

نقش کانالهای پتاسیم در ترشح LH و تستوسترون در رات

دکتر علی بابایی^۱، دکتر تقی تفتازی^۲، دکتر محسن آبی^۳، دکتر مسعود امینی^۴

چکیده:

بعضی از داروهای بازکننده کانالهای پتاسیم مانند دیازوکسید و مینوکسیدیل مدتها در درمان بیماریهایی مانند سندرم تخمدان پلی کیستیک و طاسی سر، که به آندروژنها مربوط می شود، بکار رفته اند به همین علت در این مطالعه اثر کانالهای پتاسیم روی سطح سرمی LH و تستوسترون مورد بررسی قرار گرفته است.

در این مطالعه اثر یک دوز منفرد داروهای بازکننده کانالهای پتاسیم: دیازوکسید (۲۰ mg/kg i.p)، مینوکسیدیل (۱۰۰ mg/kg i.p) و داروهای مسدودکننده کانالهای پتاسیم: گلی سنگلامید (۲۰ mg/kg i.p) و کلروپروپامید (۱۰۰ mg/kg Oral) روی غلظت سرمی LH و تستوسترون در راتهای مذکر بررسی شد. نمونه های خون با استفاده از کاپیلار از گوشه چشم یا با جدا نمودن سر حیوان گرفته و سطح سرمی هورمونها با استفاده از روش رادیوایمیونواسای و غلظت قند خون با روش ارتونولونیدین تعیین شد.

تجویز داروهای بازکننده کانالهای پتاسیم در راتهای سالم، سطح سرمی LH و تستوسترون را کاهش داده و درمان راتهای گونادکتومی شده با دیازوکسید یا مینوکسیدیل، سطح سرمی LH را از $18/66 \pm 2/25$ mIU/ml به ترتیب به $8/56 \pm 1/39$ mIU/ml (P<0.001) و $12/02 \pm 3/12$ mIU/ml کاهش داد. و در تمام موارد پاسخ ایجاد شده توسط دیازوکسید بطور کامل در اثر پیش درمانی با گلی سنگلامید مهار شد.

مقایسه غلظت قند خون در راتهای سالم، دیابتی و درمان شده با انسولین پس از تجویز داروهای مختلف مورد استفاده در این مطالعه با تغییرات بوجرم بدن در سطح سرمی LH و تستوسترون نشان میدهد که رابطه مستقیمی بین غلظت قند خون و پاسخ مشاهده شده در سطح سرمی هورمونها وجود ندارد. در مجموع این مطالعه نشان میدهد پاسخدهی عوامل تنظیم کننده مؤثر بر ترشح LH و تستوسترون به دانه های مؤثر در کانالهای پتاسیم حساس به ATP است.

واژه های کلیدی: کانال پتاسیم، LH، تستوسترون، دیازوکسید، مینوکسیدیل، گلی سنگلامید، دیابت، انسولین

مقدمه:

هر چند داروهای بازکننده کانالهای پتاسیم مانند دیازوکسید و مینوکسیدیل در درمان بعضی اختلالات وابسته به آندروژنها نظیر سندرم تخمدان پلی کیستیک و طاسی یا پاترن آندروژنیک بکار می روند^(۱،۲)، اثر آنها روی ترشح تستوسترون به خوبی شناخته شده نیست. در این زمینه تستر و همکارانش گزارش

۱- استادیار گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد

۲- استاد فارماکولوژی

۳- دانشیار گروه بیوشیمی

۴- دانشیار گروه داخلی - دانشکده پزشکی

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اصفهان

گوشه چشم یا جدا نمودن سر حیوان گرفته شد. غلظت قند خون با استفاده از روش Dubowski^(۵) و سطوح سرمی LH و تستوسترون با روش رادیوایمینواسای با استفاده از کیت‌های ساخت شرکت Amersham انگلستان تعیین شد.

جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شده و در موارد لازم نیز جهت مقایسه میانگینها Student t Test ($P < 0.05$) بکار رفته است.

