

مقاله پژوهش

اثرات متفورمین بر میزان چربیهای خون در رتهای باردار هیپرگلیسمیک و نوزادان

زبیا رجائی^۱، موسی الرضا حاج زاده^{۲*}، آزاده نظری^۳، مقدسه شمس^۴

^۱ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۲ استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۳ کارشناس ارشد فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

^۴ دانشجوی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران

*نویسنده مسئول: دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد، مشهد، ایران

پست الکترونیک: hajzadehm@ums.ac.ir

وصول: ۱۳۹۱/۱۱/۱۸ اصلاح: ۱۳۹۱/۱۱/۱۵ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۱۷

چکیده

زمینه و هدف: دیابت حاملگی نوعی عدم تحمل به گلوکز، به هر میزان می باشد که شروع و یا تشخیص اولیه آن در دوره بارداری است. متفورمین از دسته داروهای خوراکی مورد استفاده در درمان دیابت تیپ ۲ است و در بارداری از جمله داروهای کلاس B محسوب می شود. در این مطالعه، اثر متفورمین بر میزان چربیهای خون در رتهای مبتلا به دیابت بارداری و نوزادان آنها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار: رتهای ماده از نزد ویستار در ۵ گروه کنترل سالم، شم، کنترل دیابتی (هیپرگلیسمی) و گروههای تجربی تحت درمان با دوزهای ۱۶۰ و ۳۰۰ mg/kg متفورمین مورد مطالعه قرار گرفتند. القاء هیپرگلیسمی مشابه دیابت بارداری با تزریق روزانه دو بار گلوکز هیپرتونیک با دوز ۴ g/kg و به دنبال آن تزریق مدروكسی پروژسترون با دوز ۳ mg/kg به صورت داخل صفاقی از روز پنجم بارداری تا پایان دوره بارداری انجام شد. گروههای تجربی از روز ۵ بارداری روزانه ۱۶۰ mg/kg و ۳۰۰ mg/kg متفورمین به صورت خوراکی همراه آب مصرفی دریافت نمودند. میزان تری گلیسرید، کلسترول تام، کلسترول LDL و کلسترول HDL سرم مادران در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری و در نوزادان در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد پس از یک ناشتاگی ۱۴ ساعته اندازه گیری شد.

یافته ها: پس از تزریق گلوکز هیپرتونیک و مدروكسی پروژسترون، میزان گلوکز سرم در رتهای باردار هیپرگلیسمیک نسبت به گروه کنترل بطور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.05$). مقادیر تری گلیسرید، کلسترول تام و کلسترول LDL سرم در رتهای باردار هیپرگلیسمیک و نوزادان آنها نسبت به گروه کنترل بطور نسبی افزایش و مقدار کلسترول HDL کاهش یافت. درمان رتهای باردار هیپرگلیسمیک با متفورمین در دوزهای ۱۶۰ و ۳۰۰ mg/kg افزایش و مقدار تری گلیسرید، کلسترول تام و کلسترول LDL سرم مادران و نوزادان را نسبت به گروه کنترل به طور نسبی کاهش و میزان کلسترول HDL را افزایش داد که البته این تغییرات معنی دار نبود.

نتیجه گیری: بنظر می رسد مدل رت باردار هیپرگلیسمیک مدلی قابل انطباق با دیابت بارداری در انسان است و درمان با متفورمین درمانی قابل پذیرش و بدون عارضه برای مادران مبتلا به دیابت بارداری و نوزادان آنها است.

واژه های کلیدی: دیابت بارداری، متفورمین، چربی، هیپرگلیسمی، نوزاد

مقدمه

دیابت ناشی از بارداری (GDM)، با هرگونه اختلال در سطح گلوکز تعریف می شود که برای اولین بار در طی بارداری بروز نماید. طی بارداری، جفت و هورمونهای

1. Gestational Diabetes Mellitus

غلظت آن در خون بند ناف در حدود ۵.۵٪ غلظت مادری است [۱۳]. لذا لازم است مطالعات بیشتری بویژه مطالعات حیوانی در مورد اثرات مصرف متغورمین در دوران بارداری بر سلامت مادر و جنین صورت گیرد تا زوایا و ابعاد بیشتری از اثرات آن شناخته شود. در این راستا، هدف از انجام این مطالعه تجربی، بررسی اثر متغورمین بر میزان چربیهای خون رتهای باردار هیپرگلیسمیک و نوزادان آنها تا یک ماه پس از تولد است. شاید درمان با متغورمین که استفاده از آن برای زنان مبتلا به GDM خوشایندتر است و هزینه کمتری نسبت به انسولین دارد و نیز عوارض انسولین را در افراد با افزایش وزن و یا زنان دچار چاقی نخواهد داشت بتواند در آینده جایگاه خود را در درمان دیابت بارداری در زنان باردار بدست آورد.

روش کار

جهت القاء دیابت از گلوکز هیپرتونیک با دوز ۴ g/kg و به دنبال آن تزریق مدروکسی پروژستررون (که به علت اثرات ضد انسولینی و ایجاد مقاومت به انسولین سبب حفظ هیپرگلیسمی برای مدت طولانی تری می‌گردد) با دوز ۳mg/kg روزانه در دو نوبت ۸ صبح و ۲ بعد از ظهر به صورت داخل صفاقی استفاده شد [۱۴-۱۶]. جهت تایید مدل هیپرگلیسمی، ابتدا قند خون ناشتای ۱۰ حیوان باردار اندازه گیری شد و سپس به فواصل ۱، ۲ و ۳ ساعت بعد از تزریق گلوکز هیپرتونیک و مدروکسی پروژستررون، میزان قند خون حیوانات با گرفتن یک قطره خون از دم حیوان و با استفاده از گلوكومتر اندازه گیری شد.

حیوانات مورد استفاده در این مطالعه تجربی، رتهای ماده از نژاد ویستار با محدوده وزنی 200 ± 30 گرم بود که در بخش حیوانات دانشکده پزشکی مشهد پرورش یافته بودند. در سراسر دوره آزمایش، حیوانات تحت شرایط استاندارد و درجه حرارت مطلوب 25 ± 2 درجه سانتی گراد و سیکل روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته قرار داشتند و دسترسی آنها به آب و غذا به طور آزاد بود. سپس حیوانات بصورت تصادفی به ۵ گروه زیر دسته بندی شدند:

(۱) گروه کنترل سالم ($n=7$): که هیچ گونه تیماری روی آن انجام نشد.

