

مطالعه متابولیکی اثر تابش لیزر کم توان درون وریدی با استفاده از نور قرمز در بیماران مبتلا به دیابت تیپ ۲

خلاصه

مقدمه: دیابت نوع ۲ بیماری شایعی است که طیف گسترده‌ای از افراد جامعه را دربر می گیرد. پاسخ نامناسب به انواع روش‌های درمانی این عارضه را به صورت یک معضل برای بیماران و گروه درمانی درآورده است. لیزر درمانی داخل وریدی (Intravascular Laser Irradiation of Blood, ILIB) در درمان بیماری‌های مختلف از جمله دیابت مورد استفاده قرار گرفته است. بررسی طیف‌سنجی مغناطیس هسته $^1\text{H-NMR}$ (Nuclear Magnetic Resonance)، رویکرد مناسبی برای تعیین پروفایل متابولیکی نمونه‌های زیستی با استفاده از تکنیک‌های غیرتهاجمی برای ارزیابی نشانگرهای متابولیکی می‌باشد. با استفاده از علم کمومتریکس می‌توان الگوی متابولیتی و تغییرات پس از آن را بررسی نمود.

روش بررسی: پس از گرفتن رضایت‌نامه از ۹ فرد مراجعه‌کننده جهت لیزر درمانی داخل وریدی با نور قرمز در بیمارستان میلاد، نمونه خون قبل و بعد از لیزر درمانی گرفته شد. لیزر وریدی با استفاده از لیزر نور قرمز، ۶۵۰ نانومتر، ۱/۵ میلی‌وات، به مدت ۳۰ دقیقه و از طریق ورید کوبیتال انجام شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌های خون در لوله‌های هپارینه، پلاسمای خون قبل و بعد از لیزر درمانی، جهت طیف‌سنجی $^1\text{H-NMR}$ با روش spin-echo CPMG (Carr-Purcell-Meibom-Gill) به آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اصفهان فرستاده شد. متابولیت‌های تغییر یافته پس از ILIB را می‌توان با استفاده از طیف‌سنجی $^1\text{H-NMR}$ مورد مطالعه قرار داد و آنالیز طیف‌ها با PLS-DA و استفاده از نرم‌افزار MATLAB انجام شد.

با استفاده از نرم‌افزار ProMetab، ۱۴۶۰ متابولیت برای طیف هر نمونه حاصل شد. در این بررسی متابولیت‌های تأثیرگذار با استفاده از نرم‌افزار پایگاه اطلاعاتی Human Metabolome Data Base به دست آمد و به منظور به دست آوردن چرخه‌های متابولیتی از نرم‌افزار پایگاه اطلاعاتی Metaboanalyst Data Base استفاده گردید.

یافته‌ها: لیزر وریدی باعث کاهش قابل ملاحظه قندخون و افزایش سطح L-آرژنین و کلسترول ($p < 0.001$) در بیماران شد. در چرخه‌های آمینواسیدها و بیوسنتز پروتئین‌ها، گلیکولیز و گلوکونئوزنز تفاوت‌هایی مشاهده شد که در کاهش قندخون حائز اهمیت هستند. **نتیجه‌گیری:** از لیزر وریدی می‌توان به عنوان یک روش مؤثر و بی‌عارضه در تنظیم قند و

پروین برونوس^۱
زهرا زمانی^۲
نوش آفرین کاظمی خو^{۳،۴}
صدیقه صادقی^۴
آزاده حکمت^۴
محمد ارجمند^۳
فریده وهابی^۴
مریم محمدی^۴

۱. دانشجوی فوق لیسانس، آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران، تهران، ایران

۲. دانشیار، بخش بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۳. استادیار، بخش بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۴. بخش بیوشیمی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۵. مرکز تحقیقات پوست و سلول‌های بنیادی دانشگاه علوم پزشکی تهران

کلسترول خون و متابولیسم بیماران دیابتی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: متابولومیکس، لیزر درمانی داخل وریدی، دیابت نوع ۲، طیف‌سنجی مغناطیس هسته، لیزر، کمومتریکس

نویسنده مسئول: نوش آفرین کاظمی خو، تلفن: ۰۹۱۲۲۱۰۵۱۱۳
پست الکترونیک: nooshakazemi@gmail.com

مقدمه

پر توان، فاقد اثرات حرارتی می‌باشد و صرفاً از طریق تحریک بیولوژیکی اثر می‌نماید [۷]. لیزر کم‌توان از طریق اثر بر آنژیوژنز، میکروسیرکولاسیون، پرولیفراسیون، فیبروبلاست‌ها و تعدیل سیستم ایمنی می‌تواند تأثیر بسیار خوبی در ترمیم انواع زخم داشته باشد. به نظر می‌رسد تابش لیزر کم‌توان باعث تسریع گردش خون در کولاترال‌ها، تقویت میکروسیرکولاسیون و ریلکس شدن عضلات صاف جدار عروق می‌شود. لیزر کم‌توان باعث افزایش تنفس سلولی در میتوکندری و سنتز ATP، سنتز پروتئین‌های تنظیم‌کننده سیکل سلولی، به دنبال فعال شدن ژن‌های تنظیم‌کننده شروع سیکل سلولی و کینازهای MAP و ERK می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند که فوتواکتیواسیون ناشی از لیزر، عملکرد ماکروفاژها را تقویت می‌کند و پرولیفراسیون فیبروبلاست‌ها را تحریک می‌نماید. همچنین سنتز کلاژن را تسهیل می‌کند و سبب تقویت سیستم ایمنی می‌گردد. در نهایت منجر به تسریع پروسه ترمیم می‌شود [۸]. لیزر کم‌توان داخل وریدی (ILIB) روش فوتوهموتراپی است که به‌طور گسترده در درمان پاتولوژی‌های مختلف به کار می‌رود. خون توسط یک کاتتر به طور مستقیم از طریق داخل وریدی تحت تأثیر نور لیزر قرار می‌گیرد. بر خلاف لیزر موضعی اثرات درمانی فوتوهموتراپی از یک نقطه، باعث بهبود سیستمیک می‌شود و سیستم‌های عروقی تنفسی، ایمنی و دیگر سیستم‌های بدن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. انواع لیزر داخل وریدی شامل: نور قرمز، UV و نور آبی می‌باشد [۹].

