

## مقایسه سطح خونی هورمون لپتین در بیماران چاق دیابتی و غیردیابتی

دکتر جواد محیطی اردکانی<sup>۱</sup>، دکتر محمد افخمی اردکانی<sup>۲</sup>، دکترهاجر صدقی<sup>۳</sup>

### چکیده

**مقدمه:** هورمون لپتین (Leptin) که اولین بار در سال ۱۹۹۴ توسط Friedman و همکارانشان از ژن Ob کشف شد، پپتیدی کوچک، با ۱۶۷ اسید آمینه و ۱۶ کیلو دالتون وزن ملکولی می باشد که از بافت چربی ترشح می شود و دارای دو نوع رسپتور در هیپوتالاموس و دیگر بافتها مانند کبد، ماهیچه ها و روده می باشد. این هورمون با رسپتورهای مخصوص در هیپوتالاموس با مهار ترشح نروپپتید Y باعث کاهش اشتها می شود و از طریق دیگر با افزایش دادن میزان متابولیسم بدن میزان انرژی مورد نیاز و در نتیجه میزان چربی بدن را کنترل می کند.

هورمون انسولین نیز از طریق اثر روی راههای متابولسمی نقش اساسی در تنظیم انرژی بدن و سوخت ساز بافتها دارد لذا رابطه این دو هورمون در تنظیم متابولیسم بدن مورد سؤال است و گزارشات متفاوت و متضاد در این رابطه منتشر شده است. در این مطالعه میزان خونی و رابطه بین این دو هورمون در بیماران چاق دیابتی و چاق غیردیابتی مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفته است.

**روش بررسی:** ۳۲ بیمار چاق دیابتی و ۳۲ نفر از افراد چاق غیردیابتی با  $BMI > 30 \text{ Kg/m}^2$  وارد مطالعه شدند و بعد از گرفتن اطلاعات لازم، یک نمونه خون ناشتا گرفته شد و میزان هورمون لپتین، انسولین و HbA1c و دیگر فاکتورهای لازم سنجش شد.

**نتایج:** نتایج این مطالعه نشان می دهد که میزان لپتین در گروه چاق دیابتی و غیر دیابتی بترتیب برابر  $21/8 \pm 11/8 \mu\text{g/ml}$  و  $15/59 \pm 1/3 \mu\text{g/ml}$  نشان داد و در مقایسه با افراد با وزن طبیعی یک رابطه مستقیم بین میزان لپتین خون و BMI نشان می دهند. نتایج بدست آمده همچنین نشان می دهد که یک ارتباط معکوس بین میزان هورمون لپتین و انسولین در گروه دیابتی چاق وجود دارد در حالی که در گروه چاق غیردیابتی این رابطه عکس است.

**نتیجه گیری:** نظر به اینکه لپتین از یک طرف باعث شکستن مقاومت به انسولین در بافتها می شود و از طرف دیگر ترشح انسولین باعث افزایش تولید هورمون لپتین در بافت چربی می گردد لذا ارتباط عکس بین این دو هورمون در گروه های دیابتی چاق و غیردیابتی چاق بیان کننده مکانیسم اثر متفاوت این دو هورمون می باشد که باید بیشتر مورد مطالعه قرار گیرد.

### واژه های کلیدی: لپتین، انسولین، دیابت، چاقی

### مقدمه

اغلب کشورها را متأثر کرده و معالجه این افراد هزینه بسیار بالایی برای کشورها تحمیل نموده است. از سالهای بسیار پیش دانشمندان دنبال کشف ماده ای بودند که بتواند این عارضه را از نظر بیولوژی کنترل و درمان کند تا اینکه در سال ۱۹۹۴ Friedman و همکارانشان<sup>(۱)</sup> هورمونی که از ژن ob تولید می گردد را کشف کردند و نام آنرا Leptin (به معنی لاغری) گذاشتند. با کشف این هورمون امیدهای زیادی جهت معالجه ای افراد چاق در دانشمندان ایجاد شد بطوری که در مدت کوتاهی

