دراسة كيميائية حياتية لهرمون اللبتين وعلاقته بداء السكري

قصي عبد القادر الجلبي
قسم علوم الحياة/كلية العلوم
جامعة الموصل

ذكرى علي علوش
قسم الكيمياء/كلية العلوم
جامعة الموصل

نوال ذنون يونس(*)
قسم العلوم التمريضية الأساسية/كلية التمريض/ جامعة الموصل

تاريخ الاستلام
2006/01/16

تاريخ القبول
2006/05/10

Abstract

the research involved a study of the relationship between Leptin, Insulin, with Diabetes Mellitus in type I and II compared to normals.

The results demonstrated a significant decrease of Leptin and Insulin in serum of type I diabetic Patients in comparison to control , while a significant difference of leptin and Insulin between type I and II patients. The results also demonstrated a significant increase of leptin in serum of type II diabetic patients in comparison with that of control according to body mass index (BMI) , while a significant increase in serum blood glucose of type I and II patients in comparison to control.

Correlation coefficient between Leptin, Insulin and blood glucose of diabetic patients showed that Insulin was the most variable linear relationship with Leptin in control and diabetes type I and II, also a linear relationship of blood glucose with Insulin hormone in control.

الملخص

تضمن البحث دراسة العلاقة بين هرموني اللبتين والانس‌ولين من جهة وداء السكري من النوعين الاول والثاني من جهة أخرى مقارنة بالاصحاء .

أوضحت النتائج وجود انخفاض معنوي في مستوى هرموني اللبتين والانسولين في مصل دم مرضى السكري من النوع الأول بالمقارنة بالاصحاء . وفرق معنوي في مستوى هرموني اللبتين والانسولين بين م رضى سكري النوع الاول والنوع الثاني ، كما اوضحت النتائج وجود ارتفاع معنوي في معدل تركيز هرمون اللبتين لدى مرضى سكري النوع الثاني مقارنة بمجموعة السيطرة وذلك لزيادة دليل كتلة الجسم وارتفاع معنوي في مستوى الكلوكوز في مصل دم مرضى السكري من النوعين الاول والثاني مقارنة بمجموعة السيطرة .

* بحث مستل من اطروحة الدكتوراه للباحثة نوال ذنون يونس .

كما درست العلاقة بين هرمون اللبتين والانسولين وكلوكوز الدم بايجاد معامل الارتباط الخطي ، وتبين ان هرمون الانسولين يرتبط بعلاقة خطية مع هرمون اللبتين لدى كل من مجموعات السيطرة ومرضى السكري بنوعيه الاول والثاني ، كما وجد ان هناك ا رتباطا خطيا في معدل تركيز هرمون الانسولين مع الكلوكوز في مجموعة السيطرة .

المقدمة

جاءت تسمية اللبتين من الـ Lepto التي تعني (نحيف) باليونانية فهو هرمون ينظم وزن الجسم ذو وزن جزيئي مقداره (16 Kda) ، يتكون من (167) حامضا امينيا ويفرز من الانسجة الدهنية وتحت المهاد والمعدة والمشيمة والعضلات الهيكلية والخلايا الظهارية الثديية [1 ، 2] ، اكتشف هرمون اللبتين الباحث Zhang وجماعته في عام 1994 وذلك بعزل جين السمنة (جين الـ Ob) المسؤول عن تكوين الهرمون بتقانة recombinant DNA technology على كروموسوم 6 عندما وجدوا ان الطفرات في هذه الجينات تسبب السمنة للفئران . [3 ، 4]

اثبتت مجموعة من الدراسات ان هناك علاقة ايجابية ما بين هرمون اللبتين وتركيز هرمون الانسولين ، وعلاقة سلبية ما بين اللبتين ومستويات الكلوكوز في الدم ، وان زيادة افراز الانسولين تعمل على زيادة تكوين الح امض النووي الرايبوزي الرسول (mRNA) للبتين في الانسجة الدهنية ؛ فهرمون الانسولين الذي يفرز من خلايا بيتا في البنكرياس استجابة لوجود الكلوكوز في الدم يعمل على تحفيز افراز اللبتين من الانسجة الدهنية ليزيد من تأيض الكلوكوز . [5 ، 6 ، 7 ، 8]