متابولومیکس اندازه‌گیری و تحلیل متابولیت‌ها از مایعات بیولوژیکی و عصاره سلولی است. متابولیت‌ها مثل کربوهیدرات‌ها، آمینواسیدها، نوکلئوتیدها، فسفولیپیدها، استروئیدها یا اسیدهای چرب و مشتقات آن‌ها هستند که توسط سلول‌ها به‌عنوان نتیجه‌ای از متابولیسم سلولی تولید و تغییر شکل می‌دهند. ارزش منحصر به فرد متابولومیکس در تشخیص بیماری‌ها و کشف داروها می‌باشد [۱۰]. متابولومیکس براساس تکنیک اسپکتروسکوپی NMR و اسپکتروسکوپی LC/mass تعیین می‌شود [۱۱]. آنالیز اسپکتروسکوپی 1H NMR مایعات زیستی و سلول‌ها یا بافت‌ها، پروفایل‌هایی با طیف وسیعی از متابولیت‌هایی با جرم مولکولی پایین ایجاد می‌کند [۱۲].

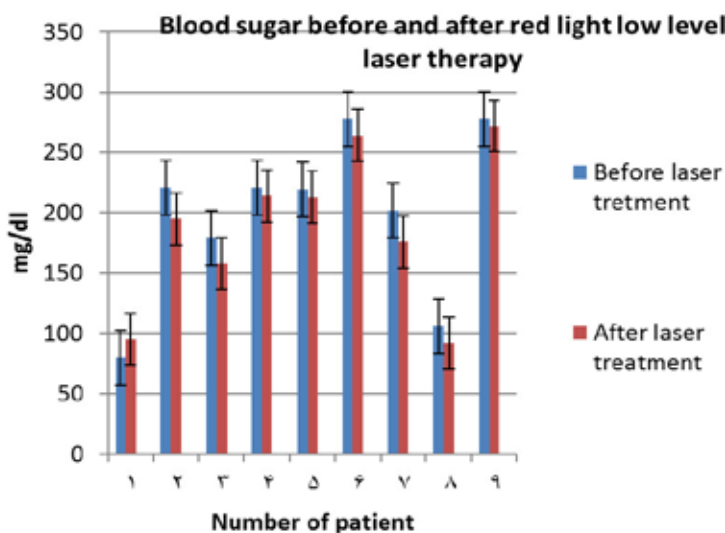
علم کمومتریکس در حقیقت کاربرد علوم آمار، کامپیوتر و ریاضی در

دیابت ملیتوس بیماری شایعی است که طیف گسترده‌ای از افراد جامعه را درگیر می‌سازد. طبق آمارهای انجمن دیابت آمریکا در سال ۲۰۰۸، ۲۳/۶ میلیون نفر در آمریکا به دیابت مبتلا بودند که ۹۰ درصد آن‌ها را مبتلایان به دیابت ملیتوس تیپ ۲ یا دیابت غیروابسته به انسولین تشکیل می‌دادند [۱]. این آمار در کشور ما نزدیک به ۳/۶ میلیون نفر می‌باشد [۲]. مشخصه این بیماری افزایش سطح قند خون (قند ناشتا بیشتر از ۱۲۶ میلی گرم در دسی لیتر و تست تحمل گلوکز دوساعت بعد از غذا بیشتر از ۲۰۰ میلی گرم در دسی لیتر) می‌باشد [۳]. عوارضی که ممکن است در زمان تشخیص دیابت وجود داشته باشند و یا در عرض ۵-۲۵ سال بعد از بروز دیابت ایجاد شوند از جمله رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی، بیماری‌های عروق بزرگ که شامل بیماری عروق محیطی، عروق مغزی و عروق کرونر می‌باشد [۴]. اختلال در عملکرد آمینواسیل tRNA ترانسفراز و ساخت پروتئین می‌باشد [۵]. نوروپاتی دیابتی که ممکن است به‌صورت پلی‌نوروپاتی یا نوروپاتی اتوایمیون و اختلال عملکرد سمپاتیو پاراسمپاتیک باشد، به‌طوری که این بیماران در نواحی تحت فشار پا دچار زخم‌های مزمن مقاوم به درمان می‌باشند که به زخم پای دیابتی معروف است. پاسخ نامناسب به انواع روش‌های درمانی، این عارضه را به‌صورت یک معضل برای بیماران و گروه درمانی درآورده است. روش‌های درمانی متعددی برای این گونه زخم‌ها معرفی شده است که از این بین می‌توان به انواع پانسمان‌ها، فاکتورهای رشد، روش‌های جراحی و پیوند پوست اشاره کرد [۶] و داروهایی نظیر انسولین، سولفونیل اوره، متفورمین، آلفاگلوکوزیداز، پراملینتید، تیاژولیدیندیون‌ها و پپتید شبه گلوکاگون برای کاهش قندخون اشاره کرد [۴]. از دیگر روش‌های درمانی می‌توان به استفاده از لیزرهای سرد اشاره کرد که در طول ۳۰ سال گذشته به‌طور گسترده در زمینه‌های مختلف پزشکی مورد استفاده قرار گرفته است. به تازگی این کاربرد در بخش‌های مختلف افزایش روزافزون یافته و لیزر کم‌توان به‌عنوان یک درمان مناسب برای زخم‌های باز معرفی شده است. یکی از مهم‌ترین کاربردهای لیزر درمانی، استفاده از آن بر روی سیستم‌های بیولوژیک از جمله میکروسیرکولاسیون می‌باشد که بر پایه تأثیر لیزرهای با شدت پایین و یا توان متوسط کمتر از ۵۰۰ mW می‌باشد. مطالعات نشان می‌دهند که لیزر یک روش بسیار مؤثر، مطمئن، غیرتهاجمی، بدون درد و کارآمد در ترمیم بافت می‌باشد. این توان خروجی برخلاف لیزرهای