چاقی عارضه ای عمومی است که تقریباً یک سوم مردم

۱- استادیار گروه بیوشیمی

۲- استادیار گروه بیماریهای داخلی - فوق تخصص بیماریهای غدد

۳- پزشک عمومی

۳ و ۲- مرکز تحقیقاتی درمانی دیابت

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید صدوقی یزد

بیش از سه هزار مقاله در این رابطه منتشر شد<sup>(۳،۴)</sup>. هورمون لپتین پروتئینی با وزن ۱۶ کیلو دالتون و ۱۶۷ اسید آمینه است که از بافت چربی ترشح می‌شود. لپتین از طریق دو نوع رسپتور در بدن عمل می‌کند. یک نوع رسپتورهای بلند که در بخشهایی از مغز و هیپوتالاموس وجود دارد. این نوع رسپتورها از خانواده سیتوکینهای نوع یک است و با فعال شدن این رسپتورها توسط هورمون لپتین باعث مهار نروپپتید Y در هیپوتالاموس شده و باعث مهار اشتها و افزایش متابولیسم سوخت ساز بدن از طریق اثر روی هورمونهای تیروئیدی و آدرنال می‌شود<sup>(۵،۴)</sup>.

فرم دوم رسپتورهای لپتین در بافتهای محیطی مانند ماهیچه‌ها، چربی، کبد و روده وجود دارد که با فعال شدن آنها اثرات متابولسمی زیادی در رابطه با تنظیم انرژی و وزن بدن در بافتها اعمال می‌کند<sup>(۶،۵)</sup>.

گزارش‌های منتشر شده رابطه متفاوتی بین هورمون انسولین و هورمون لپتین بیان نموده است. بعضی گزارش‌ها هر گونه ارتباط مستقیم بین انسولین و لپتین را رد کرده و بی‌معنی می‌دانند<sup>(۷)</sup>. درحالی که گروهی دیگر از مطالعات بر روی ارتباط مستقیم این دو هورمون با توجه به اینکه دارای بعضی خواص مشترک هستند معتقدند ترشح هر دو هورمون بوسیله مقدار چربی ذخیره و تغییر در بالانس انرژی متأثر می‌شود. بعلاوه رسپتور انسولین در هیپوتالاموس و در همان محلی است که رسپتور لپتین قرار دارد. به نظر می‌رسد که انسولین یک نقش کلیدی در رابطه با سنتز و ترشح لپتین دارد و نقش لپتین نیز در ترشح و سنتز انسولین بطور مفصل مورد بحث قرار گرفته است<sup>(۹،۸،۷)</sup>. لذا با توجه به گزارش‌های متفاوت، در این مطالعه سطح خونی و رابطه این دو هورمون در بیماران چاق دیابتی در مقایسه با بیماران چاق غیر دیابتی مورد ارزیابی قرار گرفته است.

## روش بررسی

۳۲ نفر از بیماران با BMI بالاتر از  $30 \text{ kg/m}^2$  که به مرکز تحقیقات دیابت یزد مراجعه کرده و بر اساس معیار WHO دیابتی نوع II (NIDDM) تشخیص داده شدند به عنوان مورد انتخاب شدند (گروه A) و نیز ۳۲ نفر از افراد چاق غیردیابتی با BMI

بالاتر  $30 \text{ kg/m}^2$  به عنوان شاهد انتخاب شدند (گروه B). بعد از گرفتن اطلاعات لازم شامل قد، وزن و غیره یک نمونه خون ناشتا از افراد گروه مورد و شاهد گرفته شد و بعد از تهیه سرم بلافاصله نمونه‌ها در  $-70^\circ\text{C}$  درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش فریز گردید.

**اندازه گیری لپتین (Leptin):** هورمون لپتین بر اساس روش الیزا با روش آنتی‌بادی دوگانه (Sandwich) تهیه شده از شرکت DRG سنجش شد که طبق دستورالعمل و با استفاده از منحنی استاندارد و کنترل در یک زمان مشخص تمام نمونه‌ها با هم اندازه‌گیری شدند<sup>(۱۳)</sup>. این روش دارای حساسیت حد اقل  $0/05$  میکروگرم در لیتر است و ضریب تغییرات روزانه آن  $0/13$  در  $0/32$  میکروگرم در لیتر و  $0/5/8$  در  $2/8$  میکروگرم در لیتر می‌باشد.