نتایج:

۱- اثر داروهای بازکننده و مسدودکننده کانالهای پتاسیم روی سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای سالم:

داروهای گلی‌بنگلامید و کلروپروپامید در راتهای سالم باعث بروز اثر قابل توجهی در سطح سرمی LH نشده ولی باعث افزایش اندکی در سطح سرمی تستوسترون شده‌اند. دیازوکسید و مینوکسیدیل باعث کاهش سطح LH و تستوسترون شده‌اند که از نظر آماری ($P < 0.05$) قابل توجه نیست. تجویز گلی‌بنگلامید پاسخ ایجاد شده در سطح سرمی LH و تستوسترون توسط دیازوکسید را مهار نموده است (شکل شماره ۱).

۲- اثر داروهای بازکننده و مسدودکننده کانالهای پتاسیم روی سطح سرمی LH در راتهای گونادکتومی شده:

همانطور که در شکل شماره ۲ مشاهده می‌شود سطح سرمی LH که ۱۰ روز بعد از گونادکتومی، اندازه‌گیری شده افزایشی در حدود ۸ برابر را نشان می‌دهد. تجویز دیازوکسید در راتهای گونادکتومی شده باعث کاهشی در حدود ۵۰ درصد در سطح سرمی LH شده است در حالیکه مینوکسیدیل در این رابطه اثر ضعیف‌تری داشته است. داروی مسدودکننده کانالهای پتاسیم گلی‌بنگلامید وقتی به تنهایی تجویز شده است باعث افزایش ملایم سطح LH گردیده است و پیش‌درمانی با گلی‌بنگلامید در راتهای گونادکتومی شده اثر دیازوکسید را مهار نموده است.

نموده‌اند که دیازوکسید تستوسترون سرم را در خانمهای چاق مبتلا به سندرم تخمدان پلی‌کیستیک کاهش می‌دهد که بواسطه کاهش سطح سرمی انسولین است^(۳). ولی مطالعات دیگری نشان می‌دهد که دیازوکسید علیرغم مهار ترشح انسولین باعث کاهش سطح سرمی تستوسترون نشده است^(۴). مطالعات دیگری هم نشان داده‌است که مینوکسیدیل هر چند باعث هیپوسونیم می‌شود ولی فاقد اثرات اندروژنیک است^(۵).

در این مطالعه اثر داروهای بازکننده کانالهای پتاسیم (دیازوکسید و مینوکسیدیل) و داروهای مسدودکننده کانالهای پتاسیم (گلی‌بنگلامید و کلروپروپامید) روی سطح سرمی LH و تستوسترون در رات مورد بررسی قرار گرفته است و جهت ارزیابی بیشتر، اثر این داروها روی ترشح LH در راتهای گونادکتومی شده هم بررسی شده است و با توجه به اینکه داروهای مورد مطالعه باعث تغییر در غلظت قند خون می‌شوند اثر دیازوکسید در راتهای درمان شده با انسولین و دیابتی هم مقایسه شده است.

روش بررسی:

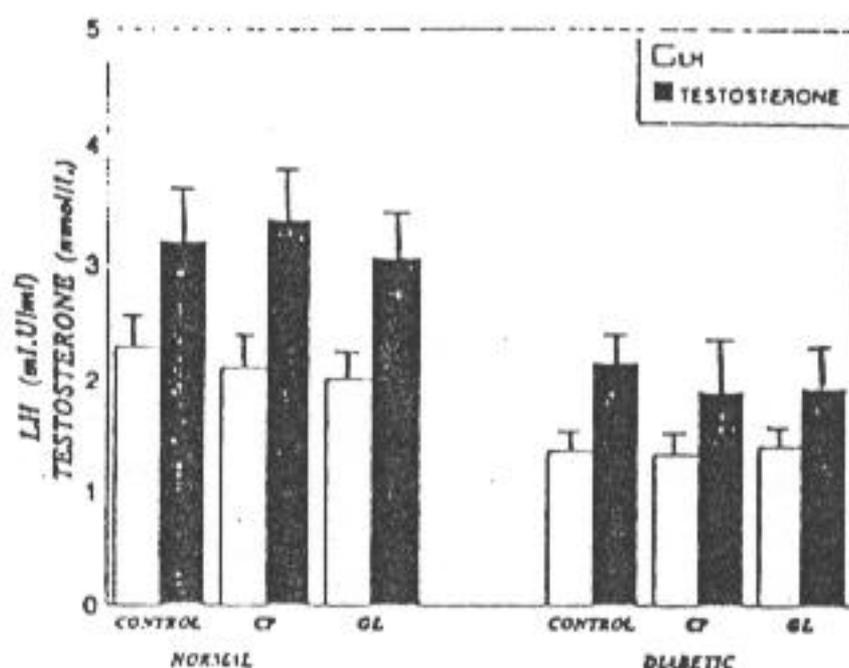
در این مطالعه از راتهای مذکر با وزن بین ۱۵۰ تا ۲۰۰ گرم (عزات در هر گروه) از نژاد ویستار استفاده شده است محل زندگی آنها دوازده ساعت روشن و دوازده ساعت تاریک بود و همیشه آب و غذا به مقدار کافی در دسترس آنها قرار داشت.