Base) استفاده شد [۱۲]. همچنین به منظور شناسایی مهم ترین تغییرات چرخه های بیوشیمیایی در این مطالعه از پایگاه Metaboanalyst Data Base استفاده شد [۱۵].

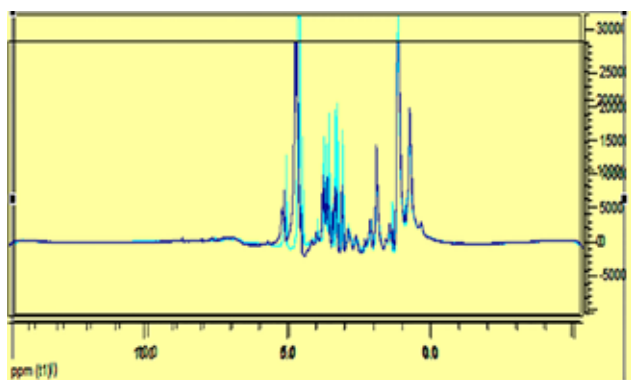
یافته ها

شکل ۱ کاهش قندخون ۹ بیمار دیابتی نوع ۲ تحت درمان با لیزر درون وریدی با نور قرمز را نشان می دهد. توسط آزمون paired t Test اختلاف معنی داری $p < 0.00133$ حاصل شد.



شکل ۱: سطح قندخون قبل و بعد از لیزر درمانی $p < 0.001$

توسط نرم افزار Mestrec ProMetab پیک های $^1\text{H NMR}$ را که قبل و بعد درمان با لیزر به دست آورده ایم، پردازش نمودیم و با هم مقایسه کردیم. شکل ۲ طیف های روی هم قرار گرفته شده از یک نمونه کنترل و یک نمونه تحت درمان با لیزر را نشان می دهد. طیف های به دست آمده از Mestrec در محور X ها کیمیکال شیفت ها بر حسب PPM تقسیم شده به ۱۴۶۰ متابولیت و در محور Y ها غلظت نسبی متابولیت ها را نشان می دهد.



شکل ۲: برهم نهی طیف های گروه کنترل و تحت درمان با لیزر با روش PLS-DA

شیمی می باشد. با استفاده از آنالیز داده های شیمیایی به دست آمده اطلاعات مفیدی استخراج می شود و با توجه به آن ها می توان آزمایش های مورد نظر با بازدهی بهتر را طراحی کرد [۱۳].

در این مطالعه برای اولین بار از علم متابولومیکس برای تعیین تغییرات متابولیت ها پس از لیزر درمانی داخل وریدی با نور قرمز در بیماران دیابتی نوع ۲ استفاده شده است.

روش بررسی

۹ بیمار دیابتی نوع ۲ (۵ مرد با سن متوسط ۶۱ سال و ۴ زن با سن متوسط ۶۰ سال) مراجعه کننده به درمانگاه لیزر بیمارستان میلاد انتخاب شدند. پس از تکمیل فرم های رضایت، اندازه گیری قندخون غیر ناشتا در بیماران با استفاده از Exi check یا سیستم مانیتورینگ قندخون (شرکت Exir، ایران) انجام شد و خون وریدی غیر ناشتا نمونه گیری شد و به لوله های حاوی ۵ میلی لیتر سدیم هپارین (ماده ضد انعقاد) اضافه شد. نمونه های قبل از لیزر درمانی در ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰۰ RPM در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند تا پلاسما آن ها جدا شود و سپس با کاتتر داخل وریدی و دستگاه لیزر درمانی (Azor، روسیه) با توان ۱/۵ میلی وات و با طول موج ۶۵۰ نانومتر در رگ ساعد دست، به طور مداوم در مدت ۳۰ دقیقه لیزر درمانی انجام شد. دستگاه لیزر و چک قند خون قبل از استفاده کالیبره شده بودند. پس از لیزر درمانی مانند مرحله قبل از لیزر درمانی، به ترتیب اندازه گیری قندخون و سانتریفیوژ تکرار شد و نمونه های قبل و بعد از لیزر درمانی تا زمان آماده سازی برای انجام NMR در داخل ویال و در دمای -80°C درجه سانتی گراد نگهداری شد. ۶۰۰ میکرو لیتر پلاسما قبل و بعد از لیزر درمانی هر بیمار را جداگانه با ۶۰ میکرو لیتر دوتریوم اکساید ۱۰ درصد (D_2O) در لوله های ویژه NMR رقیق نمودیم. طیف سنجی با روش CPMG Spinecho با دستگاه HNMR مدل 400- Ultrashield در آزمایشگاه مرکزی فیزیک دانشگاه اصفهان انجام شد.