(۲) گروه شم ($n=7$): رتهای بارداری که از روز پنجم بارداری تا پایان دوره بارداری، روزانه ۲ بار نرمال سالین به

زمان ۲۴-۲۸ هفته پس از بارداری می‌تواند به تعویق افتاد [۱]. شیوع دیابت حاملگی به موازات افزایش دیابت نوع ۲ رو به افزایش است و زنانی که در معرض خطر ابتلا به دیابت نوع ۲ هستند به طور ویژه در معرض ابتلا به دیابت حاملگی قرار دارند [۲]. در کشور ما نیز در سالهای اخیر تعداد مبتلایان به دیابت حاملگی که از مراکز بهداشتی و تسهیلات زایمانی به مراکز بیمارستانی ارجاع داده می‌شوند به طور واضح افزایش یافته است، بویژه اینکه سن ازدواج بالا رفته و افزایش وزن و چاقی نیز در بین زنان در سن باروری رو به افزایش است [۳]. شیوع دیابت حاملگی در کشورهای مختلف به میزان $8/8\%-2/2\%$ حاملگی های سالانه گزارش شده است [۴].

ریسک فاکتورهای ایجاد دیابت بارداری شامل مواردی مانند چاقی، سن بالا، فشار خون بالا [۵، ۶]، سابقه خانوادگی، باروری نامتوازن قبلی، نژاد، سندروم تخمدان پلی کیستیک، سابقه دیابت بارداری در حاملگی های قبلی، سابقه داشتن نوزاد ماکروزووم قبلی و اختلال تست تحمل قند قبل از حاملگی می‌باشد [۷]. اگر چه در 90% مادران مبتلا به دیابت بارداری، پس از زایمان تست تحمل قند طبیعی می‌شود [۸]، اما این زنان در سالهای بعد مستعد ابتلا به دیابت نوع ۲ می‌باشند بطوریکه $60\%-15\%$ زنان با GDM به فاصله ۱۵-۵ سال پس از زایمان دچار دیابت نوع ۲ می‌شوند [۹]. در یک بررسی، 36% از زنان مبتلا به دیابت حاملگی در فاصله ۲۲-۲۸ سال پس از زایمان مبتلا به دیابت نوع ۲ شدند [۱۰].

در سالهای اخیر مطالعاتی در زمینه دیابت دوران بارداری با داروهای کاهنده قند خون خوراکی مثل گلی بن کلامید و متغورمین به صورت پراکنده و در تعداد نسبتاً محدود در مطالعات آینده نگر انجام شده است که در کوتاه مدت اثرات سویی را بر محصول حاملگی نشان نداده و حتی در مواردی مزیت هایی نیز داشته است. متغورمین کارآمدی بسیار خوبی در کاهش مقاومت به انسولین (افزایش حساسیت بافتی به انسولین) به ویژه در موارد مقاومت به انسولین در دیابت نوع ۲ نشان داده است [۱۱]. در پژوهش های سالهای اخیر نیز موارد امیدوارکننده ای از اثرات متغورمین در موارد دیابت بارداری گزارش شده است [۱۲، ۱۳]. متغورمین از جفت عبور می‌کند و در انسان

همانطور که نمودار ۱ نشان می دهد غلظت تری گلیسیرید سرم گروههای مختلف در روز صفر آزمایش تفاوت معنی داری نداشت. در روز ۵ بارداری نیز تفاوت معنی داری بین غلظت تری گلیسیرید گروههای مختلف مشاهده نشد. غلظت تری گلیسیرید سرم روز ۱۵ گروه کنترل نسبت به روز ۱۵ گروه شم هیچ گونه اختلاف معنی داری نشان نداد. غلظت تری گلیسیرید سرم روز ۱۵ گروه هیپرگلیسمیک نسبت به روز ۱۵ گروه کنترل به میزان ۷.۵٪ افزایش داشت اما این تفاوت معنی دار نبود و غلظت تری گلیسیرید سرم در گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه هیپرگلیسمی به ترتیب به میزان ۶٪ و ۲۳٪ کاهش یافت اما این کاهش نیز معنی دار نبود. غلظت تری گلیسیرید سرم روز ۲۰ در بین گروههای مختلف تفاوت معنی داری نداشت.

ب) غلظت کلسترول تام سرم در گروههای مختلف رتهای باردار در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری: همانگونه که در نمودار ۲ مشاهده می شود، غلظت کلسترول تام سرم در روز صفر در بین گروههای مختلف تفاوت معنی داری نداشت. در روز ۵، غلظت کلسترول تام در گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۳۴٪ افزایش یافت اما این افزایش معنی دار نبود و در گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه هیپرگلیسمی، غلظت کلسترول تام بطور جزئی کاهش یافت اما این کاهش نیز معنی دار نبود. غلظت کلسترول تام سرم در روزهای ۱۵ و ۲۰ در بین گروه های مختلف تفاوت معنی داری نداشت.

ج) غلظت کلسترول LDL سرم در گروههای مختلف رتهای باردار در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری: همانطور که نمودار ۳ نشان می دهد، غلظت کلسترول LDL سرم روز صفر در بین گروه های مختلف تفاوت معنی داری نداشت. در روز ۵، غلظت کلسترول LDL سرم گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به ترتیب به میزان ۲۴٪ و ۲۶٪ افزایش یافت اما این افزایش معنی دار نبود. غلظت کلسترول LDL سرم گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه هیپرگلیسمی به ترتیب به میزان ۲۴٪ و ۲۵٪ کاهش یافت که این کاهش نیز معنی دار نبود. در روز ۱۵ غلظت کلسترول LDL سرم در گروه هیپرگلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۵.۳٪ افزایش نشان داد

صورت داخل صفاقی با حجمهای مساوی با گلوکز هیپرتونیک و مdroوكسی پروژسترون دریافت نمودند.

(۳) گروه کنترل دیابتی (هیپرگلیسمی) (n=۷): رتهای باردار از روز پنجم حاملگی روزانه ۲ بار گلوکز هیپرتونیک و مdroوكسی پروژسترون به صورت داخل صفاقی تا پایان دوره بارداری دریافت نمودند.

(۴) گروه تجربی ۱ (n=۷): همانند گروه کنترل دیابتی تیمار شده و علاوه بر آن از همان روز ۵ حاملگی تا پایان دوره بارداری mg/kg/day ۱۶۰ متفورمین به صورت خوراکی همراه با آب مصرفی دریافت نمودند [۱۷-۱۹].

(۵) گروه تجربی ۲ (n=۷): همانند گروه تجربی ۱ تیمار شده و از روز ۵ حاملگی تا پایان دوره بارداری mg/kg/day ۳۰۰ متفورمین به صورت خوراکی همراه با آب مصرفی دریافت نمودند [۱۷-۱۹].

در تمامی گروهها، در روز صفر (قبل از تزریق)، ۵، ۱۵ و ۲۰ حاملگی از شبکه وریدی چشم خونگیری به عمل آمد. همینطور نمونه خون از چشم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد جمع آوری شد. سرم نمونه های خونی با سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۳۰۰۰ در دقیقه جدا شد و نمونه های سرم تا زمان اندازه گیری تری گلیسیرید، کلسترول تام، کلسترول LDL و کلسترول HDL در فریزر ۲۰-۲ درجه نگهداری شد. مقدار چربی با استفاده از کیتهای روتین (شرکت پارس آزمون) و دستگاه فتومتر (Convergys 100) اندازه گیری شد. داده ها بصورت Mean ± SEM بیان گردید و با استفاده از آزمونهای تی زوجی، آنالیز واریانس و تست متعاقب توکی در نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. ۰/۰۵ < P < ۰/۰۵ بعنوان سطح معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

تائید مدل هیپرگلیسمی: همانگونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، میزان قند خون در هر سه گروه کنترل دیابتی، تجربی ۱ و تجربی ۲ در طول ۳ ساعت پس از تزریق گلوکز هیپرتونیک و مdroوكسی پروژسترون در مقایسه با ساعت صفر افزایش معنی داری یافته است.

