مجله دیابت و لیپید ایران. بهار و تابستان ۱۳۸۳؛ دوره ۳ (شماره ۲): ۹۷-۱۰۵

مقاله پژوهشی

بررسی اثر کاتیون‌های فلزی Zn^{2+} , W^{6+}, V^{5+} بر میزان ترشح انسولین و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز در جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی

بیژن فرزامی[1*]، ابوالفضل گلستانی[2]، ایرج عجمی خیاوی[3]

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017

چکیده

مقدمه: دیابت قندی نوع ۱ با کاهش در تولید و ترشح انسولین از سلولهای بتای پانکراس همراه است. از طرفی افزایش ترشح انسولین نیز سبب تخریب سلولهای بتای پانکراس می‌شود که باعث پیدایش دیابت می‌گردد. بنابراین عواملی که باعث تعدیل ترشح انسولین می‌شوند از بروز دیابت جلوگیری خواهند نمود. متابولیسم گلوکز که با فعالیت آنزیم گلوکوکیناز آغاز می‌شود، ارتباط نزدیکی با ترشح انسولین دارد. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر کاتیون‌های روی، تنگستن و وانادیم بر ترشح انسولین و همچنین فعالیت آنزیم گلوکوکیناز که آنزیم کلیدی در ترشح انسولین می‌باشد، بوده است.

روشها: تعداد ۲۰ جزیره جدا شده از موشهای صحرایی سالم و دیابتی به‌طور جداگانه در هر لوله در محیط پرفیوژن استاتیک همراه با غلظت‌های متفاوت از هریک از کاتیون‌ها در مقابل گروه شاهد (بدون فلز) انکوبه شدند. میزان ترشح انسولین با روش IRMA اندازه‌گیری شد و فعالیت گلوکوکیناز از مایع رویی همگن جزایر سالم و دیابتی و گروههای شاهد بعد از انکوباسیون با روش اسپکتروفوتومتری سنجیده شد.

یافته‌ها: میزان ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس سالم و دیابتی در اثر وانادات و تنگستن افزایش و در اثر روی کاهش یافت. همچنین اثر روی بر فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کاهشی بود در حالی‌که تنگستن سبب افزایش فعالیت آنزیم گلوکوکیناز گردید ($P < ۰/۰۰۱$)، اما وانادات بر فعالیت گلوکوکیناز بی‌اثر بود.

نتیجه‌گیری: مهار ترشح انسولین توسط روی و تحریک ترشح آن توسط تنگستن به ترتیب با نتایج حاصل از اثر فلزات بر گلوکوکیناز همخوانی دارد. بنابراین مکانیسم اثر کاهش دهنده روی و افزایش دهنده تنگستن می‌تواند از طریق اثر بر آنزیم گلوکوکیناز باشد. اثر وانادات بر ترشح انسولین و نقش تحریکی آن ممکن است از طریق مکانیسم دیگری انجام گردد.

کلیدواژه‌ها: کاتیون‌های فلزی، گلوکوکیناز، انسولین، دیابت نوع ۱، پرفیوژن استاتیک

۱- استاد گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- استادیار گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* ***نشانی***: گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، صندوق پستی ۵۳۹۹-۱۴۱۵۵؛ تلفن/ نمابر: ۸۹۵۹۷۴۵؛ پست الکترونیک:bfarzami@neda.net

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017

مقدمه

دیابت قندی نوع I یک بیماری مزمن است که با کاهش پیشرونده در تولید و ترشح انسولین از سلولهای بتای پانکراس همراه است. متابولیسم گلوکز که با فعالیت آنزیم گلوکوکیناز و تولید گلوکز- ۶- فسفات آغاز می‌شود، ارتباط نزدیکی با ترشح انسولین دارد و از این آنزیم به عنوان حسگر گلوکز در سلولهای بافتهای کبد و پانکراس نام‌برده می شود. درک چگونگی کنترل و مکانیسم ترشح انسولین از سلولهای بتای پانکراس هم از نظر تئوری و هم از نظر عملی و درمانی دارای اهمیت است. تحقیقات نشان داده است که کاتیون های فلزی علاوه بر عملکردهایی مثل نقش کوفاکتوری برای برخی آنزیم‌ها و نقش ساختمانی در آنها و نیز نقش های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی متنوع، بر میزان ترشح انسولین نیز اثر دارند.