**اندازه گیری انسولین:** نمونه‌های فریز شده در یک روز به درجه حرارت اتاق رسانده و براساس روش RIA خریداری شده از شرکت DRG آلمان براساس روش مشخص شده در کیت و مشخصات آن اندازه‌گیری و محاسبه گردید<sup>(۱۴)</sup>، این روش دارای حساسیت حداقل  $1/5 \mu\text{IU/mL}$  است و ضریب تغییرات روزانه آن  $4/53\%$  در غلظت  $9/96 \mu\text{IU/mL}$  و  $8/8\%$  در غلظت  $10/41 \mu\text{IU/mL}$  است و همچنین دارای دقت ۹۹ درصد به بالا می‌باشد.

**اندازه‌گیری هموگلوبین گلیکوزیله (HbA1c):** هموگلوبین گلیکوزیله از نمونه‌های خون تام استفاده شده که بعد از گرفتن خون از افراد با استفاده از روش کروماتوگرافی تعویض یون و با استفاده از دستگاه Clinitek-۱۰۰ اندازه‌گیری شد و به صورت درصد هموگلوبین توتال بیان می‌شود<sup>(۱۵)</sup>. این روش استاندارد و دارای دقت و صحت بسیار بالا می‌باشد.

## نتایج

**سطح خونی لپتین بیماران چاق دیابتی و غیر دیابتی:** میزان هورمون لپتین خون در دو گروه A و B بر اساس روش بالا اندازه‌گیری و محاسبه شد. نتایج نشان داد که میانگین این هورمون در خون گروه A برابر  $21/8 \pm 11/2 \mu\text{g/ml}$  و در گروه B

که میانگین آن برابر ۹/۳۸٪ می باشد و هموگلوبین گلیکوزیله گروه B به علت نرمال بودن قند خون محاسبه نشد. نتایج آنالیز آماری نشان داد که یک رابطه مستقیم بین لپتین و انسولین در گروه B و یک ارتباط معکوس در گروه A وجود دارد (جدول ۱ و ۲).

برابر  $15/59 \pm 1/33 \mu\text{g/ml}$  است (جدول ۱). میزان انسولین خون در گروه A براساس روش ذکر شده برابر  $10/44 \pm 1/34 \mu\text{IU/mL}$  و در گروه B برابر  $8/65 \pm 0/65 \mu\text{IU/mL}$  اندازه گیری و محاسبه شد (جدول ۱) و میانگین میزان قند خون در گروه A برابر  $174 \text{ mg/dl}$  و در گروه B برابر  $80 \text{ mg/dl}$  به دست آمد. همچنین هموگلوبین گلیکوزیله در گروه A اندازه گیری شد

جدول ۱: مقایسه میانگین سطح لپتین، کلسترول، انسولین، تری گلیسرید در دو گروه مورد A و شاهد B

P.V	میانگین اختلاف	خطای استاندارد	میانگین	تعداد	گروه	
۰/۰۷	۶/۲	۱۱/۲ ۱/۳	۲۱/۸ ۱۵/۵۹	۳۲ ۳۲	A B	لپتین ( $\mu\text{g/mL}$ )
۰/۲۳۵	۱/۷۹	۱/۳۴ ۰/۶۵	۱۰/۴۴ ۸/۶۵	۳۲ ۳۲	A B	انسولین ( $\mu\text{IU/mL}$ )
۰/۰۶۶	۲۲	۱۱ ۹/۷۹	۲۲۲ ۲۰۰	۳۲ ۳۲	A B	کلسترول ( $\text{mg/dL}$ )
۰/۱۱	۰/۵۸	۱۱/۱۸ ۱۱/۷۶	۲۱۹ ۱۹۲	۳۲ ۳۲	A B	تری گلیسرید ( $\text{mg/dL}$ )