وتشير الابحاث عم وما الى ان مستويات اللبتين في مصل الدم واطئة لدى الاطفال المصابين بالنوع الاول من السكري (I) ولعل ذلك ناشئ عن النقص المزمن للانسولين المسؤول عن السيطرة على التأيض ذلك ان زيادة مستويات اللبتين ترتبط بتكوين الانسولين في مرضى السكري من النوع الاول (I) وهي تـرتفع مع الجرع العالية من الانسولين ومع تناول الغذاء وزيادة دليل كتلة الجسم (BMI). [9 ، 10 ، 11]

لقد وجد ان كفاءة اللبتين لدى الاشخاص المصابين بالنوع الثاني من السكري قليلة لذا تمكن الباحثون في عام 2002 من استخدام اللبتين في علاج داء السكر حين وجدوا انه يقلل من مقاومة الانسولين ويمنع تجمع الدهون في الجسم ، واستخدم اللبتين كذلك في علاج الفئران المصابة بداء السكر المستحدث بوصفه علاجاً مساعداً للانسولين اذ وجد ان الجمع بين اللبتين والانسولين يقلل من كمية الانسولين المستخدمة للسيطرة على المرض اذ يزيد من حساس ية الانسولين في حالة نقص الانسولين في الجسم . [12]

أما هدف الدراسة تركز على تقدير تركيز هرمون اللبتين في مصل دم الاشخاص الاصحاء والمصابين بداء السكر بنوعيه المعتمد وغير المعتمد على الانسولين ودراسة العلاقة بينه وبين هرمون الانسولين وكلوكوز الدم .

المواد وطرائق العمل

النماذج المستخدمة

استخدم في البحث (20) نموذجاً من مصل الدم "Serum" لاشخاص اصحاء تتراوح اعمارهم ما بين (5-60 year) ولكلا الجنسين بوصفهم مجموعة سيطرة ، كما جمع (50) نموذجاً من مصل الدم لاشخاص مصابين بداء السكر من كلا النوعين وبلغ عدد نماذج ال نوع الاول من السكري (20) نموذجاً والنوع الثاني من السكري (30) نموذجاً وذلك بالتعاون مع مركز الوفاء لابحاث السكري في الموصل ولحالات مرضية شخصها أطباء متخصصون .

تحضير مصل الدم

حضر مصل الدم بسحب (5 ml) من عينات الدم في انابيب بلاستيكية جافة ونظيفة من النوع الذي يطرح بعد الاستعمال disposable Tube ووضعت في حمام مائي بدرجة (37 C^o) مدة (10 min) تم بعد ذلك فصل الجزء المتخثر عن المحلول الرائق باستعمال جهاز الطرد المركزي (Centrifuge) بسرعة (4000 xg) مدة (10 min) والمحلول الرائق هو مصل الدم . ثم قسم على قسمين استخدم الاول مباشرة لقياس مجموعة من المتغيرات الحياتية .