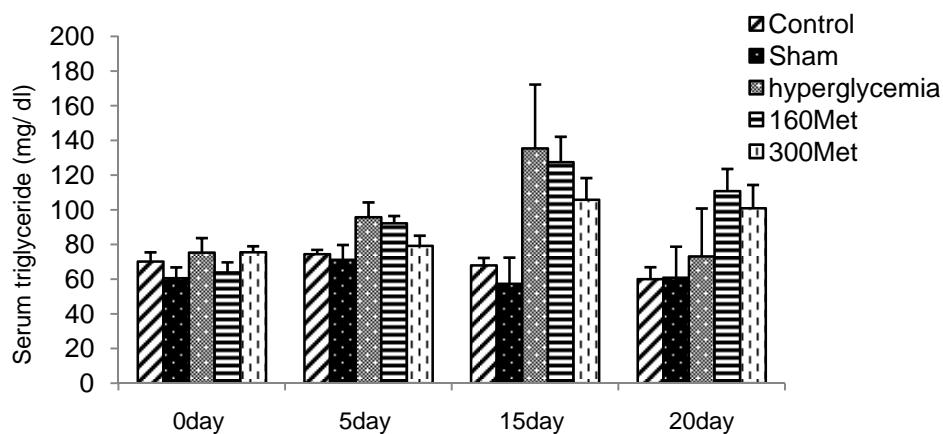
بررسی بیوشیمیایی سرم رتهای باردار:

الف) غلظت تری گلیسیرید سرم در گروههای مختلف رتهای باردار در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری:

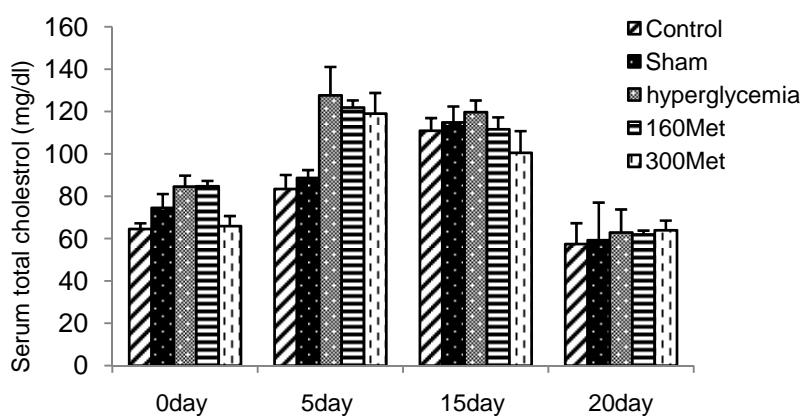
جدول ۱: میزان قند خون (mg/dl) در ساعت قبل از تزریق گلوکز هیپرتونیک و مدروكسی پروژسترون و در فواصل ۱، ۲ و ۳ ساعت بعد از تزریق آن در ۳ گروه از حیوانات باردار مورد مطالعه

		غلظت قند خون (mg/dl)		گروه	زمان
		تجربی ۱ (متفورمین ۱۶۰)	تجربی ۲ (متفورمین ۳۰۰)		
دیابتی (هیپر گلیسمی)	کنترل				
ساعت صفر (قبل از تزریق)	ساعت اول	ساعت دوم	ساعت سوم		
۱۲۱/۴ ± ۵/۰۴۸	۱۲۰/۴ ± ۴/۱۰	۱۱۲/۶ ± ۶/۹۸	۲۰۵/۱ ± ۱۵/۳۰ **	۱۶۶/۷ ± ۷/۴۱ **	۱۶۶ ± ۶/۸۵ **
۱۴۲/۷ ± ۳/۱۹ **	۱۳۲/۷ ± ۴/۶۱ *	۱۴۷/۷ ± ۴/۸۹ **		۱۳۰/۵ ± ۳/۱۳ *	۱۲۵/۲ ± ۲/۸۶ *
		۱۳۶ ± ۳/۶۴ *			

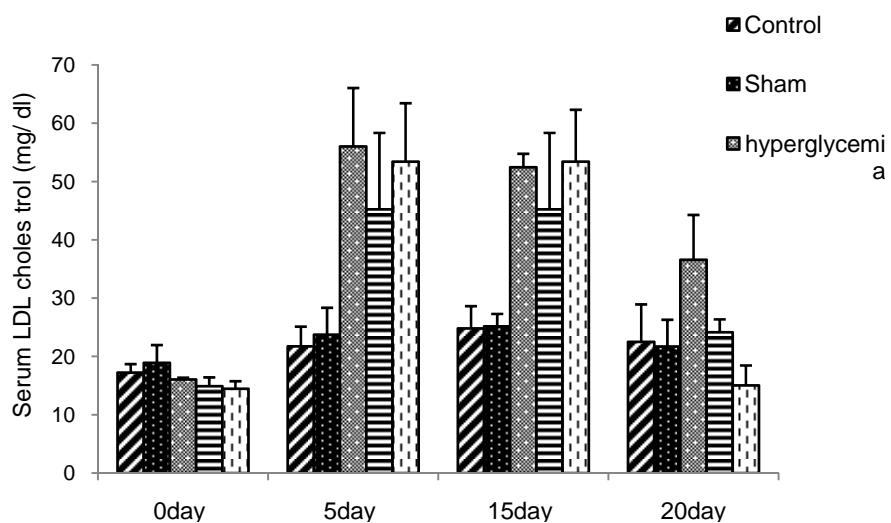
نمایش داده ها به صورت Mean±SEM و بررسی آماری به روش Paired T-test است ($p < 0.05$ و $p < 0.01$ در مقایسه با مقدار قبل از تزریق در هر گروه و $n=7$).



نمودار ۱: مقایسه غلظت تری گلیسرید سرم مادران باردار گروههای مختلف در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری نمایش داده ها به صورت SEM و بررسی آماری به روش one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروهها $n=7$ بود.