Zn^{2+} در سلولهای بتا در مراحل مختلف بیوسنتز، فرآوری و ذخیره انسولین دخالت دارد و انسولین تقریبا" در تمامی گونه‌ها در گرانول‌های دارای غشاء به فرم کریستال حاوی روی ذخیره می شود و هم انسولین و هم پروانسولین با روی ترکیب می‌شود و هگزامر می‌سازند. Zn^{2+} ترشح انسولین را از جزایر لانگرهانس تحریک شده با گلوکز،L- لوسین و پتاسیم به‌طور برگشت پذیر مهار می کند [۱-۳]. مشخص شده که مشتقات وانادیم یعنی وانادات (V^{5+}) و وانادیل (v^{4+}) در شرایط in vivo دارای خواص شبه‌انسولینی و ضددیابتی هستند.

مطالعات Fegi و همکارانش مشخص کرد که میزان ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس در شرایط in vitro در اثر وانادات افزایش می‌یابد در حالی‌که Vosse و همکارانش گزارشی مبنی بر کاهش ترشح انسولین و سنتز آن در اثر وانادات در جزایر لانگرهانس موشهای سالم و دیابتی ارائه نمودند [۴-۷]. در مورد اثر تجویز خوراکی تنگستن نیز گزارشهایی مبنی بر اصلاح قند خون و متابولیسم کبدی گلوکز در دیابت القا شده توسط استرپتوزوتوسین وجود دارد [۸، ۹]. با این‌حال در مورد اثر تنگستن در ترشح انسولین و همچنین اثر کاتیون‌های فوق بر فعالیت آنزیم گلوکوکیناز در شرایط in vitro گزارشی وجود ندارد. در این تحقیق به منظور شناسایی مکانیسم و نحوه اثر کاتیون‌های فلزاتی نظیر Zn^{2+}، W^{6+}، V^{5+} از روش پرفیوژن استاتیک استفاده شد و اثر تحریکی و مهاری یونهای فلزی فوق در ترشح انسولین و آنزیم گلوکوکیناز جزایر مورد بررسی قرار گرفت. جهت شناسایی اهمیت آنزیم فوق در مکانیسم اگزوسیتوز ترشح انسولین، رابطه ترشح انسولین و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز جزایر نیز بررسی گردید.

روشها

هپس (Hepes) و آلبومین گاوی BSA از شرکت روش (Roche)، استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) از شرکت سیگما (Sigma)، نوار گلوکویاب از شرکت باختر بیوشیمی، کیت گلوکز از شرکت زیست شیمی، کیت انسولین (Ins-IRMA) از شرکت Biosource، گلوکز-۶-فسفات دی‌هیدروژناز (GCPD)، ATP و NADP از شرکت روش، D-glucose و کوماسی بریلیانت بلو G-250 و یونهای فلزی از شرکت مرک (Merck) خریداری گردید. موشهای نر نژاد Wistar در محدوده وزنی ۲۵۰- ۳۰۰ گرم مورد استفاده قرار گرفتند. موشها در بخش نگهداری حیوانات در گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی تهران پرورش یافته بودند. درجه حرارت اتاق در (۲± ۲۲ °C) تنظیم گردید و شرایط ۱۲ ساعت تاریک/ روشن قبل از انجام آزمایش تأمین گردید.

جداسازی جزایر لانگرهانس با روش لیسی و کاستانیوفسکی (Lacy & Kastaniovsky) انجام گرفت. در این روش بعد از بیهوشی توسط اتر، شکم حیوان باز می‌شد و سپس از راه مجرای مشترک صفراوی ۱۵ میلی‌لیتر محلول هانکس تزریق می‌گردید. پانکراس متورم شده جدا و قطعات پانکراس در ۱۵ میلی‌لیتر محلول کربن- هپس وارد می‌شد. محتویات لوله به‌مدت یک دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ گردید، این عمل دو بار تکرار شد و سپس یک میلی‌لیتر محلول کربن- هپس حاوی ۵۰۰ واحد کلاژناز اضافه گردید. لوله‌ها در درجه حرارت ۳۷ درجه به مدت ۵ دقیقه به‌آرامی تکان داده شد و در این مدت هر ۳۰ ثانیه یک‌بار محتویات لوله بررسی گردید. زمانی‌که هیچ نوع رشته بافتی در محلول دیده نمی‌شد، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول کربن- کربس حاوی ۳۶٪ BSA اضافه

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017

گردید و سپس سه بار، هر بار به مدت یک دقیقه با دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. بعد از آخرین مرحله سانتریفوژ محلول رویی جدا شده، جزایر با روش دستچین کردن در زیر استریومیکروسکوپ در ظرف پتری زمینه سیاه به تعداد ۲۰ جزیره در هر مرحله جدا گردید و به لوله‌های سیلیکونیزه انتقال داده شد [۴-۱۳].