گلی‌بنگلامید (کیمیدارو - ایران) کلروپروپامید (رازک - ایران) و مینوکسیدیل (Upjhon - USA) در یک میلی لیتر از محلول ۰/۰۵ مولار هیدروکسید سدیم حل و توسط محلول سرم فیزیولوژی رقیق و از راه داخل صفاقی (I.P) تزریق شد. داروهای دیازوکسید (Shering-Belgium) و انسولین کریستال (Novo - Denmark) هم توسط محلول سرم فیزیولوژی رقیق و از راه داخل صفاقی تجویز شد.

نمونه‌های خونی با استفاده از لوله‌های شیشه‌ای نازک از

بحث:

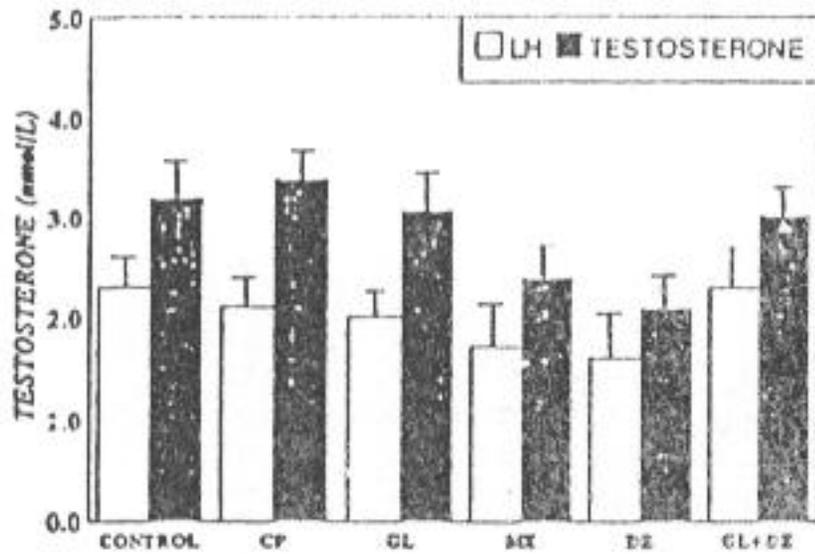
سه نوع جریان رو به خارج پتاسیم در گونادوتروپهای رات شناسایی شده است^(۷) و GnRH به عنوان یک میانجی تحریکی برای بعضی از این جریانهای پتاسیم عمل می‌نماید^(۸). Sikdar و همکارانش هم نشان داده‌اند که GnRH به عنوان یک میانجی جریان پتاسیم در گونادوتروپهای هیپوفیز گوسفند عمل می‌نماید و محل اثر آن ممکن است کانالهای پتاسیم وابسته به کلسیم باشد^(۹). در این مطالعه دیازوکسید سطح سرمی LH در راتهای سالم و به میزان بیشتری در راتهای گونادوکتومی شده را، کاهش داده است و مینوکسیدیل هم دارای اثری مشابه ولی ضعیف‌تر بوده است. این مسئله ممکن است به علت ایجاد هیپرپلاریزاسیون مداوم ناشی از دیازوکسید و مینوکسیدیل در سلولهای گونادوتروپ باشد چون Tse و همکارانش گزارش نموده‌اند که گونادوتروپهای راتهای مذکر دارای نوع خاص و غیر معمولی از تحریک سلولی هستند که ناشی از هیپرپلاریزاسیون دوره‌ای می‌باشد^(۱۰). یکی از دلایل پاسخ کمتر LH به مینوکسیدیل در مقایسه با دیازوکسید ممکن است اختلاف فارماکوکینتیک این داروها و متابولیت‌های آنها^(۱۱) و یا اختلاف پاسخ دهی کانالهای پتاسیم موجود در گونادوتروپها به



