohaeri و همکاران، علت کاهش گلبول‌های سفید در پی ابتلا به دیابت توجیه نشده و هدف آنها درمان عوارض ناشی از دیابت بوده است، ولی بر اساس نتایج Alba-Loureiro و همکاران، بیماران دیابتی به دنبال اختلال در متابولیسم گلوکز و گلوتامین که بیشتر مورد استفاده نوتروفیل‌ها هستند، عمل و متابولیسم گلبول‌های سفید نوتروفیل نیز تغییر می‌کند [۱۴]. با توجه به این گزارش، این احتمال وجود دارد که در سلول‌های ریشه‌ای چند پتانسیلی موجود در مغز استخوان نیز این اختلال رخ داده و در نتیجه تولید کلیه سلول‌های خونی از جمله گلبول‌های سفید، قرمز، پلاکت‌ها و اجزای وابسته به آن دچار اختلال شده باشد.

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که در موش‌های صحرایی مبتلا به دیابت نوع ۱ القا شده با استرپتوزوسین و در مراحل اولیه نیز ممکن است کمیت‌های هماتولوژیک کاهش یابد و علت آن احتمالاً اختلالی است که در متابولیسم گلوکز رخ داده است و سازوکار دقیق آن نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

### سپاسگزاری

با تشکر از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی زاهدان که زمینه انجام طرح را مهیا نمودند و با تشکر از آقای دکتر سروش دبیری که در انجام تست‌های مورد بررسی اهتمام کامل داشتند.

دیابت در مبتلایان به این بیماری، در مراحل اولیه و زودتر از بروز نفروپاتی کلیوی قابل مشاهده است [۱۰] نیز همخوانی دارد، چون در مطالعه حاضر پس از ۴۵ روز شاخص‌های هماتولوژیک از جمله، هموگلوبین حیوانات مورد بررسی نسبت به قبل از ابتلای به دیابت کاهش معنی داری نشان می‌دهد و به نظر نمی‌رسد در این مدت کوتاه، حیوانات مورد مطالعه دچار عارضه نفروپاتی شده باشند (هرچند ما در این بررسی هیچ شاخصی از نفروپاتی را اندازه‌گیری نکردیم). علت کم خونی حیوانات دیابتیک شده در این بررسی را این‌گونه می‌توان توجیه کرد، که در حیوانات مورد بررسی به دنبال تخریب یاخته‌های بتای پانکراس توسط استرپتوزوسین، ورود قند خون به بافت عضلانی و چربی مختل شده و قند خون افزایش می‌یابد و به دنبال این اختلال، ممکن است حیوانات مورد بررسی دچار عارضه نوروپاتی سمپاتیکی شده باشند [۱۸]، که این امر منجر به کاهش ترشح میزان نور اپی نفرین و اپی نفرین از انتهای این اعصاب بر دستگاه مجاور کلافی کلیه، به ویژه سلول‌های ترشح‌کننده اریتر و پوئین می‌گردد. حذف اثر کاتکولامین‌ها بر دستگاه مجاور کلافی موجب کاهش ترشح اریتر و پوئین، می‌گردد و از این طریق تولید گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و سایر کمیت‌های مورد مطالعه را تحت تاثیر قرار داده و موجب افت آنها شده است (در این بررسی اریتر و پوئین اندازه‌گیری نشده است). همچنین می‌توان عنوان کرد که شاید اختلال تولید شده در متابولیسم گلوکز در این مدت زمان، توانسته است مستقیماً بر دستگاه مجاور کلافی کلیه صدمه زده و موجب افت ترشح اریتر و پوئین شده باشد و از این طریق توانسته است موجب کاهش کمیت‌های مورد بررسی شده باشد (هر چند عامل اصلی تحریک اریتر و پوئین هیپوکسی بافتی است). با توجه به این که منبع اصلی تولید اریتر و پوئین دستگاه مجاور کلافی کلیه است ولی حدود ده تا پانزده درصد این هورمون از منابع دیگر تامین می‌شود [۱۹]، بر همین اساس توجیه دیگری که برای کاهش کمیت‌های هماتولوژیک در این بررسی می‌توان آورد، این است که ممکن است در این حیوانات کاهش انسولین و به دنبال آن اختلال در متابولیسم گلوکز