آنالیز داده ها: آنالیز داده های اولیه به وسیله برنامه ProMetab انجام شد که تحت نرم افزار Matlab و Mestrec (یک محیط محاسباتی تکنیکال به منظور محاسبات تحلیلی و عددی) نوشته شده است. این کد طیف $^1\text{H NMR}$ خام را به یک فرمت آماده جهت آنالیز چند متغیره تبدیل می نماید. با استفاده از کد محاسباتی ProMetab، طیف $^1\text{H NMR}$ را به بخش های جابه جایی شیمیایی (Chemical shift) با پهنای تعیین شده تقسیم شدند و طیف های ناخواسته مانند آب باقی مانده در نمونه حذف گردیدند. در نهایت به روش PLS-DA طیف ها مورد آنالیز چند متغیره قرار گرفت. این فرآیند به منظور ساخت مدل های طبقه بندی شده ضروری است [۱۴]. در این بررسی به منظور تعیین متابولیت های تأثیر گذار از پایگاه اطلاعات متابولوم انسانی (Human Metabolit Data)

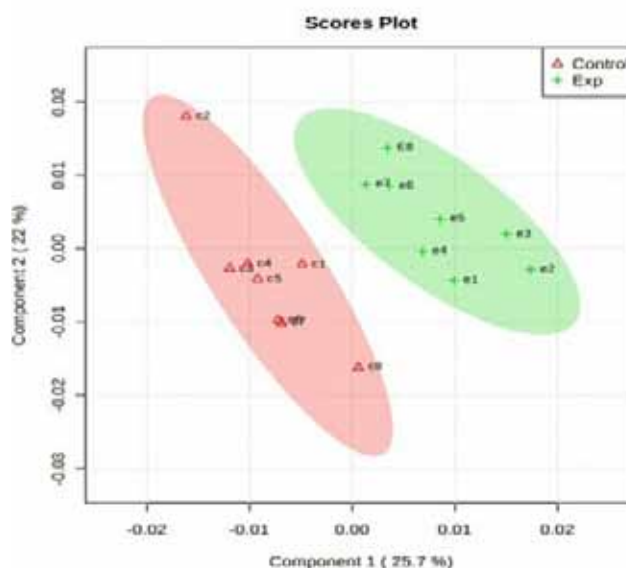
را از وبگاه Metaboanalyst به دست آوردیم. از پایین به بالا سطح تغییر بیشتری نشان داده شده است.

بحث و نتیجه گیری

در این تحقیق با مطالعه متابولومیکی و آنالیز کمومتریکیس در لیزردرمانی کم توان داخل وریدی در بیماران دیابتی نوع ۲ با نور قرمز تغییر در چرخه های بیوسنتز پروتئین ها، متابولیسم متیونین، باز یافت آمونیاک، متابولیسم گلیسین، سرین و ترئونین، متابولیسم گلوکاتایون، چرخه اوره، گلیکولیز، متابولیسم بیوتین، متابولیسم گالاکتوز، گلوکونئوزن و بیوسنتز کاتکولامین مشاهده شد و با بررسی هر چرخه تأثیر آن ها در کاهش قندخون مشاهده شد. با مطالعه متابولومیکی و آنالیز کمومتریکیس در لیزردرمانی کم توان داخل وریدی در بیماران دیابتی نوع ۲ با نور آبی تغییر در چرخه های گلیکولیز، گلوکونئوزن، پنتوز فسفات، متابولیسم نشاسته و سوکروز، بیوسنتز آمینو آسیل tRNA، متابولیسم گالاکتوز، سنتز و تخریب اجسام کتونی، متابولیسم D-آرژنین و D-اورنیتین و متابولیسم قندهای آمینه و نوکلئوتیدی مشاهده شد [۱۶]. با مقایسه نور آبی و قرمز مشاهده شد که تمامی این چرخه ها در سوخت و ساز قندها و کاهش قندخون نقش دارند و چرخه های مشترکی در هر دو نوع لیزردرمانی تغییر کردند که حائز اهمیت هستند، بنابراین می توان احتمال داد که لیزردرمانی درون وریدی با نور قرمز و آبی یک راه درمانی

طیف ها را از نظر آماری از طریق وبگاه Metaboanalyst مورد تجزیه و تحلیل قرار دادیم. در شکل ۳ محور X ها جزء ۱ و در محور Y ها جزء ۲ را در دو گروه کنترل و تحت درمان نشان می دهد که دو گروه کاملاً از هم جدا شده است. این نمودار تغییر متابولیت ها را پس از درمان به وضوح نشان می دهد.