تقدير كمية الكلوكوز في مصل الدم

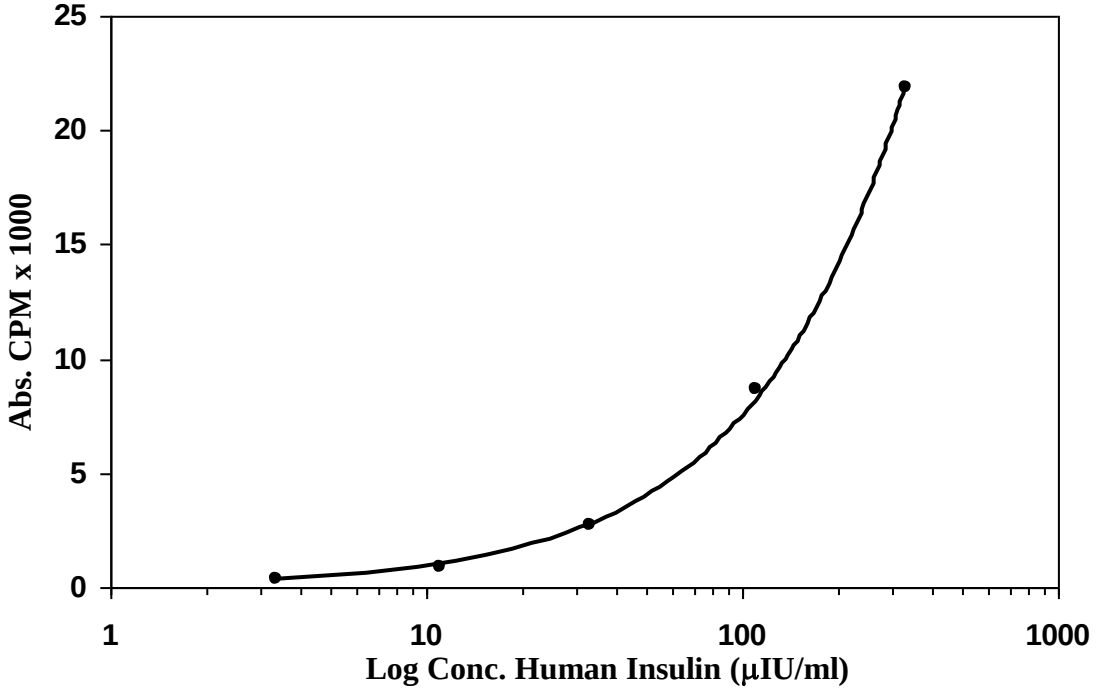
قيس مستوى الكلوكوز في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من النوع (SURBIO - France) ، باستخدام الطريقة الانزيمية للباحث Trinder [19]

تقدير هرمون الانسولين في مصل الدم بطريقة الروز المناعي الاشعاعي

قدر هرمون الانسولين في مصل الدم باستخدام عدة التحليل Kit من النوع (Immunotech, France) .

واستخدمت طريقة الباحثان wilson و Miles [13] في تقدير تركيز هرمون الانسولين في مصل الدم التي تتضمن التنافس بين الاجسام المضادة للانس ولين والاجسام المضادة للانسولين المعلمة بالايودين I^{125} على مواقع الارتباط بمستضدات الانسولين الموجودة في مصل الدم ، وتحدد كمية ارتباط الجسم المضاد بالمستضد للانسولين من خلال قياس الفعالية الاشعاعية باستخدام عداد كاما و يحدد تركيز الانسولين من خلال المنحني القياسي

الموضح في الشكل (1) الذي يتناسب من خلاله تركيز الانسولين طرديا مع الفعالية الاشعاعية له .