نمودار ۲: مقایسه غلظت کلسترول تام سرم مادران باردار گروههای مختلف در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری نمایش داده ها به صورت و بررسی آماری به روش one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروه ها $n=7$ بود Mean \pm SEM



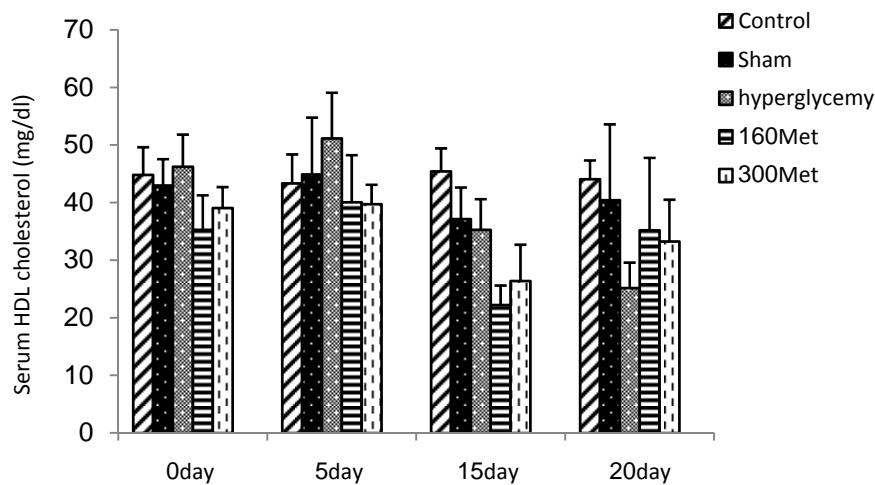
نمودار ۳: غلظت کلسترول LDL سرم مادران باردار گروههای مختلف در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارهای نمایش داده ها به صورت و بررسی آماری به روش one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروه ها $n=7$ بود Mean \pm SEM

معنی دار نبود و غلظت تری گلیسرید سرم نوزادان گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با نوزادان گروه هیپر گلیسمی به ترتیب به میزان ۶٪ و ۲۲٪ کاهش یافت اما این کاهش ها نیز معنی دار نبود. ب) غلظت کلسترول تام سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد: همانگونه که در نمودار ۶ مشاهده می شود بین غلظت کلستروول تام سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد تفاوت معنی داری وجود نداشت. ج) غلظت کلستروول LDL سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد: همانطور که در نمودار ۷ دیده می شود در روز ۱۵ پس از تولد غلظت کلستروول LDL سرم نوزادان گروه هیپر گلیسمی در مقایسه با نوزادان گروه کنترل به میزان ۳۱٪ افزایش نشان داد اگر چه این افزایش معنی دار نبود. همچنین در نوزادان گروههای تجربی ۱ و ۲، غلظت کلستروول LDL سرم در مقایسه با نوزادان گروه هیپر گلیسمی به ترتیب به میزان ۶۳٪ و ۶۷٪ کاهش یافت اما این کاهش نیز معنی دار نبود. در روز ۳۰ پس از تولد، بین غلظت کلستروول LDL سرم نوزادان گروههای مختلف، تفاوت معنی دار مشاهده نشد. د) غلظت کلستروول HDL سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد: همانگونه که نمودار ۸ نشان می دهد غلظت کلستروول HDL سرم نوزادان گروه هیپر گلیسمی در روز ۱۵ پس از تولد در مقایسه با نوزادان گروه کنترل به میزان ۳۸٪ کاهش یافت اما این کاهش معنی دار نبود. غلظت کلستروول HDL سرم نوزادان گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه هیپر گلیسمی به ترتیب به میزان ۵۲٪ و ۴۸٪ و به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.05$). در روز ۳۰ پس از تولد، غلظت کلستروول HDL سرم نوزادان گروه هیپر گلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۱۴٪ کاهش یافت اما این کاهش معنی دار نبود. در نوزادان گروه تجربی ۱، غلظت کلستروول HDL سرم در مقایسه با نوزادان گروه هیپر گلیسمی به میزان ۳۴٪ افزایش یافت اما این افزایش معنی دار نبود. اما غلظت کلستروول HDL سرم در نوزادان گروه تجربی ۲ در مقایسه با گروه هیپر گلیسمی به میزان ۵۳٪ و به طور معنی داری افزایش نشان داد ($p < 0.05$).

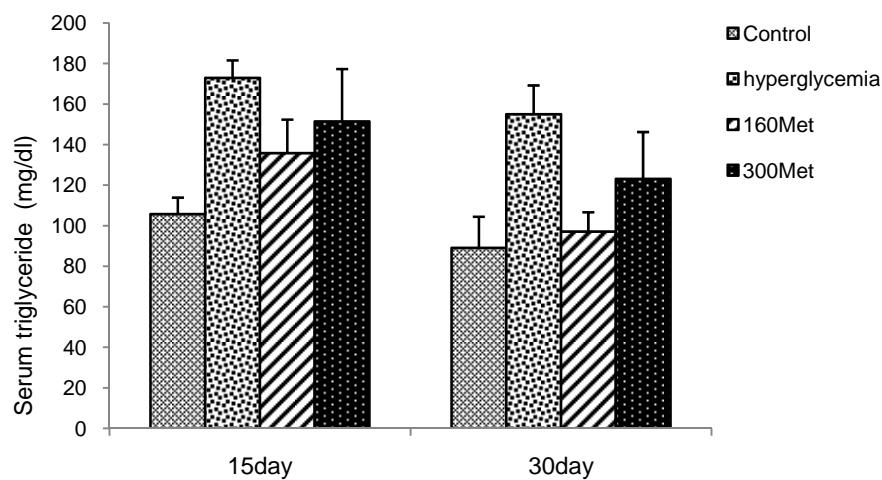
اما این افزایش معنی دار نبود. غلظت کلستروول LDL سرم در گروه تجربی ۱ در مقایسه با گروه هیپر گلیسمی به طور جزئی کاهش یافت اما این کاهش نیز معنی دار نبود. در روز ۲۰، غلظت کلستروول LDL سرم در گروه هیپر گلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۳۸٪ افزایش یافت اما این افزایش معنی دار نبود و غلظت کلستروول LDL سرم در گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه هیپر گلیسمی به ترتیب به میزان ۵۰٪ و ۵۸٪ کاهش نشان داد اما این کاهش نیز معنی دار نبود.

د) غلظت کلستروول HDL سرم در گروههای مختلف رتهای باردار در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری: همانگونه که در نمودار ۴ مشاهده می شود غلظت کلستروول HDL سرم در روزهای صفر و ۵ بارداری در بین گروه های مختلف تفاوت معنی داری نداشت. در روز ۱۵ بارداری، غلظت کلستروول HDL سرم در گروه هیپر گلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۲۸٪ کاهش نشان داد اما این کاهش معنی دار نبود. غلظت کلستروول HDL سرم در گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با گروه هیپر گلیسمی به ترتیب به میزان ۵۹٪ و ۳۴٪ کاهش یافت اما این کاهش ها نیز معنی دار نبود. در روز ۲۰ بارداری، غلظت کلستروول HDL سرم در گروه هیپر گلیسمی در مقایسه با گروه کنترل به میزان ۴۴٪ کاهش داشت و در گروههای تجربی ۱ و ۲، غلظت کلستروول HDL سرم در مقایسه با گروه هیپر گلیسمی به ترتیب به میزان ۲۸٪ و ۲۴٪ افزایش نشان داد اما این تغییرات نیز معنی دار نبود.