در شکل ۵ چرخه های شناسایی شده وابسته به متابولیت های تغییر یافته



شکل ۳: طراحی دوبعدی داده ها (Scores plot) به روش PLS-DA

جدول ۱: متابولیت های شناسایی شده به روش PLS-DA از طریق کیمیکال شیفت با استفاده از وبگاه HMDB که در گروه کنترل و تحت درمان با لیزر با هم تفاوت دارند.

Metabolites	HMDB	Chemical Shift	Level
L-Arginine	(HMDB C00517)	1.9025	⬆
L-Glutamine	(HMDB C00641)	3.7675	⬇
Glycine	(HMDB C00123)	3.5625	⬇
L-Tryptophan	(HMDB C00929)	3.3125	⬇
L-Leucine	(HMDB C00687)	3.7325	⬇
Beta-Leucine	(HMDB C03640)	3.3425 3.3175	⬇
Cholesterol	(HMDB C00067)	1.0175	⬆
Glucose 6-phosphate	(HMDB C01401)	3.5625	⬇
D-Glucose	(HMDB C00122)	3.2525	⬇
L-Tyrosine	(HMDB C00158)	3.0475	⬇
L-Lysine	(HMDB C00182)	3.0375	⬇
S-Adenosylhomocysteine	(HMDB C00939)	2.8975	⬇
L-Serine	(HMDB C00187)	2.5225 2.5175	⬇

برای بهبود بیماران دیابتی نوع ۲ باشد.

اولین چرخه مورد توجه بیوسنتز پروتئین است و متابولیسم آمینوآسیل tRNA اولین مرحله سنتز پروتئین را انجام می دهد که در شکل ۵ از اهمیت بیشتری برخوردار است. یکی از عوارض مهم در افراد دیابتی اختلال در این مسیر است.

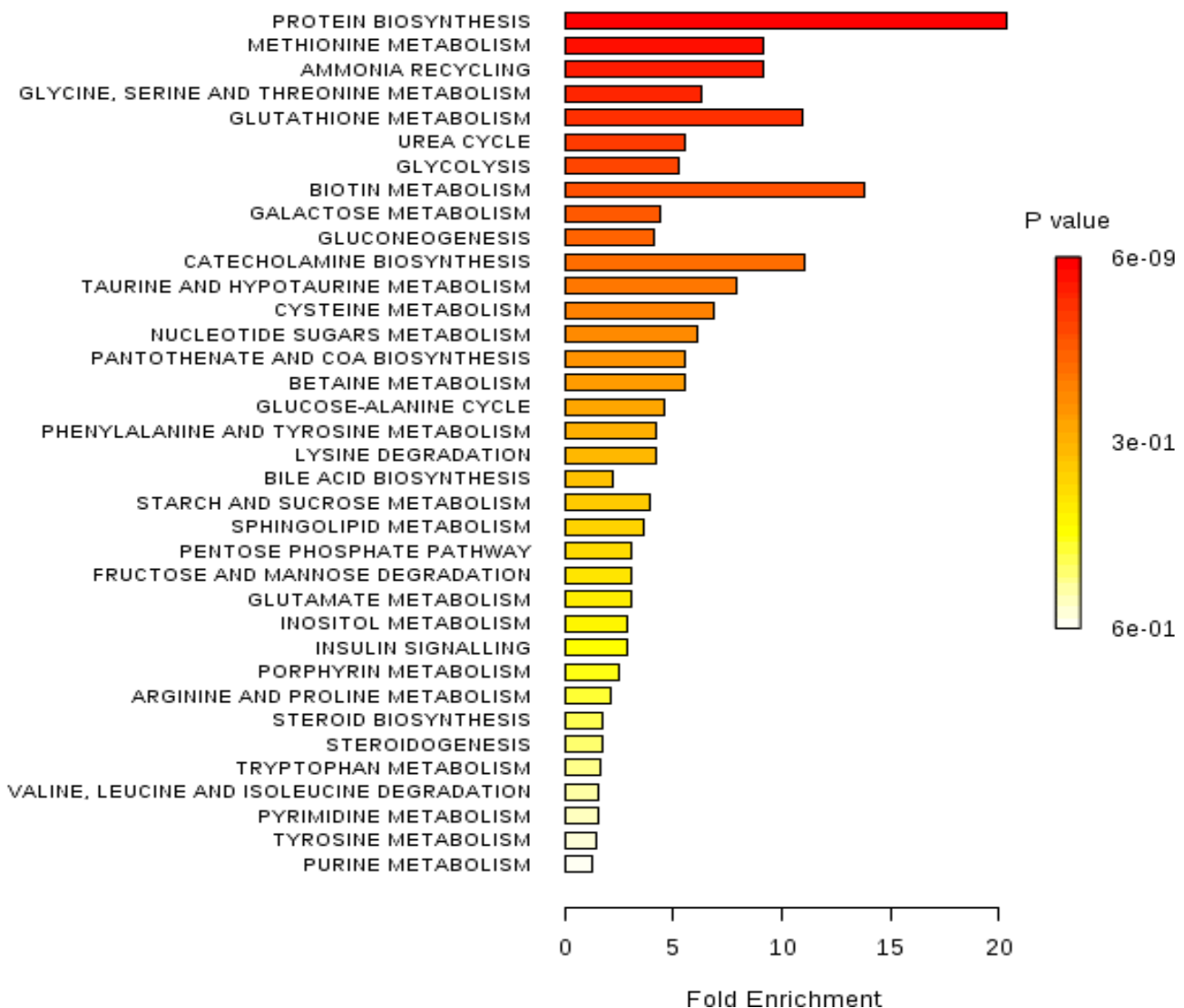
با بررسی آنتی بادی های ضد آمینوآسیل tRNA سنتتاز در بیماران دیابتی که انجام شد، مشاهده گردید که می توان میزان این آنتی بادی را به عنوان یک بیومارکر در تشخیص دیابت استفاده کرد. تعیین میزان این آنتی بادی در پلاسما با استفاده از روش ایمونوسوربنت انجام شد. این