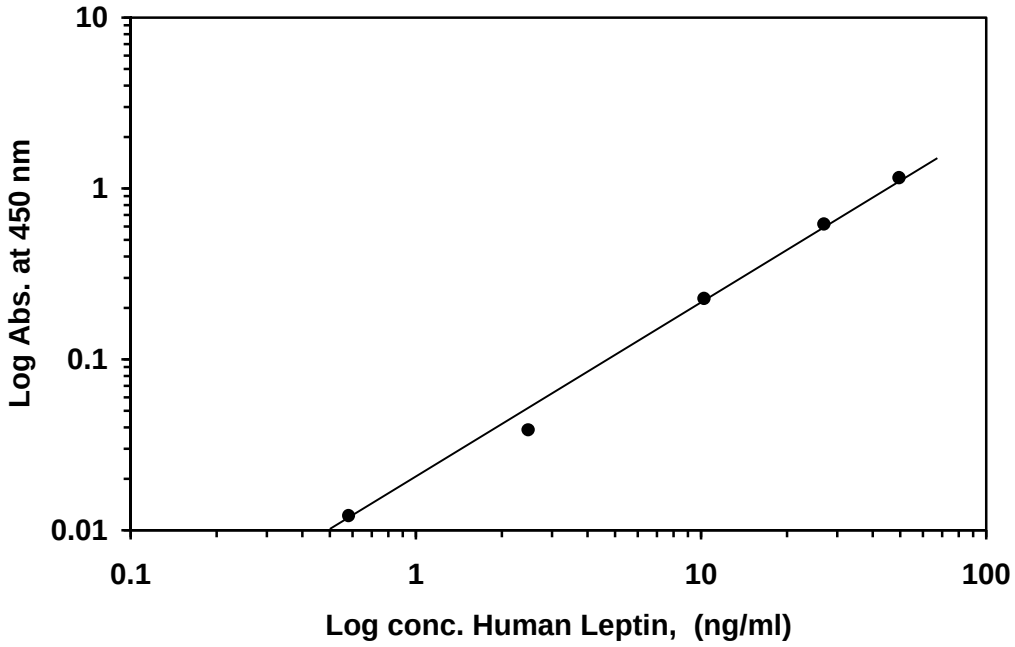


الشكل (1) المنحني القياسي النموذجي لهرمون الانسولين .

تقدير كمية هرمون اللبتين في مصل الدم بطريقة الأليزا

قدر هرمون اللبتين في مصل الدم باس تخدام عدة التحليل kit من النوع (USA و ENGLISH) .

إذ قدر هرمون اللبتين في مصل الدم بطريقة الأليزا عن طريق التنافس بين الاجسام المضادة للهرمون الموجودة في حفر شريحة التخافيف الدقيقة والاجسام المضادة المرتبطة بانزيم horseradish peroxidase (HRP) على مواقع الا رتباط بمستضدات اللبتين الموجودة في مصل الدم وبعد عمليات الغسل بمحلول الغسل Wash buffer لازالة الاجسام المضادة غير المرتبطة يضاف محلول المادة الاساس الى الانزيم وترتبط بالانزيم لتكون محلولا ازرق اللون يتحول الى اللون الاصفر بعد اضافة محلول حامض الكبريتيك لي وقف التفاعل ، وتتناسب شدة اللون طرديا مع تراكيز مستضدات الهرمون الموجودة في مصل الدم التي تقاس الامتصاصية لها عند الطول الموجي (450 nm) ، وتحدد تراكيز اللبتين في نماذج مصل الدم من خلال المنحني القياسي له الذي تتناسب من خلاله تراكيز اللبتين للمحاليل القياسي ة له طرديا مع الامتصاصية وكما موضح في الشكل (2) .



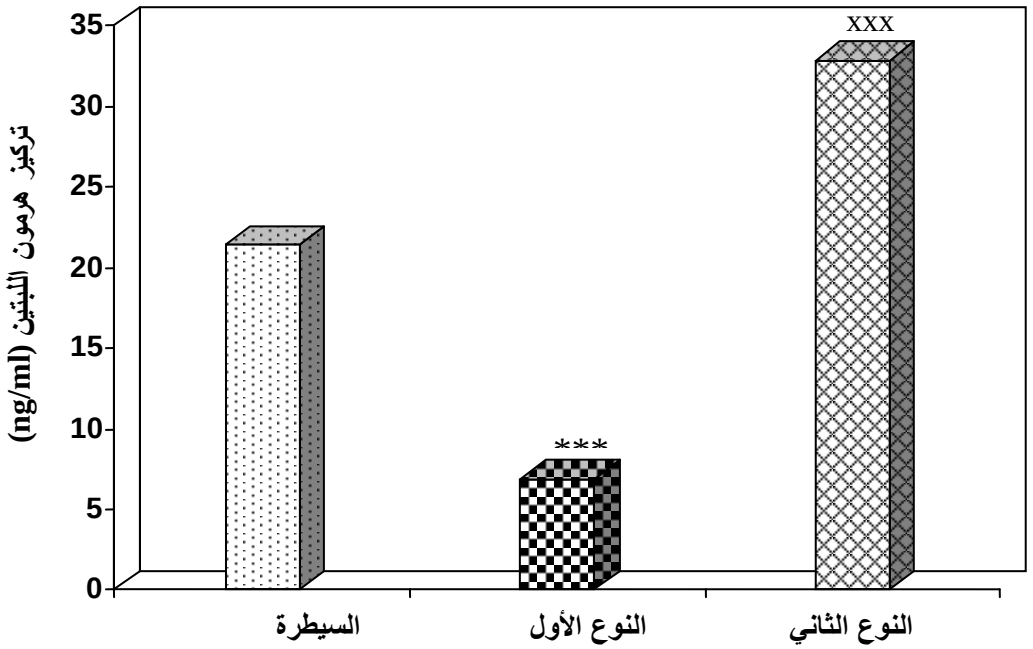
الشكل (2) المنحني القياسي النموذجي لهرمون اللبتين .