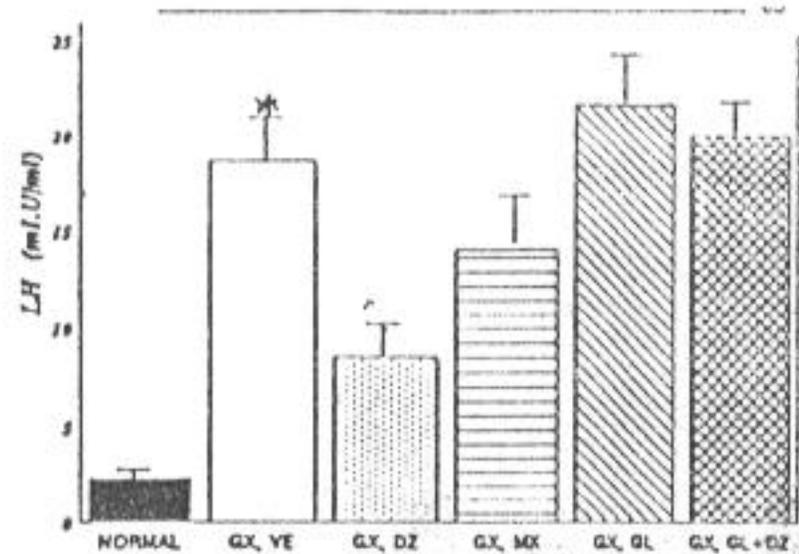
نمودار شماره ۴: اثر داروهای مسدودکننده کانالهای پتاسیم روی سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای سالم و دیابتی دریافت نموده‌اند دارای غلظت قند خون کمتر از گروه بدون تجویز انسولین بوده‌اند از طرف دیگر در راتهای دیابتی که غلظت قند خونشان در حدود ۴ برابر راتهای سالم بوده است غلظت گلوکز در حد قابل توجهی تحت تأثیر تجویز گلی بنکلامید یا کلروپروپامید قرار نگرفته است. در تمام موارد اثر مشاهده شده توسط دیازوکسید در اثر پیش درمانی با گلی بنکلامید مهار شده است.

جدول شماره ۱: اثر داروهای بازکننده و مسدودکننده کانالهای پتاسیم بر غلظت قند خون (mg/dl) در راتهای سالم، دیابتی و درمان شده با انسولین