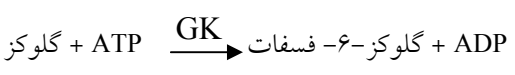
انکوباسیون جزایر لانگرهانس با کاتیون‌های فلزی، انکوباسیون در محلول کار هپس- BSA که حاوی ۰/۵٪ BSA و گلوکز ۲/۸ میلی مولار بود انجام گرفت. قدرت یونی محلول کار کرپس- هپس- BSA در محلولهای حاوی غلظت‌های مختلف فلز با در نظر گرفتن مقادیر افزایش فلز تعیین گردید و در این عمل قدرت یونی محلولها حفظ و ثابت شد. در هر آزمایش گروه شاهد بدون فلز تهیه گردید. لوله‌ها به‌مدت نیم ساعت در درجه حرارت ۲۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند و قرائت میزان انسولین در لوله‌ها در ابتدا و انتهای انکوباسیون انجام گرفت.

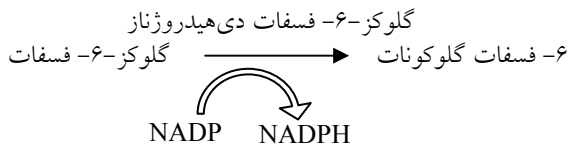
دیابتی کردن موشها با تزریق دوز ۶۰ mg/kg استرپتوزوتوسین به‌صورت درون صفاتی انجام گرفت [۱۴]. دیابتی شدن موشها با اندازه‌گیری گلوکز خون (<۲۰۰mg/dl)، گلوکوزوری، پلی‌اوری و پرنوشی تأیید گردید.

اندازه‌گیری انسولین با کیت INS- IRMA از شرکت Biosource و در مایع رویی محیط انکوباسیون جزایر در لوله‌های حاوی غلظت‌های مختلف فلز و در لوله‌های شاهد انجام گرفت.

برای سنجش فعالیت آنزیم گلوکوکیناز [۱۶-۱۵] از عصاره تازه جزایر لانگرهانس استفاده شد. جزایر در محیط بافر HEPES همگن شد و محلول همگن در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفوژ گردید و مایع رویی به‌دقت برداشته شد.

بررسی فعالیت آنزیم با استفاده از واکنش جفت‌شونده براساس واکنشهای زیر انجام گرفت:





سرعت تشکیل NADPH با روش اسپکتروفوتومتری در طول موج ۳۴۰ نانومتر با اسپکتروفوتومتر carry 118 (Varian) جهت اندازه‌گیری فعالیت گلوکوکیناز سنجیده شد.

برای تعیین فعالیت ویژه آنزیم گلوکوکیناز، غلظت پروتئین محلول حاوی آنزیم در مایع رویی عصاره تازه جزایر لانگرهانس با روش برادفورد و با استفاده از کوماسی بریلیانت بلو G-25 سنجیده شد [۱۷].

بررسی مصرف گلوکز توسط گویچه‌های سفید: تعداد مشخصی گویچه سفید که از خون تازه انسان با دستگاه اکستراکتوز جدا شده بودند به محلول پرفیوژن جزایر لانگرهانس در حضور غلظت‌های مختلف وانادات اضافه شد و به‌مدت نیم ساعت انکوبه گردید. میزان گلوکز با روش گلوکز اکسیداز و انسولین با روش IRMA در ابتدا و انتهای زمان انکوباسیون در محلول اندازه‌گیری شد.

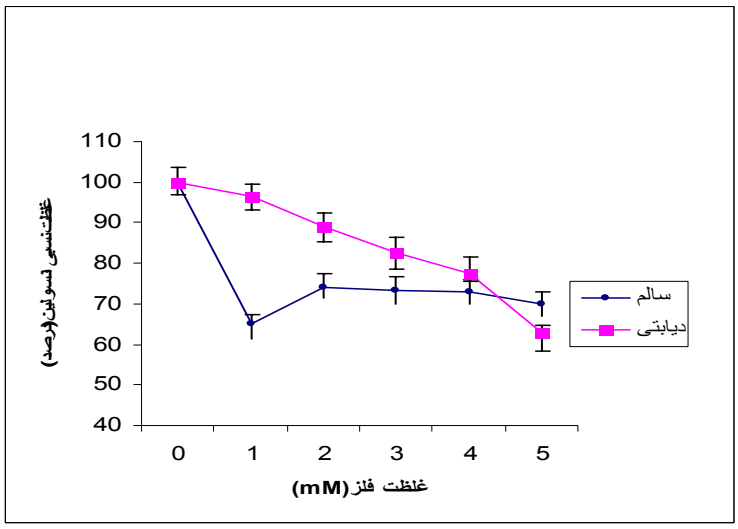
آزمون آماری داده‌ها به صورت میانگین با انحراف معیار گزارش شده است. ارتباط اثر کاتیون‌های فلزی مورد بررسی با ترشح انسولین و فعالیت آنزیم گلوکوکیناز گروههای مختلف با روش ANOVA تعیین گردید و $P<0/001$ به‌عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلاف‌ها انتخاب شد.