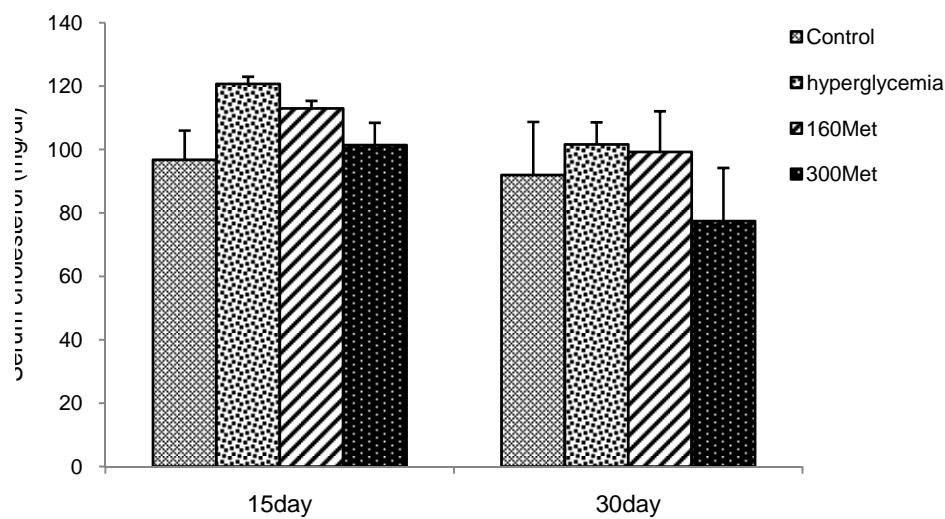
بررسی بیوشیمیابی سرم نوزادان : الف) غلظت تری گلیسرید سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد: همانطور که نمودار ۵ نشان می دهد غلظت تری گلیسرید سرم نوزادان گروه هیپر گلیسمی در مقایسه با نوزادان گروه کنترل در روز ۱۵ پس از تولد به میزان ۳۸٪ افزایش یافت و در نوزادان گروههای تجربی ۱ و ۲ در مقایسه با نوزادان گروه هیپر گلیسمی به میزان ۱ و ۲ در مقایسه با نوزادان گروه هیپر گلیسمی به میزان ۱۳٪ و ۲۷٪ کاهش نشان داد اما این تغییرات معنی دار نبود. غلظت تری گلیسرید سرم نوزادان گروه هیپر گلیسمی در روز ۳۰ پس از تولد در مقایسه با نوزادان گروه کنترل، به میزان ۴۲٪ افزایش یافت اما این افزایش



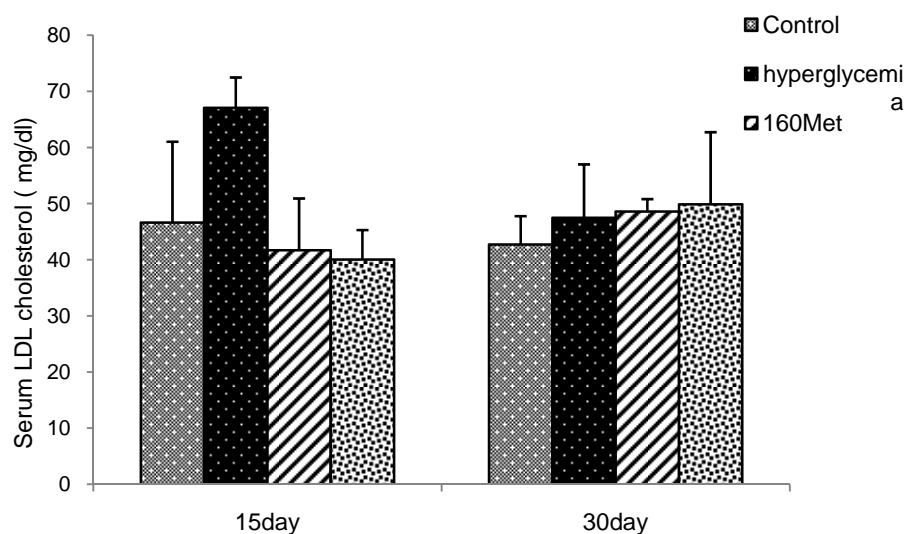
نمودار ۴: غلظت کلسترول HDL سرم مادران باردار گروههای مختلف در روزهای صفر، ۵، ۱۵ و ۲۰ بارداری نمایش داده ها به صورت one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروهها $n=7$ بود.



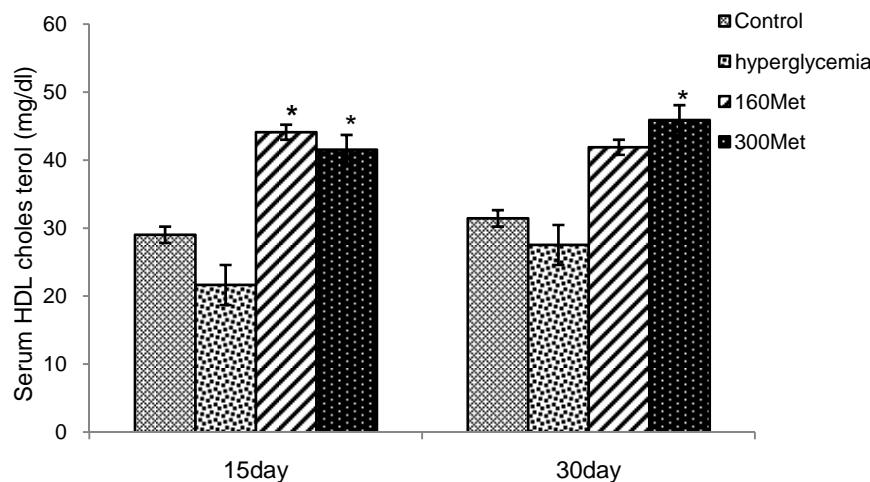
نمودار ۵: غلظت تری گلیسرید سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد نمایش داده ها به صورت one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروهها $n=5$ بود.



نمودار ۶: غلظت کلسترول تام سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد نمایش داده ها به صورت Mean \pm SEM و بررسی آماری به روش one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروهها n=5 بود



نمودار ۷: غلظت کلسترول LDL سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد نمایش داده ها به صورت Mean \pm SEM و بررسی آماری به روش one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروهها n=5 بود



نمودار ۸: غلظت کلسترول HDL سرم نوزادان گروههای مختلف در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد نمایش داده ها به صورت Mean \pm SEM و بررسی آماری به روش one-way ANOVA و تست تعقیبی Tukey انجام شد و در هر یک از گروهها n=۵ بود. *p<0.05.