میزان در افراد سالم حدود ۱/۵۴ درصد، در افراد دیابتی نوع ۱ حدود ۳۷/۹ درصد و در افراد دیابتی نوع ۲ حدود ۵/۲۶ درصد یافت شد. این روش تشخیصی نشان داد که میزان آمینوآسیل tRNA سنتتاز در مسیر بیوسنتز آمینوآسیل tRNA در افراد دیابتی کاهش می یابد [۱۷].

چرخه قابل توجه دیگر چرخه متیونین است که در این تحقیق در کاهش قند خون تأثیر به سزایی داشته است.

اثر انسولین بر متیونین و هموسیستئین در بیماران دیابتی نوع ۲ دچار نفروپاتی بررسی شد. با تزریق L- متیل متیونین به افراد دیابتی نوع ۲ دچار آلبومینوری، غلظت بالاتر هموسیستئین و پایین بودن ترانس

Metabolite Sets Enrichment Overview



شکل ۵: مسیرهای شناسایی شده از وبگاه Metaboanalyst میزان تغییرات مسیرها براساس رنگ جدا شده است

غشای پلاسمایی در pH خنثی، اما تنها در حضور گلوکز انجام می‌دهد. درحالی‌که سایر اسیدآمینها که در حمل و نقل Na^+ نقش دارند، می‌توانند در غشای سلولی از طریق فعال کردن کانال‌های کلسیم وابسته به ولتاژ موجب ترشح انسولین شوند. متابولیسم اکسیداسیون L-آلانین در ابتدا باعث افزایش محتوای ATP سلولی می‌شود که با بسته شدن کانال K^+ حساس به ATP، دپلاریزاسیون غشاء پلاسمای فعال سازی ولتاژهای بالای کانال Ca^{2+} ، هجوم و ترشح انسولین همراه است. سیگنال‌هایی که در میتوکندری تولید شده است، ممکن است روی ترشح انسولین تأثیر گذارد [۲۲].

مسیر گلیکولیز در این تحقیق در کاهش قندخون تأثیر به‌سزایی داشته است. بیماری قندخون منجر به افزایش گلوکز از طریق مسیر گلیکولیز می‌شود که به نوبه خود باعث افزایش نو سنتز دی‌آسیل‌گلیسرول و فعال شدن آنزیم کلیدی پروتئین کیناز C (PKC) در مسیر گلیکولیز می‌شود.

در مطالعات بالینی و همچنین تجربی در بیماران دیابتی نوع ۲، افزایش بیان دی‌آسیل‌گلیسرول و فعال سازی PKC مشاهده شده است. PKC یک مولکول مهم در تنظیم فرآیندهای فیزیولوژیکی متعدد و بخصوص گلیکولیز می‌باشد. از این رو تغییر در نفوذپذیری اندوتلیال، همودینامیک شبکیه چشم، بیان فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) در بافت شبکیه و همچنین افزایش فعال سازی و چسبندگی لکوسیت را در بیماران دیابتی نوع ۲ می‌توان مشاهده کرد. رابطه بسیار قوی بین هیپرگلیسمی مزمن و توسعه و پیشرفت رتینوپاتی دیابتی در برخی مطالعات تأیید شده است. ایزوفر $\beta 1 / 2$ از PKC یکی از ده آنزیمی است که به‌نظر می‌رسد با بروز نوروپاتی دیابتی مرتبط باشد [۲۳].

متابولیسم گالاکتوز در این تحقیق در کاهش قند خون تأثیر به‌سزایی داشته است. اثرهای مسمومیت گالاکتوز در لیزرهای عصبی جریان خون داپلر (NLDF) و سرعت هدایت عصبی (NCV) پس از ۱۶ هفته غذادهی گالاکتوز در موش پنتوباریتال بیهوش بررسی شد. بررسی تغییرات، در نوروپاتی دیابتی مشاهده شده است [۲۴].

چرخه گلوکونئوز در این تحقیق در کاهش قند خون تأثیر به‌سزایی داشته است. افزایش ترشح هورمون گلوکوکورتیکوئیدی کورتیزول منجر به سندرم کوشینگ می‌گردد که معمولاً با اختلال در متابولیسم گلوکز از طریق چرخه گلوکونئوز همراه است.

افزایش گلوکوکورتیکوئید باعث تحریک گلوکونئوز در کبد می‌شود و همچنین منجر به جلوگیری از حساسیت به انسولین در کبد و در عضلات اسکلتی بدن می‌گردد که نشان‌دهنده اختلال در متابولیسم گلوکز می‌باشد. افزایش گلوکوکورتیکوئید در تحریک بیان چندین آنزیم کلیدی درگیر در فرآیند گلوکونئوز نقش دارد. حساسیت به انسولین از طریق تجزیه و تحلیل چربی و پروتئولیز باعث افزایش اسیدهای چرب و اسیدهای

متیلاسیون متیونین نسبت به گروه کنترل مشاهده شد و میزان انسولین کاهش یافت [۱۸].