۰/۱۹۸	-/۲۳۴	تری گلیسرید
۰/۴۶۵	۰/۱۹۰	BMI

جدول ۲: بررسی همبستگی لپتین با انسولین، قند، HbA1c، کلسترول و تری گلیسرید و BMI در گروه A

P.V	ضریب همبستگی (r)	لپتین
۰/۶۲۶	-/۸۹	انسولین
۰/۲۴۲	۰/۲۱۳	قند خون ناشتا
۰/۶۰۵	۰/۰۹۵	HbA1c
۰/۷۸۶	۰/۰۵	کلسترول
۰/۵۸۲	۰/۱۰۱	تری گلیسرید
۰/۲۴۵	۰/۲۱۱	BMI

جدول ۳: بررسی همبستگی لپتین با انسولین، قند، HbA1c، کلسترول و تری گلیسرید و BMI در گروه B

P.V	ضریب همبستگی (r)	لپتین
۰/۶۷۵	۰/۰۷۷	انسولین
۰/۱۳۵	۰/۲۷	کلسترول

### بحث و نتیجه گیری

بافت چربی از بافت های زنده و حیاطی بدن است که علاوه بر نقش ذخیره انرژی بدن سنتز و ترشح هورمون لپتین و دیگر هورمونها مانند Acylation Stimulation Protein (ASP) و آدیپونکتین (Adiponectin) آنترلوکین-۶ (In terlukin-6) و پلاسمینوژن II انجام می دهد که نقش اساسی در تنظیم متابولیسم و انرژی مورد نیاز بدن دارد (۳،۲).

نتایجی که در این مطالعه مشاهده گردید نشان می دهد که میانگین میزان لپتین خون ناشتا در گروه A ( $21/8 \pm 11/2 \mu\text{g/ml}$ ) و در گروه B ( $15/59 \pm 1/33 \mu\text{g/ml}$ ) در مقایسه با میزان آن در افراد نرمال غیر چاق افزایش قابل ملاحظه ای نشان می دهد. میزان این هورمون در افراد نرمال غیر چاق حدود  $5-7 \mu\text{g/ml}$  گزارش شده است (۴). در مطالعاتی که Kowalska و همکاران روی

(2 Tailed) انجام شد نشان می‌دهد که یک رابطه مستقیم بین سطح لپتین با انسولین در گروه B وجود دارد (جدول ۳) در حالی که این ارتباط در گروه A معکوس است (جدول ۲).

اگر چه این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ولی احتمالاً نشان می‌دهد که اثرات متقابل این دو هورمون در گروه شاهد و مورد متفاوت ظاهر شده است. نتایج گروه شاهد نشان می‌دهد که با افزایش میزان لپتین قند خون و میزان هموگلوبین گلیکوزیله افزایش یافته و موافق گزارش‌های مطرح شده در رابطه با اثر لپتین روی ترشح انسولین می‌باشد<sup>(۸،۷)</sup>. ولی این اثر در گروه مورد (A) به علت شرایط متفاوت متابولیسم و یا اثر دارو تجویز شده به بیماران دیابتی ظاهر نشده است و چنین نتیجه گرفته می‌شود که اگرچه هر دو گروه چاق هستند ولی احتمالاً متابولیسم مواد سوختی متفاوت می‌باشد که لازم است مطالعات عمیق‌تر و وسیع‌تری در این مورد انجام می‌گیرد.

### سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید صدوقی یزد از نظر تخصیص بودجه برای این مطالعه و نیز از همکاری پرسنل محترم مرکز تحقیقات دیابت یزد که در انجام این پژوهش ما را یاری نموده‌اند، تقدیر و تشکر می‌شود.

بیماران دیابتی نوع II انجام دادند میانگین سطح سرمی لپتین در این بیماران  $22/5 \pm 6/5 \mu\text{g/ml}$  به دست آوردند و میزان آن در افراد دیابتی لاغر به طور قابل ملاحظه کمتر بود<sup>(۱۶)</sup>.