یافته‌ها

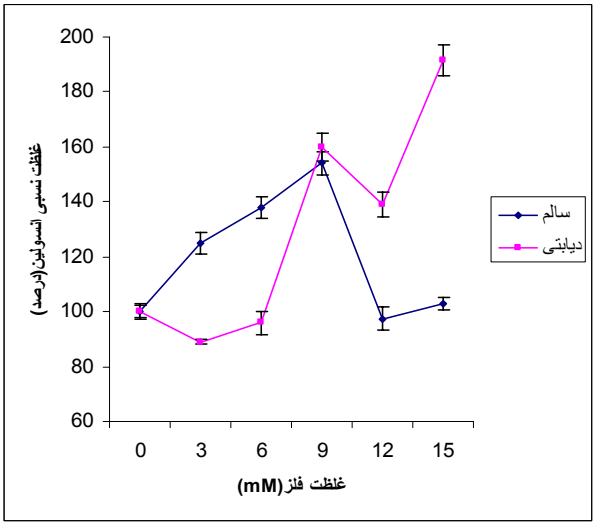
۱- اثر کاتیون‌های فلزی بر میزان ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس

Zn^{2+} میزان ترشح انسولین را از جزایر سالم و دیابتی کاهش می‌دهد و حداکثر اثر مهاری آن بر جزایر سالم در غلظت ۱mM و بر جزایر دیابتی در غلظت ۵mM می باشد (شکل ۱). V^{5+} باعث افزایش ترشح انسولین می‌شود که حداکثر اثر تحریکی این کاتیون بر جزایر لانگرهانس سالم، در غلظت ۹mM و بر جزایر دیابتی در غلظت ۱۵mM می باشد (شکل ۲).

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017



شکل ۱- درصد تغییرات غلظت انسولین برحسب غلظتهای افزایش‌یابنده روی ($Zn^{۲+}$) نسبت به گروه شاهد (بدون فلز) در محلول پرفیوژن جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی که به مدت ۳۰ دقیقه با فلز روی انکوبه شده‌اند (n=۳ و P<۰/۰۰۱).



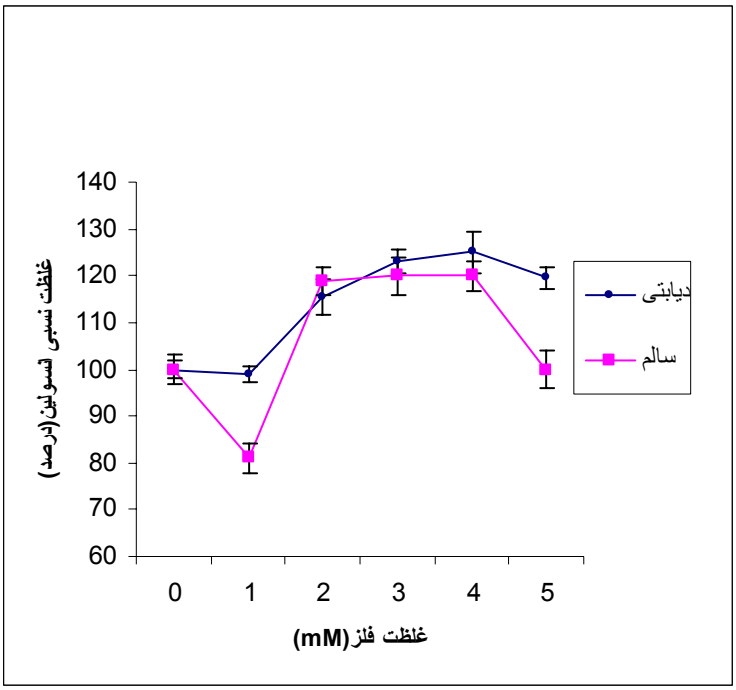
شکل ۲- درصد تغییرات غلظت انسولین برحسب غلظتهای افزایش یابنده وانادیم VO_3^- نسبت به گروه شاهد (بدون فلز)، در محلول پرفیوژن جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی که به مدت ۳۰ دقیقه با فلز وانادیم انکوبه شده‌اند (n=۴ و P<۰/۰۰۱).

W^{6+}سبب افزایش ترشح انسولین می‌شود که بیشینه (ماکزیمم) اثر تحریکی این کاتیون در غلظت ۲-۴mM است (شکل ۳).