التحليل الإحصائي

حللت نتائج الدراسة احصائيا باستخدام تحليل التباين (ANOVA) ثم استخدم اختباري (Duncan-test, t-test) لبيان الاختلاف بين مجموعتين عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

النتائج والمناقشة

تشير النتائج في الشكل (3) الى وجود انخفاض معنوي في معدل تركيز هرمون اللبتين عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.001$) في مصل دم المصابين بسكري النوع الاول (6.9±1.7 ng/ml) مقارنة بمعدل تركيزه في مصل دم نماذج ال سيطرة (21.4±5.6 ng/ml) وقد يعزى السبب في ذلك الى انخفاض كتلة الجسم أو إلى نقص الانسولين الذي يحفز افراز هرمون اللبتين في مرضى سكري النوع الاول [9 ، 10] ، كما يلاحظ وجود ارتفاع معنوي عند مستوى الاحتمالية ($P \leq 0.001$) لمعدل تركيز الهرمون في مصل دم المصابين بسكري النوع الثاني (32.8±4.19 ng/ml) مقارنة بمعدل تركيزه في مصل دم مرضى سكري النوع الأول وذلك لزيادة البدانة لدى مرضى سكري النوع الثاني التي تسهم في زيادة مقاومة الانسولين التي تتعلق بارتفاع تركيز هرمون اللبتين في الشخص البدين.[14 ، 15 ، 16 ، 17]



*** Significant difference from control at p≤0.001
xxx Significant difference between diabetes type 1 and 2 at p ≤0.001

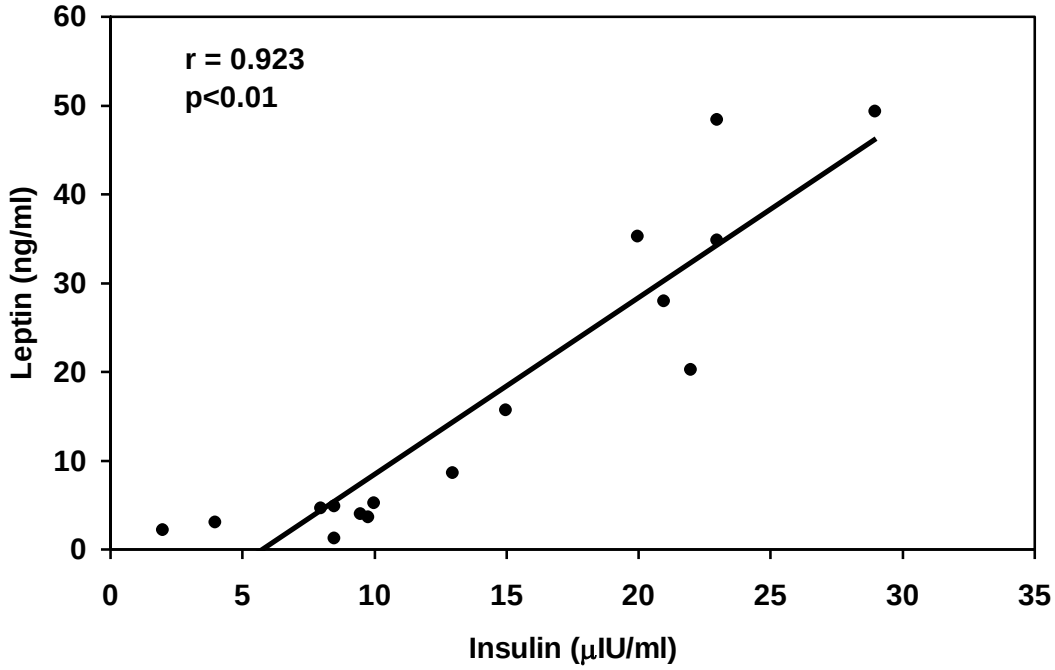
الشكل (3) المعدل الطبيعي لهرمون اللبتين في مصل الدم مقارنة مع تركيزه في مجموعة مرضى السكري بنوعيه الأول والثاني.