چرخه آمونیاک در این تحقیق در کاهش قندخون تأثیر به‌سزایی داشته است. آمونیاک ترکیب شیمیایی تولیدشده توسط باکتری‌های ساکن روده و همچنین به‌عنوان یک متابولیت در مسیر سنتز پروتئین‌ها در بدن ایجاد می‌شود. با بررسی اثر آکاربوز (داروی کاهش دهنده قندخون) برای کنترل قندخون پس از صرف غذا در بیماران مبتلا به سیروز کبدی و دیابتی نوع ۲ تحت درمان با انسولین، قندخون به‌طور قابل توجهی تنظیم و همچنین کاهش آمونیاک در سطح خون مشاهده شد [۱۹].

متابولیسم گلیسین در این تحقیق در کاهش قندخون تأثیر به‌سزایی داشته است. امروزه، مشاهده شده است که گلیسین خوراکی در کاهش قندخون نقش دارد. پس از مصرف خوراکی گلیسین غلظت بالای انسولین و گلوکاگون پلاسمای مشاهده شد. احتمالاً گلیسین خوراکی باعث تحریک ترشح هورمون روده‌ای که اثر انسولین بر حذف قندخون را دارند، می‌شود [۲۰].

متابولیسم گلوکوتایون در این تحقیق در کاهش قندخون تأثیر به‌سزایی داشته است. گلوکوتایون مهم‌ترین آنتی‌اکسیدانی است که به‌طور خودبه‌خود ساخته می‌شود و عملکرد آن تجزیه و از بین بردن سموم و رادیکال‌های آزاد است.

اثرات لیزر مادون قرمز و تابش لیزر کم‌توان در حیات سلولی و اثر گلوکوتایون و فعالیت آنزیم‌های مربوط به گلوکوتایون در سلول‌های کبد موش بررسی شد. مورفولوژی سلول و غلظت لاکتات دهیدروناز (LDH)، پراکسیداسیون لیپیدی، گلوکوتایون پراکسیداز (GSH)، گلوکوتایون ردوکتاز (GRD)، و فعالیت S-GSH - ترانسفراز پس از تابش اندازه‌گیری شد. تفاوت در مورفولوژی و LDH سلول‌های کبدی در گروه پس از تابش مادون قرمز به‌طور قابل توجهی با گروه کنترل مشاهده شد. نتایج حاصل این بود که مادون قرمز تولید GSH را تحریک می‌کند و تابش لیزر کم‌توان فعالیت GRD را افزایش می‌دهد [۲۱].

چرخه اوره در این تحقیق در کاهش قندخون تأثیر به‌سزایی داشته است. اسیدهای آمینه‌ای که از غذا دریافت می‌شوند در صورتی که برای سنتز پروتئین‌ها و دیگر مواد بیولوژیکی مورد استفاده قرار نگیرند، توسط بدن اکسیده می‌شوند و اوره و دی‌اکسیدکربن تولید می‌کنند که به عنوان منبعی جایگزین برای انرژی است. مسیر اکسیداسیون با حذف گروه آمین توسط ترانس‌آمینازها آغاز می‌شود و سپس گروه آمین چرخه اوره را تأمین می‌کند. تعداد نسبتاً کمی از اسیدهای آمینه در افزایش ترشح انسولین از سلول‌های β پانکراس نقش دارند. مکانیسم‌هایی که به‌وسیله اسیدهای آمینه باعث افزایش ترشح انسولین می‌شوند، متنوع می‌باشند. اسید آمینه L-آرژنین این کار را با دپلاریزاسیون مستقیم از

References:

1. Roa W. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. World Health Organization, 2008.
 2. Robson MC, Hill DP, Smith PD, Wang X. Sequential cytokine therapy for pressure ulcers: clinical and mechanisitic response. *Annals of surgery*. 2000; 231(4): 600.
 3. Vinck EM, CagnieBj, Cornelissen MJ, Declercq HA, Cambier DC. Increased fibroblast proliferation induced by light emitting diode and low power laser irradiation. *Laser in medical science*. 2003; 18(2): 95-9.
 4. Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, Robert J. Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Consensus Algorithm for the Initiation and Adjustment of Therapy. *Diabetes Care* 2006; 29(8): 1963-72.
 5. Meltzer AA, Everhart JE. Association between diabetes and elevated serum alanine aminotransferase activity among Mexican Americans. *American journal of epidemiology*. 1997; 146(7): 565-71.
 6. Marston W.A HJ, Norwood P, Pollak R. The Efficacy and Safety of Dermagraft in Improving the Healing of Chronic Diabetic Foot Ulcers. *DIABETES CARE*. 2003; 26.
 7. Passarella S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D, Quagliariello E, Catalano I. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS letters*. 1984; 175(1): 95-9.
 8. Abergel RP LR. Bio stimulation of wound healing by laser: experimental approaches in animal models and in fibroblast cultures. *J Dermatol Sur Onc*, 1987; 13: 127-33.
 9. Kazemi-Khoo n. Successful treatment of diabetic foot ulcers with low-level laser therapy. *The Fool*. 2006; 16(4): 184-7.
- آمینو می شود و به پیشرفت مقاومت به انسولین کمک می کند. علاوه بر این، توزیع نامناسب بافت چربی در سراسر بدن با غلبه بافت چربی احشایی به طور قابل توجهی به بدتر شدن مقاومت به انسولین و بروز سندرم سوخت و ساز بدن کمک می کند که در بروز اختلال در تحمل گلوکز شرکت دارد. در نهایت، افزایش گلوکوکورتیکوئید ترشح انسولین را مختل و همچنین عمل سطح سلول های بتای پانکراس را تحت تأثیر قرار می دهد [۲۵].
- متابولیسم کاتکول آمین در این تحقیق در کاهش قندخون تأثیر به سزایی داشته است. هنگامی که سطح انسولین پلاسما پایین و فرد از لحاظ متابولیکی ناپایدار است، منجر به افزایش قندخون یا هیپرگلیسمی می شود. در این شرایط تولید قند کبدی افزایش و برداشت قند توسط عضلات کاهش پیدا می کند و تولید کتون نیز بالا می رود. در کتواسیدوز هورمون های دارای اثر مخالف انسولین، مانند گلوکاگون و کاتکول آمین افزایش می یابد [۲۶].
- مطالعه متابولومیکس در فاز انسانی روش جدیدی است و علاوه بر این که در این مطالعه این روش یک روش غیرتهاجمی برای اثر لیزر درمانی در چرخه های بدن به کار رفته است. در *personalized medicine* نیز استفاده از این روش حائز اهمیت است. اگرچه باید اذعان داشت که اطلاعات در این زمینه در بین مقالات بسیار اندک است و به مطالعات بیشتری با حجم نمونه بیشتر نیاز است.
- ### تشکر و قدردانی
- کارکنان آزمایشگاه بیوشیمی انستیتو پاستور، آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم تحقیقات تهران و کارکنان مرکز لیزر درمانی بیمارستان میلاد، آزمایشگاه مرکزی دانشگاه اصفهان که در انجام این طرح تحقیقاتی ما را یاری نمودند.