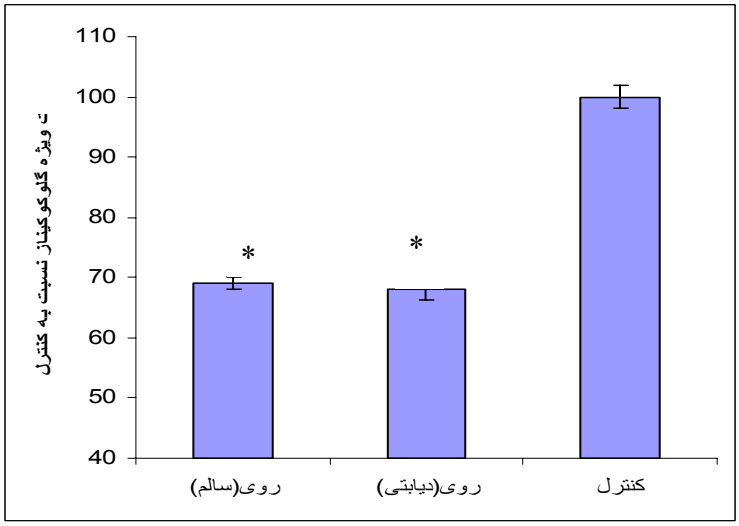
۲- اثر کاتیون‌های فلزی بر میزان فعالیت آنزیم گلوکوکیناز

Zn^{2+} فعالیت ویژه آنزیم را تا حدود ۶۹٪ در جزایر سالم و دیابتی کاهش می‌دهد (شکل ۴). V^{+5}بر فعالیت ویژه آنزیم اثری ندارد (شکل ۵). W^{6+} فعالیت ویژه آنزیم را تا حدود ۱۲۰٪ در جزایر سالم و دیابتی افزایش می‌دهد (شکل ۶).

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017

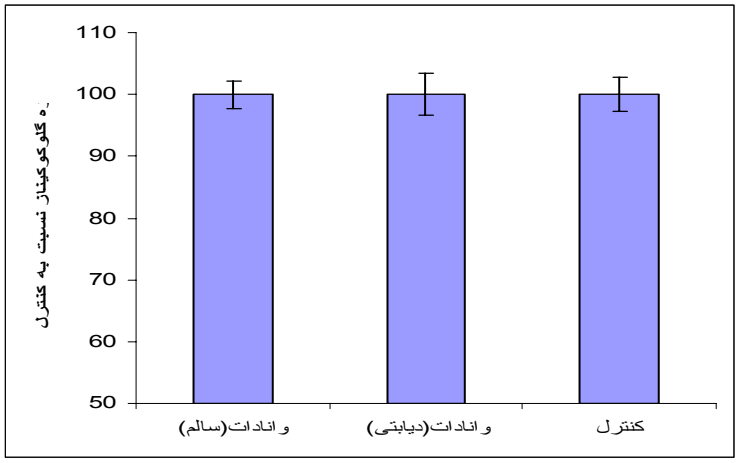


شکل ۳- درصد تغییرات غلظت انسولین برحسب غلظتهای افزایش یابنده تنگستن (WO_4^{2-}) نسبت به گروه شاهد (بدون فلز) در محلول پرفیوژن جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی که به مدت ۳۰ دقیقه با فلز تنگستن انکوبه شده‌اند (n=۴ و P<۰/۰۰۱).

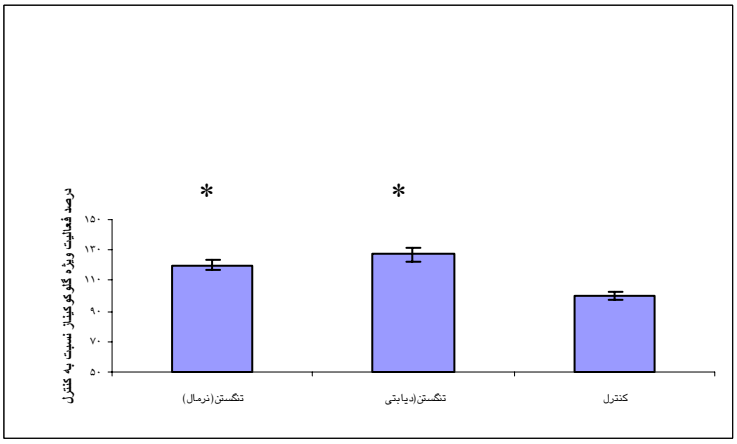


شکل ۴- درصد فعالیت ویژه آنزیم گلوکوکیناز نسبت به گروه شاهد (بدون فلز) در سوپرناتانت همگن جزایر لانگرهانس جداشده از موش صحرایی سالم و دیابتی که با فلز روی در محیط پرفیوژن استاتیک انکوبه شده‌اند (n=۵ و P<۰/۰۰۱).