ایجاد گردید و در زمانهای صفر، ۳۰، ۶۰ و ۱۲۰ دقیقه پس از تزریق، غلظت گلوکز خون در گروه هیپرگلیسمی به ترتیب $136/26$ ، $216/42$ ، $151/63$ و $134/43$ اندازه گیری شد [۱۶]. یافته های مانیز در تایید نتایج پژوهش این محقق نشان می دهد که با تزریق گلوکز هیپرتونیک می توان به طور کوتاه مدت سطح قند خون را در رتهای باردار افزایش داد. در پژوهش دیگری که توسط حسین دینی در سال ۸۰ تحت عنوان "مقایسه اثر آمرینون (یک مهار کننده انتخابی PDE) و IBMX (یک مهار کننده غیر انتخابی PDE) بر ترشح انسولین و قند خون در موش سوری" انجام گرفت، ۳ دوز g/kg ۸ و ۴ و ۲ گلوکز هیپرتونیک به صورت داخل صفاقی تزریق شد و میزان قند خون، در سه زمان ۶۰، ۳۰ و ۹۰ دقیقه اندازه گیری شد و دوز مناسب جهت انجام پژوهش ۴ g/kg انتخاب شد و دوز مناسب جهت انجام پژوهش حاضر بیشتر با یافته های گردید. یافته های ما در پژوهش حاضر بیشتر با یافته های دینی و همکاران هماهنگ است و می توان این روش را در رت، مدلی قابل قبول برای دیابت بارداری تلقی نمود [۲۱].

در پژوهش حاضر غلظت کلسترول تام و کلسترول LDL سرم رتهای باردار هیپرگلیسمیک در طی بارداری نسبت به گروه کنترل به مقدار جزئی افزایش و غلظت کلسترول HDL کاهش یافت. بنظر می رسد این تغییرات جزئی به علت افزایش نسبی و موقت قند خون و یا به دلیل کوتاهی دوران بارداری در رت باشد. همچنین نتایج نشان داد

بحث

نتایج مطالعه حاضر حاکی از این است که با تزریق گلوکز هیپرتونیک و مdroکسی پروژسترون به رتهای باردار، قند خون در طول سه ساعت پس از تزریق افزایش می یابد. این مدل با تزریق روزانه دو بار گلوکز و مdroکسی پروژسترون می تواند قند خون رت باردار را در حدود ۶-۸ ساعت در روز، در سطح هیپرگلیسمی و بالاتر از حد نرمال نگه دارد که حالتی شبیه دیابت بارداری است.

برای تشخیص قطعی دیابت بارداری علاوه بر توجه به قند خون ناشتا به عنوان یک معیار در تشخیص، آزمایش GCT^۱ و به طور دقیق اندازه گیری با روش OGTT^۲ انجام می شود. در مطالعه ای که توسط IAOD^۳ و PSG^۴ در سال ۲۰۱۰ انجام گرفت، سطح آستانه OGTT برای GDM یک ساعت پس از خوردن ۷۵ گرم گلوکز ۹۱mg/dl و ۲ ساعت پس از خوردن ۷۵ گرم گلوکز ۱۵۰mg/dl مشخص شد [۲۰].

در پژوهشی که توسط مليحه مقدمی در سال ۸۸ با عنوان "بررسی اثر هیپرگلیسمی حاد ملایم و مکرر بر ساختار هیپوکامپ و تشنج پذیری ناشی از پنتیلن تترازول در رت" انجام گرفت، هیپرگلیسمی در حیوانات تجربی با تزریق $2 g/kg$ گلوکز هیپرتونیک به صورت داخل صفاقی

- 1. Glucose Challenge Test
- 2. Oral glucose tolerance test
- 3. International Association of Diabetes
- 4. Pregnancy Study Groups

تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی خون از جمله کلسترول و اختلالات ناشی از آن در کوتاه مدت مدل مناسبی است و می توان این مدل را در مطالعات برای بررسی GDM و عوارض آن در تعیین به موارد انسانی به کار برد.

طبق نتایج این مطالعه، هیپرگلیسمی مادران در دوران بارداری موجب افزایش جزئی تری گلیسیرید سرم نسبت به گروه کنترل گردید و مصرف متفورمین نیز با دو دوز مصرفی اثر جزئی در کاهش تری گلیسیرید مادران باردار داشت. احتمالا هیپرگلیسمی نسبی در مادران باردار و کوتاهی دوران بارداری در رت دلایل عمدی ای باشند که افزایش سطح تری گلیسیرید را موجب نمی شوند.

میزان تری گلیسیرید سرم در بین نوزادان گروههای مختلف که در دو روز ۱۵ و ۳۰ پس از تولد اندازه گیری شد تفاوت معنی داری نداشت. بنابراین، این مدل از هیپرگلیسمی دوران بارداری اثری بر تری گلیسیرید زاده ها ندارد و از طرف دیگر، عدم تاثیر متفورمین بر تری گلیسیرید سرم نوزادان را نشان می دهد و مؤید آن است که تجویز متفورمین در دوره بارداری در مادران حداقل اثر بر سطح تری گلیسیرید نوزادان آنها در فاصله یک ماهه از تولد به وجود آورده است. لذا متفورمین می تواند به راحتی و بدون دغدغه ایجاد تغییرات در تری گلیسیرید و GDM سایر چربیهای خون در فرزندان مادران حامله با مصرف شود. اگر چه تغییرات در سطوح قند، کلسترول و تری گلیسیرید در رتهای باردار هیپرگلیسمیک نسبی است اما همین تغییرات نسبی می تواند زمینه ساز اختلالات متابولیکی وبرخی از عوارض گردد که در دوران بارداری برای مادر و جنین و پس از تولد برای نوزادان و حتی در اوایل جوانی برای فرزند اختلالات و مشکلاتی را بوجود آورد. در مطالعه ای که در فنلاند به صورت آینده نگر توسط راوی و همکاران^۳ انجام شد، زنان مبتلا به GDM در ۳ گروه تحت درمان با متفورمین، انسولین و بدون درمان قرار گرفتند، یافته ها تفاوتی بین گروه متفورمین و دو گروه دیگر از نظر متوسط وزن نوزاد، زمان تولد و شیوع ماکروزومی نشان نداد [۲۴]. در مطالعه ای که توسط دی فرونزو و همکاران^۴ در سال ۱۹۹۵ تحت عنوان "اثرات

غلظت کلسترول تام و کلسترول LDL سرم در رتهای باردار تحت درمان با متفورمین نسبت به گروه هیپرگلیسمی به طور جزئی و غیر معنی داری کاهش و غلظت HDL در روز ۲۰ بارداری افزایش یافت. در مطالعه ای که توسط روшибو و همکاران^۱ در سال ۲۰۰۵ بر روی ۳۵ زن باردار مبتلا به سندرم تخمدان پلی کیستیک که ۶ ماه تحت درمان با متفورمین بودند انجام گرفت نتایج نشان داد که متفورمین سطح کلسترول HDL سرم را افزایش و سطح کلسترول تام و تری گلیسیرید سرم را نیز به طور معنی داری کاهش داد و موجب کاهش ریسک بیماریهای قلبی نیز گردید [۲۲].