10. Adeva MM, Souto G, Blanco N, Donapetry C. Ammonium metabolism in humans. *Metabolism*. 2012; 61(11): 1495-511. doi: 10.1016/j.metabol.07.007.
11. Ramirez Tzutzuy, Daneshian Mardas, Kamp Hennicke. *Metabolomics in toxicology and preclinical research*. 2013; 30(2): 209-25.
12. Zamani Z, Arjmand M, Vahabi F, Eshaq Hosseini SM, Fazeli SM, Iravani A. A metabolomic study on colon cancer using ¹H nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biochem Res Int* 2014; 348712.
13. Madsen R, Lundstedt T, Trygg J. Chemometrics in metabolomics –a review in human disease diagnosis. *Anal Chim Acta* 2010; 659: 23-33.
14. Wishart DS, Jewison T, Guo AC, Wilson M, Knox C. HMDB 3.0-The human metabolome database in. *Nucleic Acids Res* 2013; 41: D801-7.
15. Xia J, Mandal R, Sinelnikov IV. Metaboanalyst 2.0—a comprehensive server for metabolomic data analysis. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: W127-33.
16. Kazemi Khoo N, Iravani A, Arjmand M, Vahabi F, Akrami M, Zamani Z. A metabolomics study on the effect of intravascular laser blood irradiation on type 2 diabetic patients. Received: 14 July /Accepted: 4 December 2012.
17. Park SG, Park HS. Autoantibodies against aminoacyl-tRNA synthetase: novel diagnostic marker for type 1 diabetes mellitus. *Biomarkers*. 2010; 15(4): 358-66.
18. Tessari P, Coracina A, Kiwanuka E. Effects of Insulin on Methionine and Homocysteine Kinetics in Type 2 Diabetes With Nephropathy. Department of Clinical and Experimental Medicine, Chair of Metabolism. 2005; 2: 35128.
19. Tolman KG, Fonseca V, Dalpiaz A, Tan MH. Spectrum of Liver Disease in Type 2 Diabetes and Management of Patients With Diabetes and Liver Disease. *Diabetes Care* 2007; 30(3): 734-43.
20. Gannon CM, Nuttall AJ, Nuttall QF. The metabolic response to ingested glycine 1,2,3. American Society for Clinical Nutrition 2002.
21. Kao MJ, Sheen LY. Effects of infrared and low-power laser irradiation on cell viability, glutathione and glutathione-related enzyme activities in primary rat hepatocytes. *Brain Research* 2003; 102(7): 486-91.
22. Newsholme P, Brennan L, Bender K. Amino Acid Metabolism, β -Cell Function, and Diabetes. *Diabetes* 2006; 55(Supplement 2): S39-S47.
23. Joanna M. Tarr, Kirti Kaul, Mohit Chopra. Pathophysiology of Diabetic Retinopathy. *ISRN Ophthalmology Article ID* 2013; 343560.
24. Kalichman MW, Dines KC, Bobik M, Mizisin AP. Nerve conduction velocity, laser Doppler flow, and axonal caliber in galactose and streptozotocin diabetes. *Brain Research*. 1998; 810(1–2): 130–7.
25. Pivonello R, De Leo M, Vitale P. Pathophysiology of diabetes mellitus in Cushing's syndrome. *Neuroendocrinology*. 2010; 1: 77-81. doi: 10.1159/000314319.
26. Ferris JB, O'Hare JA, Kelleher CC, Sullivan PA, Cole MM, Ross HF, O'Sullivan DJ. Diabetic control and the renin-angiotensin system, catecholamines, and blood pressure. *Hypertension* 1985; 7: II58. Doi: 10.116/01.HYP.7.6 pt 2.II58.