ولإيجاد العلاقة بين هرمون اللبتين والانسولين والكلوكوز لدى مرضى السكري بنوعيه الاول والثاني ولدى مجموعات السيطرة أوجد معامل الارتباط الخطي (correlation coefficient "r") .

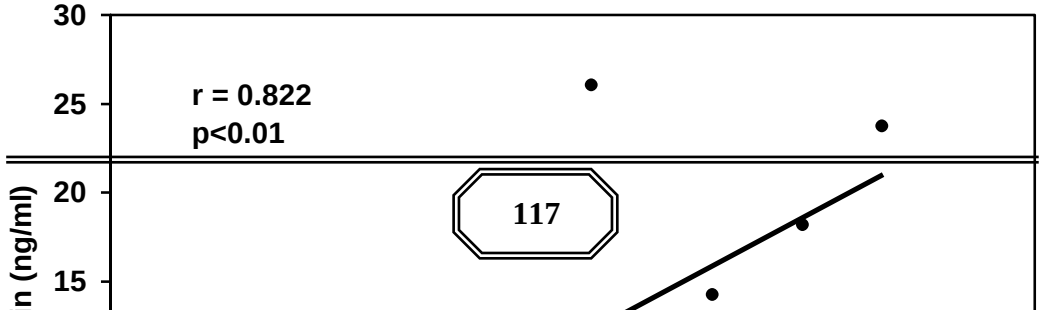
يظهر الشكل (4) العلاقة الخطية ما بين هرمون اللبتين والانسول ين لدى مجموعات السيطرة فقد ذكر كل من Abundic و Ortiz [5] ; Havel [6] ; Stefan [7] ; Yip وآخرون [8] أن هرمون الانسولين يرتبط بعلاقة ايجابية مع هرمون اللبتين وان زيادة افراز الانسولين تعمل على زيادة تكوين الحامض النووي الرايبوزي المرسل (mRNA) للبتين في الانسجة الدهنية ، يفرز هرمون الانسولين استجابة لوجود تراكيز عالية من الكلوكوز في الدم ليعمل على تحفيز افراز اللبتين من الانسجة الدهنية ليزيد من تأيض الكلوكوز .

كما يبين الشكل (5) العلاقة الخطية ما بين هرموني اللبتين والانسولين لدى مرضى السكري من النوع الا ول وهذا يتفق مع ما ذكره كل من Soliman وآخرون [9] ; Ahmed وآخرون [10] ; Kirel وآخرون [11] من ان مستويات اللبتين ترتبط بتكوين الأنسولين في مرضى السكري من النوع الأول وترتفع مع الجرع العالية من الأنسولين ومع تناول الغذاء وزيادة كتلة الجسم .