نتایج این مطالعه و مطالعات متعدد دیگر دلالت دارد که اکثریت افراد چاق میزان سطح خونی لپتین بالاتر از افراد نرمال دارند (۹۰٪) و میزان لپتین در خون متناسب با میزان چربی بدن مخصوصاً چربی زیر جلدی افزایش می‌یابد به طوری که یک رابطه مستقیم بین سطح سرمی لپتین با BMI آنها وجود دارد (جدول ۲ و ۳). لذا ناهنجاری چاقی در این افراد مربوط به مقاومت بافتها به عمل هورمون لپتین است، هم چنان که گزارشات متعددی این ناهنجاری را در افراد با لپتین بالا گزارش کرده‌اند<sup>(۱۲،۱۱)</sup>. این ناهنجاری ممکن است مربوط به نقص انتقال لپتین به سیستم اعصاب مرکزی (CNS) باشد<sup>(۲)</sup> یا مربوط به نقص در رسپتورهای هورمون در بافت‌های محیطی باشد<sup>(۳،۲)</sup> و به همین دلیل نیز اثر تجویز لپتین به این افراد کاملاً رضایت‌بخش نمی‌باشد. ارتباط بین لپتین و انسولین کاملاً روشن نمی‌باشد بعضی گزارش‌ها اثرات لپتین روی قند خون را به صورت یک عامل ضد دیابتی (Antidiabetic) مطرح می‌کنند<sup>(۱۱)</sup> در حالی که گزارش‌های دیگر نشان می‌دهد که افزایش میزان انسولین در خون باعث افزایش تولید هورمون لپتین در بافت چربی می‌شود<sup>(۱۲)</sup>. نتایج آنالیز آماری که توسط تست Spearman T. test

3- Christos S, Mantozoros and Stergios J Moschos. *Leptin in search of role(s) in human physiology and pathophysiology*. Clin. Endocrinology, 1998, 47 : 551-567.

### References

- 1- Zhang Y, Procna R, Maffci M, Baronc M, Lcopold L Friedman JM. *Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue*. 1994 ,372: 425-432.
- 2- Tritos NA. *Leptin: Its role in obesity and beyond* . Mantzoros CS , Diabetologia 1997 , 40 : 1371-1379.

- 4- Dhilon H, Kalra SP, Prima V, Zolotukhin PJ, Scarpese PJ, Moldawer LL, Muzyczka N, Kalara PS. *Central leptin gene therapy suppresses*