ماخذ

1. Kasper , Braunwald , Fauci , longo , Harison *Principles of Internal medicine*, 16 th edition , volum II; Dennisl kasper , Nework : McGrow , H ill ; 2005: 2152-2179.
2. Hershel R. *Physiology secrets*. Hanley and Belfus. INC. Medical Publishers , 210 South 13 th Street. Philadelphia . PA 1910 . 1999; 203 – 202.
3. Y Shimoni, H S Ewart and D Severson. Typy I and II models of diabetes Produce different modifications of k+ Currents in rat heart : role of insulin. *J of Physiol* 1998; 507(2): 485-496.
4. D L Singh, M D Bhattarai. High Prevalence of diabetes and impaired Fasting glycaemia in Urban Nepal. *Diabet med* 2003; 20: 170-177.
5. Sasaki H, Kawasaki T, Ogaki T, Kobayashi S, Itoh K, Yoshimizu Y etal.Sasaki H, Kawasaki T, Ogaki T, etal. The Prevalence of diabetes mellitus and impaired fasting glucose / glycaemia (IFG) in suburban and rural Nepal – The communities-based cross- Sectional Study during the democratic movements in 1990 . *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 67(2): 167-79.
6. Tseng CH, Chong CK, Sheu JJ, Wu TH, Tseng CP. prevalence and risk Factors for stroke in Type 2 diabetic patients in Taiwan : a cross – Sectional survey of a national sample by telephone interview. *Diabet Med* 2005 ; 22(4) : 477 – 82 .
7. ج کاتروننگ ، برترام ، فارماکولوژی پایه و بالینی ، مترجم فتح الهی علیرضا، انتشارات ارجمند ، تهران ۱۳۸۰ ، ص ، ۷۳۱ – ۷۰۴ .
8. Subbiah Rajasekaran ,Karuran Sivagnanam , Sorimuthu Subramanian . Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in on streptozocin – induced diabetes in rats . *Pharmacological Reports* 2005; 57 : 90 -96 .
9. Nuria Alonso , M Luisa Granada , Isabel Salinas , and M Lucas . Serum Pepsinogen I : An Early Marker of Pernicious Anemia in Paitients With Type 1 Diabetes . the Journal of *Clinical Endocrinology Metabolism* 90. 2005; (9) : 52 54 – 52 58.
10. KathrineJ , CRAIG BSC (HONS ) , RN JOHND , Williams FRCP , Stephan G and Riley MD etal. Anemia and Diabetes in the Absence of Nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28(5) : 1118 – 1123 .
11. Thomas MC. Anemia in diabetes: Marker or mediator of microvasculardisease? *Nat Clin Pract Nephrol* 2007; 3(1): 20-30
12. Thomas MC, Tsalamandris C, Macisaac R, Jerums G. Functional erythropoietin deficiency in patients with type 2 diabetes and anaemia. *Diabet Med* 2006; 23(5): 502-9.
13. Bosman DR, Winkler AS, Marsden JT, Macdougall IC, Watkins PJ. Anemia with erythropoietin deficiency occurs early in diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 2001; 24: 495–499.
14. Alba- Loureior TC, Hirabara SM, Mendomca JR, Curi R, pithon-curi TC. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. 2006; 188(2):295-303.
15. Caballero , Gerez E ,Polo C , Mompo O, Vazquez E, Schultz R, Bernabo J and Batlle A. Changes in the hem metabolic pathway in diabetic patients. *Medicina* 1995; 55(2): 117-24.
16. Cesar F, Polo E S, Vazques EN, Gerez FA , Caballero and Alcira M, Del C and Batlle . STZ-induced diabetes in mice and heme pathway enzmes . Effect of Allylisopropylacetamide and a- tocopherol . *Chimico- Biological Interaction* 1995 ; 95(3) : 327- 334 .
17. جدید الاسلامی منیره، عباس نژاد، مهدی ، شهرکی محمد رضا. اثر عصاره آبی گیاه صبر زرد Aloe vera برقند و چربی های خون در موشهای صحرایی نر دیابتی. *مجله دیابت و لیپید ایران*. زمستان ۱۳۸۵؛ (شماره ۲): ۱۵۱-۱۴۳.
18. Ohaeri OC, Adoga GI. Anticoagulant modulation of blood cells and platelet reactivity by garlic oil in experimental diabetes mellitus. *Biosci Rep* 2006; 26(1): 1-6
19. Brenner BM, Levine SA. *Hematologic consequence of renal failure* In: Remuzzi G ed. *The Kidney*, 2000. Vol. 2, 6th edition. Boston: Saunders.