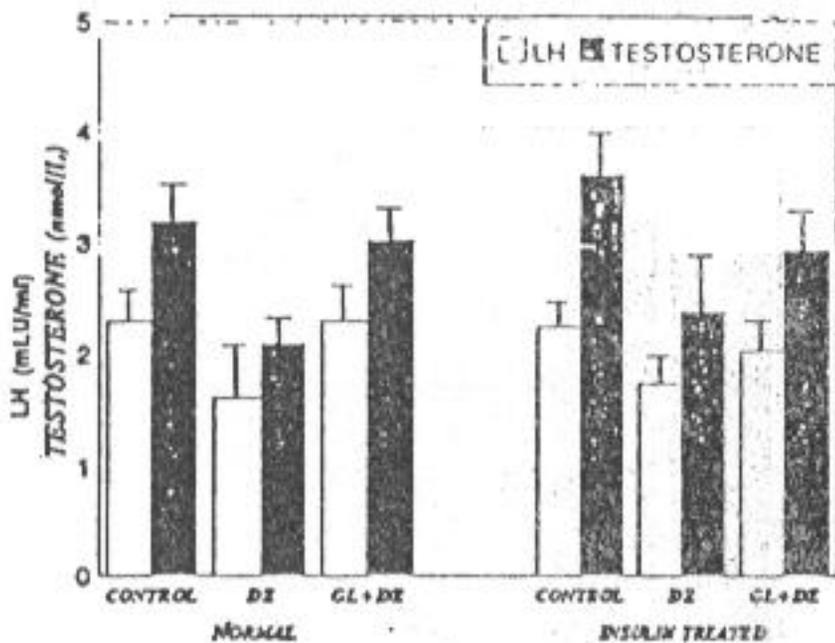
درمان شده با انسولین	دیابتی	سالم	
۷۴/۶ ± ۵/۵	۳۸۱/۸ ± ۳۷/۴	۸۷/۹ ± ۶/۲	کنترل
—	۲۷۱/۷ ± ۳۸/۵	۳۷/۹ ± ۴/۵	گلی بنکلامید
—	۳۹۴/۱ ± ۴۸/۴	۵۲/۵ ± ۱۳/۹	کلروپروپامید
۱۰۹/۲۲ ± ۲۴/۸	—	۱۵/۲ ± ۲۶/۶	دیازوکسید
—	—	۱۳۸/۵ ± ۲۱/۳	مینوکسیدیل
۹۳/۳ ± ۲۱/۳	۴۷۰/۶ ± ۱۱۶/۱	۱۱۷/۲ ± ۲۳/۵	گلی بنکلامید + دیازوکسید



نمودار شماره ۱: اثر داروهای مؤثر بر کانالهای پتاسیم روی سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای سالم



نمودار شماره ۲: اثر داروهای مؤثر بر کانالهای پتاسیم روی سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای گونادکتومی شده
 * $P < 0.001$ در مقایسه با گروه کنترل
 ** $P < 0.001$ در مقایسه با راتهای گونادکتومی درمان نشده
 *** $P < 0.001$ در مقایسه با راتهای درمان شده با دیازوکساید



نمودار شماره ۳: اثر دیازوکساید روی سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای درمان شده با انسولین

۳- اثر دیازوکساید روی سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای درمان شده با انسولین:

چون دیازوکساید ایجاد هیپرگلیسمی می‌نماید اثر آن را در حضور انسولین نیز مورد بررسی قرار داده‌ایم. سطح سرمی LH و تستوسترون در راتهای درمان شده با انسولین (1 IU/kg) تقریباً شبیه راتهای درمان نشده بود. تجویز دیازوکساید باعث کاهش ملایمی در غلظت سرمی LH و تستوسترون شده است که از نظر آماری قابل توجه نیست ($P > 0.05$) و تجویز قبلی گلی‌بنگلامید اثر دیازوکساید را مهار نموده است (شکل شماره ۳).

۴- اثر داروهای مسدودکننده کانالهای پتاسیم در راتهای دیابتیک:

با توجه به اینکه دو داروی گلی‌بنگلامید و کلروپروپامید که در این مطالعه به عنوان مسدودکننده کانالهای پتاسیم بکار رفته‌اند باعث هیپوگلیسمی می‌شوند اثر آنها در راتهایی که با تجویز استرپتوزوتوسین (75mg/kg) دیابتی شده بودند هم مورد بررسی قرار گرفت همانطور که در شکل شماره ۴ مشاهده می‌شود در راتهای دیابتی، سطح LH پایین تر از راتهای سالم بوده است که این اختلاف از نظر آماری هم قابل توجه است و اثر دیابت روی سطح سرمی تستوسترون هم تقریباً مشابه LH است و سطح سرمی LH و تستوسترون بعد از تجویز گلی‌بنگلامید و کلروپروپامید در راتهای دیابتی هم مانند راتهای سالم بدون تغییر عمده باقی مانده است.