- body weight gain, adiposity and serum insulin without affecting food consumption in normal rat : a long-term study.* Regul pept 2001; 99:69-77.
- 5- EL-Haschimi K , Pierroz DD , Hileman SM, Bjorbaek C , Flier JS . *Two defect contribute to hypothalamic leptin resistance in mice with diet induced obesity* . J Clin Invest 2000 , 105 : 1827-1832.
- 6- Correia MLG, Haynes WG, Rahmouni K, Morgan DA, Sivitz WI, Mark AL. *The concept of selective leptin resistance. Evidence from Agouti yellow obese mice.* Diabetes 2002;51: 439-442.
- 7- Chen SC, Kochan JP, Capfield SA, Burn P, Smeyene RJ. *Splice variants of the OB receptor gene are differently expressed in brain and peripheral tissue of mice.* J Recept Signal Transduct Res 1999;19:245-266.
- 8- Kicffer TJ, Heller RS, Habener JF. *Leptin receptors expressed on pancreatic  $\beta$ -cells.* Biochem Biophys Res Commun 1996, 224 : 522-527.
- 9-Emilsson V , Liu YL , Cawthorne MA , Morton NM , Davenport M . *Expression of functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion* . Diabetes 1996 , 313 : 313-316.
- 10-Leclereq-Meyer V, Considine RV, Sener A . *Do leptin receptors play a funtional role in the endocrine pancreas?* Biochem Biophys Res Commun 1996 ; 229:794-798.
- 11-kuma M, Ookuma K, York DA. *Effects of Leptin on insulin secretion from isolated rat pancreatic islets.* Diabetes 1998 ; 47:219-223.
- 12- Ronaldo B Ceddia , Heikki A Koistinen , Juleen R . Zierath & Gray sweene . *Analysis of paradoxical observations on the association between leptin and insulin resistance* . The FASEB J . 2002 , 16 : 1163-1176.
- 13- Spiegelman BM , Flier JS . *Obesity and the regulation of energy balance.* Cell , 2001 ,104 : 531 - 543.
- 14- Margetic S , Gazzola C , Pegg GG, Hill RA. *Leptin: A review of its peripheral action and interaction* . Int . J Obes . Relat. Metab .Disord. 2002 , 26 : 1407 - 33.
- 15-Sandoval DA, Davis SN. *Leptin Metabolic control and regnlation.* J.Diabetes complications, 2003 , 17(2) : 108-13.
- 16- Havel, Peter J. *Control of energy homeostasis and insulin action by adipocyte hormones: Leptin, acylation stimulating protein and adiponectin.* Current opinion in Lipidology,2002,13:51-59.
- 17- Haque Z, Rehman MA. *Serum leptin levels in female patients with NIDDM.* J Cell Physicians Surg Pak. 2003, 13, 130-4.
- 18- Velasque MT, Bhatena SJ, Hansen CT. *Leptin and its relation to obesity and insulin in the SHR/N-corpulent rat, a model of type II diabetes mellitues.* J Exp . Diabetes Res . 2001, 2: 217-23.
- 19- Segal K, Landt M.& Klein S. *Relationship between insulin sensitivity and plasma leptin concentration in lean and obese men* . Diabetes 1996 , 45 : 987-991.
- 20- Emanuelli B, Peraldi P, Filloux C , Chavey C, Freidinger K, Hilton DJ, Hotamisligil G S, Van Obberghen E . *SOC3-3 inhibits insulin signaling and is up-regulated in response to tumor necrosis factor-alpha in the adipose tissue of obese mice* . J. Biol. Chem 2001 , 276 : 479414-479418.
- 21- Kelllerer M, Lammers R, Fritsche A, Strack V, Machicao F, Borboni P, Ullrich A, Haring HU. *Insulin inhibits leptin receptor signalling in HEK293 cells at the level of janus kinase-2: a potential mechanism for hyperinsulinaemia-associated leptin resistance.* Diabetologia 2001, 44 : 1125-1132 .

- 22- Emanuelli B , Peraldi P, Filloux C, Sawka-Verhelle D , Hilton D , Van Obberghen E. *SOCS - 3 is an insulin-induced negative regulator of insulin signaling*. Biol. Chem 2000 , 275 : 15985-15989.
- 23- Perez C , Fernandez-Galaz T , Fernandez-Agullo C, Arribas A, Andres M , Ros and J. M . Carrascosa . *Leptin Impairs Insulin Signaling in Rat Adipocytes*, Diabetes, February 1, 2004, 53(2) 347 - 353.
- 24- Frilhbecu G & salvador J. *Relation between leptin the regulation of glucose metabolism*. Diabetologia 2000 , 43 : 3-12.
- 25- Ur E, Grossman A, despress JP. *Obesity results as a consequence of glucocorticoid induced leptin resistance*. Horm Metab, Res, 1996 , 28 : 744-7.
- 26- Schawatz MW , Peskind E , Raskind M , Boyko EJ , Porte D , Caro JF. *Cerebrospinal fluid leptin levels: relation to plasma levels and to adiposity in human*. Nat Med. 1996 , 2 : 589-93.
- 27- Zakrzewska KE, Gusin I, Sainsbury A, Rohner-Jeanrenaud F, Jeanrenaud B. *Glucocorticoids as counterregulatory hormones of leptin: toward to understanding of leptin resistance*. Diabetes, 1997 , 46 : 717-9.
- 28- Kiess W, Englard P , Hanitsch S , Rascher W, Atanasio A . *High leptin concentration in serum of very obese children are further stimulated by dexamethason*. Horm. Met. Res. 1996, 28: 708-10.