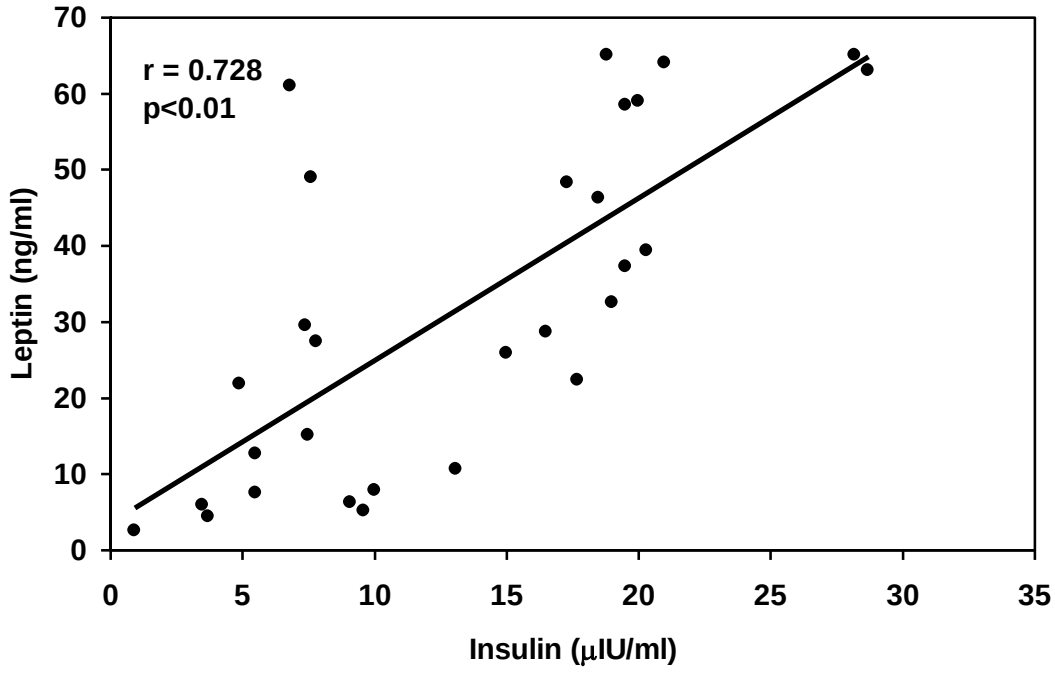
ويوضح الشكل (6) العلاقة الخطية ما بين هرموني اللبتين والانسولين لدى مرضى سكري النوع الثاني وهذا يتفق مع ما ذكره كل من Kellerer وآخرون [14] ; Zietz وآخرون [15] ; Ortiz وآخرون [16] ; Ortiz وآخرون [17] ; Abdelgadir وآخرون [18] من ان هناك علاقة ايجابية ما بين الانسولين وال لبتين لدى مرضى سكري النوع الثاني وان مستويات اللبتين تكون اقل لدى المرضى المصابين بالنوع الثاني من السكري مقارنة بمجموعات السيطرة المماثلة لها في العمر والـ BMI . كما ان مقاومة الانسولين تتعلق بارتفاع تراكيز اللبتين لدى مرضى سكري النوع الثاني .



الشكل (4) العلاقة الخطية بين هرمون اللبتين والانسولين في مجوعات السيطرة .



الشكل (5) العلاقة الخطية بين هرمون اللبتين والانسولين لدى مرضى سكري النوع الأول.



الشكل (6) العلاقة الخطية بين هرمون اللبتين والانسولين لدى مرضى سكري النوع الثاني.