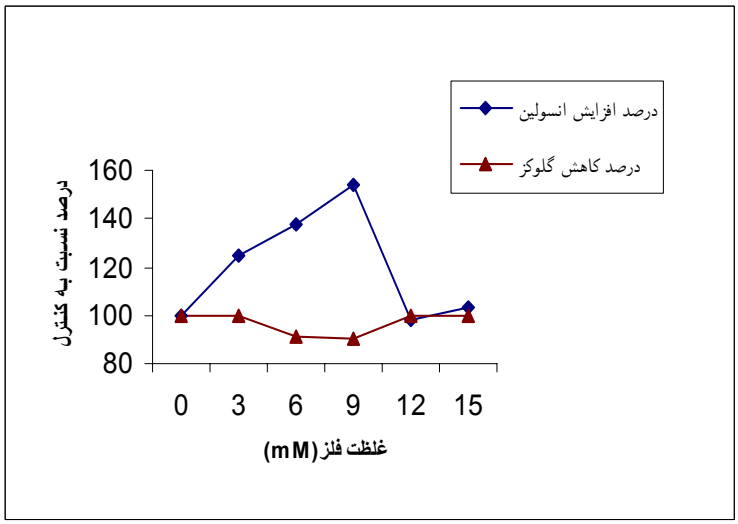
Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017



شکل ۵- درصد فعالیت ویژه آنزیم گلوکوکیناز نسبت به گروه شاهد (بدون فلز) در سوپرناتانت همگن جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی که با فلز وانادیم در محیط پرفیوژن استاتیک انکوبه شده‌اند (n=۵ و P<۰/۰۰۱).



شکل ۶- درصد فعالیت ویژه آنزیم گلوکوکیناز نسبت به گروه شاهد (بدون فلز) در سوپرناتانت همگن جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی سالم و دیابتی که با فلز تنگستن در محیط پرفیوژن استاتیک انکوبه شده‌اند (n=۵ و P<۰/۰۰۱).



شکل ۷- درصد افزایش میزان انسولین با کاهش میزان گلوکز در محلول پرفیوژن جزایر لانگرهانس وقتی که در معرض غلظتهای مختلف وانادات و غلظت ثابت گویچه‌های سفید به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شده‌اند.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017

۳- اثر انسولین بر میزان مصرف گلوکز توسط گویچه‌های سفید خون

ترشح انسولین در غلظتهای تحریکی V^{+5} میزان گلوکز محیط انکوباسیون گویچه‌های سفید با جزایر لانگرهانس را حدود ۹-۱۰٪ کاهش داد (شکل ۷).