۵- اثر داروهای بازکننده و مسدودکننده کانالهای پتاسیم روی غلظت قند خون:

جدول شماره ۱ اثر داروهای مورد مطالعه روی غلظت قند خون در راتهای سالم، دیابتی و درمان شده با انسولین را نشان می‌دهد. همانطور که پیش بینی می‌شود اثر پایین آورنده قند خون گلی‌بنگلامید و کلروپروپامید در راتهای سالم و اثر بالا برنده قند خون دیازوکساید و مینوکسیدیل در این مطالعه بخوبی قابل مشاهده است. در راتهای درمان شده با انسولین که دیازوکساید

راتهای سالم شده‌اند که در این زمینه هم مطالعه ما با مطالعات قبلی که اظهار داشته‌اند ترشح اندوروزنها در بیضه یا آدرنال در تحریک رشد مو ناشی از دیازوکسید و مینوکسیدیل سهیم نیست مطابقت دارد (۱۸ و ۱۹).

در این مطالعه راتهای درمان شده با دیازوکسید دارای سطح بالاتری از قند خون بوده‌اند که به علت مهار ترشح انسولین است این راتها در مقایسه با راتهایی که قبل از تجویز دیازوکسید انسولین هم دریافت نموده بودند تفاوتی از نظر سطح تستوسترون نداشته‌اند که این مسأله با مطالعات Nestler و همکارش که گزارش نموده‌اند تجویز دیازوکسید در زنان سالم و غیر چاق علیرغم مهار ترشح انسولین سطح تستوسترون را تغییر نمی‌دهد مطابقت دارد (۴). به علاوه این مشاهده که تجویز گلی‌بنگلامید یا کلروپروپامید به عنوان داروهایی که دارای اثر شناخته شده تحریک ترشح انسولین هستند سطح تستوسترون را تغییر نداده‌اند تأثیر انسولین در ترشح تستوسترون در راتهای مذکر را رد می‌نماید.

نتیجه‌گیری:

در این مطالعه کاهش سطح سرمی تستوسترون، در اثر تجویز دیازوکسید و مینوکسیدیل، بطور مستقیم با کاهش سطح LH مطابقت دارد و این نشان دهنده دخالت گونادوتروپها به عنوان محل اثر اصلی دیازوکسید و مینوکسیدیل و پاسخ دهی آنها به داروهای مؤثر بر کانالهای پتاسیم حساس به ATP است.

مینوکسیدیل و دیازوکسید باشد نظیر همان چیزی که در سلولهای ترشح کننده انسولین در پانکراس دیده می‌شود (۱۱). در این مطالعه تجویز گلی‌بنگلامید به راتهای در مرحله کتام از گروههای مورد مطالعه اثری روی سطح سرمی پایه LH یا تستوسترون نداشته است که با یافته‌های Hile و Tse و Hile که گزارش نموده‌اند، کانالهای پتاسیمی که واسطه اثر GnRH در ترشح LH هستند از نوع Apamin-sensitive Ca^{2+} -activated K^{+} channel هستند. مطابقت دارد چون آپامین و مشتقات سولفونیل اوره انواع متفاوتی از کانالهای پتاسیم را تحت تأثیر قرار میدهند (۱۱). بعلاوه این مسئله با گزارشاتی که در زمینه حضور کانالهای پتاسیم حساس به ATP در گونادوتروپها و پاسخ دهی آنها به تستوسترون وجود دارد (۱). هم تناقضی ندارد چون کانالهای پتاسیم حساس به ATP که در بافت عروقی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند در حالت عادی در وضعیت بسته هستند و تجویز داروهای مسدودکننده کانالهای پتاسیم باعث تغییر وضعیت آنها و در نتیجه بروز پاسخ نمی‌شود (۱۴ و ۱۵) و ممکن است وضعیت مشابهی هم در گونادوتروپها وجود داشته باشد.