در مجموع با توجه به اینکه در این مطالعه تغییرات غلظت کلسترول در رتهای باردار هیپرگلیسمیک جزئی است، به نظر می رسد که در این شرایط افزایش جزئی و کوتاه مدت دوران بارداری عامل مهمی برای تغییرات غلظت کلسترول پلاسمما و افزایش آن که موجب افزایش ریسک بیماریهای قلبی عروقی گردد نمی باشد. تجویز متفورمین نیز اثرات سویی بر میزان کلسترول پلاسمما ندارد و حتی به طور نسبی آنرا کاهش می دهد.

نتایج مطالعه حاضر همچنین نشان داد که تغییرات میزان کلسترول در نوزادان مادران هیپرگلیسمیک در روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از تولد در مقایسه با نوزادان زاده شده از مادران گروه کنترل تفاوت قابل ملاحظه ای ندارد که می تواند ناشی از عدم تاثیر هیپرگلیسمی نسبی، که در این مدل مطالعه در حیوانات به وجود آمده است، بر میزان کلسترول باشد. در مطالعه ای که توسط گلوواک^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۱ انجام گرفت نیز از ۷۲ زن که در طی بارداری متفورمین مصرف می کردند و در آنها از ۸۴ جنین، ۶۳ تولد زنده طبیعی و بدون نقص مادرزادی متولد شد، هیچ گونه اختلالی در میزان کلسترول تام، کلسترول HDL، کلسترول LDL و تری گلیسیرید سرم مادران و نوزادان آنها وجود نداشت [۲۳]. یافته های ما در پژوهش حاضر نیز موید نتایج این محققین است و بنظر می رسد که مدل رت باردار هیپرگلیسمیک برای بررسی

1. Rautio

2. Glueck

نتیجه گیری

با توجه به اینکه هیپرگلیسمی ایجاد شده در این مطالعه یک هیپرگلیسمی نسی است، تغییرات ایجاد شده در فاکتورهای بیوشیمیابی مورد مطالعه نیز جزئی است و درمان با متوفورمین نیز کاهش جزئی در سطح آنها ایجاد کرده و بدنبال آن کمترین تغییرات را در سطح فاکتورهای مورد بررسی در نوزادان بهمراه داشته است. در مجموع بنظر می‌رسد مدل رت باردار هیپرگلیسمیک مدلی قابل انطباق با دیابت بارداری در انسان است و درمان با متوفورمین درمانی قابل پذیرش و بدون عارضه برای مادران مبتلا به دیابت حاملگی و نوزادان آنها است.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد به جهت حمایت مالی پژوهش حاضر اعلام می‌دارند.

متوفورمین در بیماران با دیابت غیر وابسته به انسولین^۱ انجام گرفت، از دو پروتکل درمانی (۱) تحت درمان با متوفورمین به تنها یکی در مقایسه با گروه پلاسبو (۲) تحت درمان با متوفورمین و گلی بوراید در مقایسه با متوفورمین به تنها یکی و گلی بوراید به تنها یکی استفاده شد. نتایج نشان داد که در هر دو پروتکل درمانی در بیمارانی که متوفورمین مصرف کردند به طور معنی داری سطح کلسترول تام و تری گلیسرید بیماران کاهش یافت. همچنین نشان داده شد که افزایش چربیهای خون به خصوص هیپرتری گلیسریدیمی در دیابت بارداری با تجویز متوفورمین بهبود یافت. در مطالعه بایلی و دگوگو^۲ نیز کاهش در سطح تری گلیسرید نشان داده شد [۲۷-۲۵]. در مطالعه ای که توسط گلوک و همکاران در سال ۲۰۰۲ انجام گرفت هیچ گونه اختلالی در میزان تری گلیسرید سرم مادران و نوزادان آنها وجود نداشت [۲۸]. در مطالعه دیگری که توسط همین محققین بر روی زنان مبتلا به سندروم تخمدان پلی کیستیک که در دوران حاملگی متوفورمین مصرف می‌کردند انجام شد، هیچ نوع اثرات سویی از متوفورمین بر جنین مشاهده نگردید. در این مطالعه که فرزندان مادران دیابتی درمان شده با متوفورمین از بدو تولد تا ۱۸ ماهگی مطالعه شدند در وزن، قد، رشد و تکامل، اعمال حرکتی و رفتارهای اجتماعی هیچگونه اختلالی را نشان ندادند [۲۸]. در مطالعه دیگری که توسط رونو^۳ و همکاران جهت بررسی اثرات متوفورمین طراحی و اجرا شد، ۷۵۱ زن مبتلا به دیابت بارداری به طور تصادفی در دو گروه با مصرف انسولین و با مصرف متوفورمین مطالعه شدند، در پایان مطالعه نتایج اولیه در هر دو گروه تفاوتی نداشت و هیچگونه عوارض نامناسبی در نوزادان مادران دیابتی که متوفورمین مصرف می‌کردند دیده نشد و در گروه متوفورمین تعداد بیشتری از زنان از نحوه درمان خود رضایت داشتند [۲۹]. نتایج مطالعه مانیز در تایید مطالعات فوق نشان می‌دهد که متوفورمین یک داروی قابل پذیرش و بی ضرر در درمان دیابت حاملگی است و در کنترل چربیهای خون در رتهای باردار هیپرگلیسمیک موثر است.