بحث

کاهش ترشح انسولین از سلولهای بتای پانکراس سبب پیدایش بیماری دیابت نوع ۱ می‌شود. افزایش ترشح انسولین نیز باعث هیپوگلیسمی و همچنین تخریب سلولهای بتا می‌گردد؛ بنابراین عواملی که بتوانند از ترشح زیاد یا کم انسولین جلوگیری کنند و باعث تعدیل میزان انسولین و در نتیجه میزان گلوکز خون شوند دارای اهمیت درمانی خواهند بود. از آنجا که سیستم پرفیوژن محیطی مناسب را برای بررسی میزان ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس در شرایط in vitro فراهم می‌کند، در این پژوهش از سیستم پرفیوژن استاتیک برای شناسایی اثر کاتیون‌های فلزی بر میزان ترشح انسولین استفاده شد [۱۸]. این پژوهش نشان داد که Zn^{2+} باعث کاهش ترشح انسولین از جزایر سالم و دیابتی می‌شود. مطالعات قبلی مشخص کرده است که این کاتیون ترشح انسولین را از جزایر لانگرهانس تحریک شده با گلوکز، L- لوسین و پتاسیم، با بستن کانالهای کلسیمی و با ممانعت از ورود Ca^{2+} به درون سلولهای بتا به‌طور برگشت پذیر مهار می‌کند و نیز بیان شده است که Zn^{2+} کانالهای پتاسیمی حساس به ATP را باز نگه می‌دارد. بنابراین به‌نظر می رسد که Zn^{2+} پتانسیل استراحت غشا و تحریک سلول بتا را تنظیم می‌کند و فعالیت الکتریکی سلولهای بتا را مهار می‌نماید[۱-۳] . در این مطالعه مشخص گردید که V^{5+} باعث افزایش ترشح انسولین می‌شود. Fegi و همکارانش گزارش کرده‌اند که میزان ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس در شرایط in vitro و در اثر وانادات زیاد می‌شود و در مقابل Vosse ابراز کرد که ترشح انسولین و سنتز آن در اثر وانادات از جزایر لانگرهانس موش صحرایی سالم کاهش می‌یابد. وانادات و وانادیل احتمالاً توسط مکانیسم ردوکس درون سلولی باعث مهار فعالیت Na-K-ATPase در جزایر لانگرهانس می‌شود با این‌حال اثر مهاری وانادات از وانادیل بیشتر است و ممکن است از طریق همین اثر مهاری باعث افزایش ترشح انسولین گردد. گزارش شده که وانادات و وانادیل آثار ضددیابتی دارند و از ترشح زیاد انسولین جلوگیری می کنند زیرا ترشح زیاد انسولین خود موجب تخریب سلولهای بتای پانکراس شده و دیابت ایجاد می‌نماید. این عنصر انسولین را در سطح طبیعی در خون نگه می‌دارد و خود به عنوان مقلد انسولین عمل می‌کند [۴-۷]. وانادات باعث مهار کانالهای پتاسیمی حساس به ATP از نوع Kir 6.2 /SUR1 (موجود در سلول بتا) تا حدود ۵۰٪ می شود اما باعث فعال شدن کانالهای پتاسیمی حساس به ATP از نوع Kir 6.2/SUR2A (موجود در عضله قلبی و اسکلتی) تا حدود ۴ برابر و نوع Kir 6.2/SUR2B (موجود در عضله صاف) تا حدود ۲ برابر می‌شود. محل اثر وانادات گیرنده سولفونیل اوره(SUR) است که عامل تفاوت در نوع کانال های پتاسیمی است، به همین علت وانادات بر سلولهای مختلف آثار متفاوتی دارد [۱۹] و نیز بیان شده است که احتمالاً وانادات با اثر بر کانالهای کلسیمی باعث افزایش ترشح انسولین می‌شود [۲۰]. پروتئین تیروزین‌کیناز و فسفوتیروزین فسفاتاز نقش مهمی در تنظیم کارکرد سلولهای بتا دارند. وانادات باعث افزایش اجزای فسفوتیروزین در بعضی از فسفوتیروزیل پروتئین‌ها از جمله فسفولیپاز C و فسفاتیدیل اینوزیتول ۳- کیناز در سلولهای بتا می شود و نیز باعث تولید IP_3[1] از IP_2[2] می‌شود که IP3 و DAG[3] نقشی در ترشح انسولین از سلولهای بتا دارند. بنابراین وانادات باعث افزایش متابولیسم اینوزیتول و افزایش میزان فسفاتیدیل اینوزیتول فسفاته در سلولهای بتای پانکراس می شود [۲۱].

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که W^{6+} باعث ترشح انسولین و افزایش فعالیت آنزیم گلوکوکیناز در جزایر لانگرهانس سالم و دیابتی می‌شود و بنابراین کاتیون با ورود در درون سلولهای بتا باعث افزایش فعالیت آنزیم گلوکوکیناز می‌شود و بنابراین میزان ATP در مسیر گلیکولیز افزایش می‌یابد که در نهایت باعث افزایش ترشح

[1] Inositol triphosphate
[2] Inositol diphosphate
[3] Diacyl glycerol

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017

انسولین می‌گردد. به این ترتیب به نظر می‌رسد که تنگستن مانند وانادات عملکردی شبه انسولینی دارد. Barbera و همکارانش گزارش کردند که درمان خوراکی با تنگستن توانایی سلولهای بتا را در پاسخ به گلوکز حفظ می‌کند و سبب افزایش میزان انسولین و توده سلولهای بتا می‌شود و بروز ژن انسولین را نیز افزایش می‌دهد [۸، ۹]. تنگستن باعث رشد و تکثیر سلولهای بتای پانکراس می‌شود و نیز مهارکننده پروتئین فسفوتیروزین فسفاتاز است [۲۱، ۲۲].

با توجه به نتایج این پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که اثر همسوی فلز تنگستن در افزایش ترشح انسولین که با افزایش فعالیت آنزیم کلیدی گلوکوکیناز همراه بود، می‌تواند مربوط به اهمیت آنزیم کلیدی گلوکوکیناز در ترشح انسولین باشد. این همبستگی در مورد فلز روی نیز دیده شد زیرا اثر مهاری روی بر ترشح انسولین نیز هم جهت با اثر مهارکنندگی آن بر آنزیم گلوکوکیناز بود. اثر وانادات در افزایش فعالیت ترشحی سلولهای بتا را می‌توان به مکانیسم جداگانه‌ای در فرایند ترشح انسولین (بجز اثر بر فعالیت آنزیم گلوکوکیناز) مربوط دانست.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاریهای اعضا و کارکنان گروه بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران و همچنین آزمایشگاه مواد حیاتی مرکز تحقیقات بیوشیمی و بیوفیزیک دانشگاه تهران، گروه انگل‌شناسی دانشکده بهداشت، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم دانشگاه علوم پزشکی تهران و گروه‌های بافت‌شناسی و میکروب‌شناسی و سازمان انتقال خون تهران تشکر و قدردانی می‌شود.