المصادر

1. Gale, S.M.; Castracane, V.D. and Mantzoros, C.S.(2004)."Energy Homeostasis, obesity and Eating Disorders: Recent Advances in Endcrinology". J.Nutr. 134: 295-298.
2. Whipple, T.; Sharkey, N.; Demers, L.; and Williams, N. (2002) " Leptin and the skeleton". Clin. Endocrinol. 57: 701-711.
3. Kirel, B.; Dogruel, N.; Akgun, N.; Kilic, F.S.; Tekin, N.; and ucar, B.(1999)."Serum leptin levels during childhood and Adolescence: relationship with Age, sex, Adiposity and puberty". Turk. K.J.pediatr. 41: 447-455.
4. Dressler, D.; Potter, H.(1994)."Leptin and the control of body weight". Nature. 372: 425.
5. Abundis, E.M., and Ortiz, M.,G.(2001)."Relacion leptinainsulina en preeclampsia. Estudio en poblacion mestiza mexicana" Rev. Med. Chile. 129: 149-154.
6. Havel, P.J.(2001)."Peripheral signals conveying metabolic information to the Brain: Short-term and Long-term regulation of food intake and Energy homeostasis". Exp. Biol. Med. 226 (1): 963-977.
7. Stefan, N.; Fritsche, A.; Haring, H. and Stumvoll, M. (2001). "Acute stimulation of leptin concentration in humans during hyperglycemic hyperinsulinemia. Influence of free fatty acids and fasting". Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 25(1): 138-142.
8. Yip, I.; Go, V.L.; Hershman, J.M.; Wang, H.J.; Elashoff, R.; Deshields.; Liu, Y.; and Heber, D. (2001). " Insulin-leptin-visceral fat relation during weight loss". Pancreas. 23(2): 197-203.
9. Soliman, A.T.; Omar, M.; Assem, H.M.; Nasr, I.S.; Rizk, M.M.; El-matary, W.; and El-alaily, R.K.(2002). "Serum leptin concentration in children with type (1) diabetes mellitus: relationship to body mass index, insulin dose , and glycemic control". Metabolism. 51(3): 292-296.
10. Ahmed, M.L.; Ong, K.K.; Watts, A.P., Morrell, D.J.; Preece, M.A.; and Dnnger, D.B.(2001)."Elevated leptin levels are associated with excess gains inpafmass in girls, but not boys, with type (1) diabetes: longitudinal study during adolescence". J. Clin. Endocrinol. Metab. 86 (3): 1188-1193.
11. Kirel, B.; Dogruel, N.; Korkmaz, U.; Kilic, F.S.; Ozdamar, K.; and Ucar, B. (2000)."Serum leptin levels in type (1) diabetic and obese children: relation to insulin levels". Clin. Biochem. 33(6): 475-480.

12. Miyanaga, F.; Ogawa, Y.; Ebihara. K.; Hidaka, S.; Tanaka, T.;Hayashi., S.; Masuzaki, H.; and Nakao, K.(2003). "Leptin as an adjunct of insulin therapy in insulin deficient diabetes". Diabetologia. 46: 1329-1337.
13. Wilson, M.A.; and Miles, L.E.(1977). "Radioimmuno assay of Insulin ". In: Handbook of Radioimmunoassay. G.E.Abraham, Ed. New York, Marcel Dekker, Inc., 275.
14. Kellerer, M,; Lammers, R.; Fritsche, A.; Strack, V.; Machicao, F.; Borboni, P.; ullrich, A.; and Horing, H.U.(2001)."Insulin inhibits leptin receptor signaling in HEK_{293} cells at the level of janus kinase-$_2$: apotential mechanism for hyperinsulinaemia assocatied Leplin resistance" . Diabetologia . 44 (9) : 1125 – 1132 .
15. Zietz, B.; Schaffler, A.; Buttner, R.; Scholmerich, J.; and palitzsch, K.D. (2000). "Elevated levels of leptin and insulin but not of TNF alpha are associated with hypertension in type (2) diabetic males". Exp. Clin. Eudocrinol. Diabetes. 108 (4): 259-264.
16. Ortiz, M.G.; Abundis, E.M.; and Martinez, J.M.M.(2000a) "Acute effect of physiologic hyperinsulinaemia on serum leptin concentration in healthy young people". Acta. Diabetol. 37: 83-86.
17. Ortiz, M.G.; Abundis, E.M.; and Munoz, B.R.B.(2000b). " Serum leptin concentration in Young Insulin sensitive and Insulin-Resistant volunteers". Horm. Metab. Res. 32(7): 273-276.
18. Abdelgadir, M., Elbagir, M.; Eltom, M.; Berne, C., and Ahren, B. (2002)."Reduced Leptin Concentration in subjects with type (2) diabetes mellitus in Sudan". Metabolism. 51(3): 304-306.
19. Trinder, P.(1969)." Determination of glucose in blood using glucose oxidease with an all ernative oxygen acceptor". Ann. Clin. Biochem. 6: 2427.