1. Bailey & Dagogo.

2. Rowan

References

1. Harrison TR, Principles of Internal Medicine, Tehran, 1991.
2. Cheung NW, The management of gestational diabetes, *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5(1):153-64.
3. Khosh-Niat Niko M, Abaszadeh Ahranjani SH, Larijani B, Prevalence of Gestational Diabetese in Iran, *Iran J Diab Lipid* 2008; 8(1):1-10.
4. Zhao J, Weiler HA, Long-term effects of gestational diabetes on offspring health are more pronounced in skeletal growth than body composition and glucose tolerance, *B J Nutr* 2010; 104(11):1641-9.
5. Moore TR, Fetal exposure to gestational diabetese contributes to subsequent adult metabolic syndrome, *Am J Obstet Gynecol* 2010; 202(6):643-9.
6. Hedderson MM, Ferrara A, High blood pressure before and during early pregnancy is associated with an increased risk of gestational diabetes mellitus, *Diabetes Care* 2008;31(12):2362-7.
7. Langer O, Mazze R, The relationship between large-for-gestational age infant and glycemic control in women with gestational diabetes, *Am J Obstet Gynecol* 1988; 159(6):1478-83.
8. Hod M, Merlob P, Friedman, S, "et al", Gestational diabetes mellitus: a survey of perinatal complications in the 1980s, *Diabetes* 1991; 40(2):74-8.
9. Ecker JL, Greenberg, JA, Norwitz ER, "et al", Birth Weight as a predictor of brachial plexus injury, *Obstet Gynecol* 1997;89:643-7.
10. Jang H, Cho N, Min Y, Han I, Jung K, Metzger B, Increased macrosomia and perinatal morbidity independent of maternal obesity and advanced age in Korean women with GDM, *Diabetes Care*, 1997;20(10):1582-8.
11. Kjos S, Buchanan T, Greenspoon J, Montoro M, Bernstein G, Mestman J, Gestational diabetes mellitus: the prevalence of glucose intolerance and diabetes mellitus in the first two months post partum, *Am J Obstet Gynecol* 1990;163:93-8.
12. Hughes R, Rowan J, Pregnancy in women with Type 2 diabetes: who takes metformin and what is the outcome ? *Diabet Med* 2006; 23(3):318-22.
13. Kapoor N, Sankaran S, Hyer S, Shehata H, Diabetes in pregnancy: a review of current evidence, *Curr Opin Obstet Gynecol* 2007; 19(6):586-90.
14. Leis D, Bottermann P, Ermel R, Henderkott U, Glück H, The influence of high doses of oral medroxyprogesterone acetate on glucose tolerance, serum insulin levels and adrenal response to ACTH A study of 17 patients under treatment for endometrial cancer, *Obstet Gynecol* 1980; 230(1):9-13.
15. Spellacy W, McLeod A, Buhi W, Birk S, McCreary S, Medroxyprogesterone acetate and carbohydrate metabolism: measurement of glucose, insulin, and growth hormone during 6 months' time, *Fertil Steril* 1970;21(6):457.
16. Moghadami M, Study of Effect of repeated mild acute hyperglycemia of structure of hippocampus and PTZ induced seizures inrat, Ferdowsi university of mashhad faculty of Sciences Department of Biology, September 2009[persian].
17. Verma S, Effect of metformin treatment on isolated cardiac function and blood pressure in diabetic and hypertensive rats, University of British columbia 1993.
18. Verma S, Bhanot S, McNeill JH, Antihypertensive effects of metformin in fructose-fed hyperinsulinemic, hypertensive rats, *Pharmacol Exp Ther* 1994; 271(3):1334-1337.
19. Kim YW, Kim JY, Park YH, Park SY, Won KC, Choi KH, Huh JY, Moon KH Metformin restores leptin sensitivity in high-fat-fed obese rats with leptin resistance, *Diabetes* 2006 Mar;55(3) 716-724.
20. The Internattional Association of Diabetese and Pregnancy Study Groups recommendations on the diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy, *Diabetese care* 2010; 33:676-82.
21. Dinni H, Comparing The Effects of Amrinon, Aselective PDE3 inhibitor and IBMX, A non-Selective PDE inhibitor on Insulin Secretion and plasma glucose concentration in mouse, Mashhad university of Medical scinces, school of pharmacy 2001.
22. Rautio K,Tapanainen J, Ruokonen A, Morin-Papunen L, Effects of metformin and ethinyl estradiol-cyproterone acetate on lipid levels in obese and non-obese women with polycystic ovary syndrome, *Eur J Endocrinol* 2005;152(2):269-75.
23. Glueck C, Phillips H, Cameron D, Sieve-Smith L, Wang P, Continuing metformin throughout pregnancy in women with polycystic ovary syndrome appears to safely reduce first-trimester spontaneous abortion: a pilot study, *Fertil Steril*. 2001;75(1):46-52.

24. Ravi K, Rajasekaran S, Subramanian S, Antihyperlipidemic effect of Eugenia jambolana seed kernel on streptozotocin-induced diabetes in rats, *Food Chem Toxicol* 2005; 43(9):1433-9.
25. DeFronzo RA, Goodman AM, Efficacy of metformin in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus, *N Engl J Med* 1995;333(9):541-9.
26. Bailey C, Turner RC, Drug therapy: metformin, *N Engl J Med* 1996;334(9):574-9.
27. Dagogo-Jack S, Santiago JV, Pathophysiology of type 2 diabetes and modes of action of therapeutic interventions, *Arch Intern Med* 1997;157(16):1802.
28. Glueck C, Wang P, Kobayashi S, Phillips H, Sieve-Smith L, Metformin therapy throughout pregnancy reduces the development of gestational diabetes in women with polycystic ovary syndrome, *Fertil Steril* 2002;77(3):520-5.
29. Rowan JA, Hague WM, Gao W, Battin MR, Moore MP, Metformin versus insulin for the treatment of gestational diabetes, *N Engl J Med* 2008;358(19):2003-15.

Original Article

The effect of metformin on serum lipid levels in hyperglycemic pregnant rats and their newborns

Rajaei Z¹, Hajjzadeh MR^{2*}, Nazari A³, Shams M⁴

¹ Assistant Professor of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

² Professor of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

³ M.Sc of Physiology, Mashhad University of Medical Sciences, Mashhad, Iran.

⁴ Student of Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran.

***Corresponding Author:**

Department of Physiology,
School of Medicine, Mashhad
University of Medical Sciences,
Mashhad, Iran.

E-mail: hajzadehmr@mums.ac.ir

Abstract

Background & Objectives: Gestational diabetes is a state of glucose intolerance that is diagnosed during pregnancy. Metformin is a biguanide oral hypoglycemic agent and is used in treatment of type 2 diabetes mellitus, but its use in treatment of gestational diabetes has been controversial. The purpose of the present study was to investigate the effects of metformin on serum lipid profile in hyperglycemic pregnant rats and their progenies.

Materials & Methods: Female Wistar rats were randomly divided into 5 groups: intact control, sham, hyperglycemic and 2 experimental groups treated with metformin at doses of 160 and 300 mg/kg. The hyperglycemia was induced by the intraperitoneal injection of hypertonic glucose (4g/kg) and medroxyprogesterone (3mg/kg) twice daily since the 5th day of pregnancy through the end of the gestational period. Furthermore, experimental groups received 160 and 300 mg/kg metformin in drinking water since 5th day of gestation through the end of the pregnancy. The maternal blood samples were taken on days 0, 5, 15 and 20 of pregnancy, while neonatal samples were collected on postnatal days of 15 and 30. Biochemical factors (triglyceride, total cholesterol, LDL-cholesterol and HDL-cholesterol) were measured spectrophotometrically by routine laboratory techniques.

Results: Following injection of hypertonic glucose and medroxyprogesterone, serum glucose levels were significantly increased in hyperglycemic pregnant rats compared to control. Serum triglyceride and cholesterol levels in hyperglycemic pregnant rats and their newborns were partially increased in comparison to control group. Treatment of hyperglycemic pregnant rats with metformin at dosages of 160 and 300 mg/kg decreased the lipid levels in the mothers and their newborns compared to hyperglycemic group, although the changes were not significant.

Conclusion: Our findings suggest that the hyperglycemic pregnant rat model is a reliable model for gestational diabetes in human. Metformin is a safe and effective treatment for rat dams during gestational diabetes and their progenies. Therefore, it may be suggested that metformin can be used in treatment of gestational diabetes in pregnant women.

Keywords: Gestational diabetes, Metformin, Hyperglycemia, Lipid, Newborns, Rat.

Submitted: 2012 Feb 7

Revised: 2012 Apr 3

Accepted: 2012 Apr 5