مآخذ

1. Bloc A, Cens T, Cruz H, Dunant Y: Zinc induced change in ionic current of colonal rat pancreatic b – cell activation of ATP – sensitive K^+ chanels. *Journal of Physiology* 2000; 529: 733–4.
2. Ferrer R, Soria B, Dawson CM, Effect of Zn^{z+} on glucose – induced electrical activity and insulin release from mouse pancreatic islets. *American Journal of Physiology* 1984; 246: 520–7.
3. Ghafghazi. T/ Mc Daniel ML, and Lacy PE, Zinc induced inhibition of insulin secretion from isolated rat islets of Langerhans. *Diabetes* 1981; 30: 341–5.
4. Fagin JA, Ikejiri K, Seymour R. Imsulinotropic effect of vanadate. *Diabetes* 1987; 36: 1448–52.
5. Cros GH, cam MC, Serrano JJ, Ribes CT, Mc Neil JH, Long term antidiabetic activity of vanadyl after treatment withdrawal: restoration of insulin secretion. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1995; 153: 191–5.
6. Spriestma JE, Shuete Maker GE. Diabetes can be prevented by reducing insulin production. *Medical Hypothesis* 1993; 42: 15–23.
7. Poucheret P, Gross R, cadene A, Manteguetti M, Long term correction of STZ – diabetic rats after short – term I. P. VOSo4 treatment: persistence of insulin secretion capacities assessed by isolateol pamereas studies. *Molecular and Cellular Biochemistry* 1995, 153: 197 – 204.
8. Barbera A, Rodriguez JE., Guinovart JJ, Insupin like action of Tungstate in diabetic rats, normal izatiow of hepatic glucose metabolism. *Journal of Biological Chemistry* 1994; 209: 20047–53.
9. Barbera A, Fernandez j, Alvarez A, Trac R. Effect of Tungstate in neonatally slreptozotocin induced diabetic rats: mechanisms leading to normalizalion of glycemia. *Diabetologia* 1997; 40: 143–9.
10. Wolheim CB, Mlheim CB, Meda P, Halban PA. Isolation of pancreatic islets and primary culture of the intact islets of langerhans. *Methods in Enzymology* 1990; 192: 188–270.
11. Lacy PE, Kastiamovsky M, Methods for isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 1967; 16: 35–9.
12. Me Daniel ML, Colca JR, kotagal N. Lacy PE A subcellular fractionation approach for studying insulin release mechanism and calcium metabolism in islets of langerhans. *Methods in Enzymology* 1983; 98: 182–200.
13. Studis J, Pugh WL, Tang J, Ostrega DM, et al. Alteration in pulsatile insulin secretion in zucker diabetic fatly rat. *American Journal of Physiolog*y 1994; 247: E250–E259.
14. Derak WR, Grag P, Morris J, Isolation of rat paneneatic islets by cluctal injection of collagenase. *Transplanlation* 1984; 42: 689–91.
15. Piklis SJ. Glucokinasc of rat liver. *Methods in Enzymology* 1975, 42: 31–9.

16. Porter VE, chassy BM, Glucokinase from streptococcus mutans. *Methods in Enzymology* 1982; 90: 25–72.
17. Boadford MM, Arapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of pnotein wtilizing the principles of proteniclye binding. *Analytical Biochemistry* 1976: 72: 248–54.
18. Cernus, VJ. Hammer D, Peschke E. Dynamic insulin secretion from perifused vat pancreatic islets. *Cellular and Molecular Life Science* 1998; 54: 732-43.
19. Proks. P, Ashfield R, Ashcroft FM. Intercoction of vanadote with the cloned bet cell K ATP. Channel. *Journal of Biological Chemistry* 1999; 274: 25347-93.
20. Conconi MT, vigolo CE, Grandi C, et al. Effect of some vanady 1 coor clination compounds on the in vitro insulin release from rat pancreatic islets. *Hormones and Metabolism Research* 2003; 35: 402–6.
21. Jonas JC, Henguin JC. Possible involvement of tyrosin–kinase–dependent pathway in the regulation of phosphoinositide metabolism by vanadate in normal mouse islets. 1996, 315: 49–55.
22. Fierabracci V. De tata V, pocai Novell M. et al. Oral tungstate treatment impraes only Iranseemtly alteration of glucose metabolism in a new rat model of type 2 diabetes. *Endocrine* 19, 177– 184.

Downloaded from ijdld.tums.ac.ir at 15:37 IRST on Monday November 20th 2017