با توجه به آنکه بعضی از این داروها باعث رشد فولیکولهای مو می‌شوند تاکنون توجه زیادی به اثر این داروها روی ترشح اندوروزنها معطوف شده است (۱۴ و ۱۷) در این مطالعه دیازوکسید و مینوکسیدیل نه تنها سطح سرمی تستوسترون را افزایش نداده‌اند بلکه باعث کاهش اندکی در سطح سرمی آن در

References:

- 1- Cook, N.S. *The Pharmacology of K^{+} channels and their therapeutic potential*. Trends in Pharmacol. Sci. 1988, vol. 9, 21-28
- 2- Quast, U. and Cook N.S.; *Moving to gether: K^{+} channel openers and ATP-sensitive K^{+} channels*. Trends in Pharmacol. Sci. 1998 vol. 10 431 - 435
- 3- Hafiez, A.A. Liayd, Cw. and Bartke, A. *The role of prolactin in the regulation of testis Function: The effect of prolactin and LH on The phasm Levels of Testosterone and androstendion in hypophysectomized rats*. J. Endocrinol, 1972 vol. 52 327-335
- 4- Nesler. J. E. Singh, R. Matt, DW. Clore, Jn. and

- Blackard , W.G. *Suppression of serum insulin level by diazoxide does not alter serum testosterone or sex hormone -binding globulin levels in healthy , non obese women . Am . J . Obstet . Gynecol .1990, vol ,163 1243 - 1246*
- 5- Dubowski , R.M. An O-toluidin method for body fluid glucose determination . Clin . Chem .1962, vol , 8 215-217
- 6- Petit , P . Blayac , J.P. Manteghetil . M . and Loubatieres - Mariani , M.M *Comparative effects of LN533- and diazoxide on insulin release and $^{89}\text{Rb}^+$ Permeability in perfused rat islets of langerhands . Biochemical Pharmacol .1991, vol,47(4) 787 - 791*
- 7- Chen , C . Zhang ,J.Dayanithi , G .Vincent ,J.D.and Israel , JM. cationic currents on Identified rat gonadotroph cells maintained in primary culture. *Neurochem Int.* 1989, vol , 15 265-275
- 8- Huckle,WR,and conn,PM. Molecular mechanism of gonadotropin releasing Hormone action . II.the effector system . *Endocrinol .Rev,* 1988, vol , 9 387 - 395
- 9- sikdar,SK . Meintosh , RP.and Mason.WT. *Differential modulation of Ca^{2+} - activated K^+ channels in ovine pituitary gonadotrophs by GnRH , Ca^{2+} and cAMP.* Brain Res.1989, vol , 496 113-123
- 10- TSE , A.and Hille , B . *GnRH - induced Ca^{2+} oscillations and rhythmic hyperpolarizations of pituitary gonadotropes . Science,* 1992, vol ,255 462 - 464
- 11- Antoine , M.H : Herman , M , Herchuelz , A . and lebrun , P . *Ionic and secretory responses of pancreatic islet cells to minoxidil sulfate.* J. pharmad . EXP . ther .1991,vol.258,186 - 291
- 12- Nakajima , T , shinohara , T . Yaoka , O . Fukunari , A . shinagawa , K . Aoki , K . katoh , A . Yamanaka , T. Setoguchi , M . and Tahara , T . Y - 27152 , *a long - acting K^+ channel opener with less tachycardia . Antihypertensive effects in hypertensive rats and dog in conscious state.* J.Pharmacol . EXP . Ther. 1992, vol , 261 730-736
- 13- Yue - P ; Chatter Jeek;Beale - C;poole - wilson - PA ; Collins - P *Testosterone relaxes rabbit coronary arteries and aorta . Circulation .1995, 15 ;91(4) 1145-60*
- 14- Edward ,G.and Weston ,AH: *K^+ channel openers and vascular smooth muscle relaxation.* Pharmac Ther .1990, vol , 48 237 -258
- 15- Fedman , HA.and Puschett ,JB, *Minoxidil -induced hypertrichosis . Curr.Ther.Res .1980, vol ,27 205 -209*
- 16- Uno,H.Kemnitz , JW.Cappas , A. Adachis , K . Sakuma , A. and Kamoda , H: *The effects of topical diazoxide on hair follicular Growth and physiology of he stumptailed macaque.* J.Dermaatol .Sci .1990, vol ,1 (3) 183-194
- 17- Parker,L . and Lifrax,ET. *Lack of a gonadal or adernal androgenic mechanisn for hypertrichosis produced by diazoxied ,phenytoin and minoxidil .Biochem.Pharmacol .1982, vol ,31 (10) 1948-1950*
- 18- Broulik,P.D . and Horky ,K. *Minoxidil does not posses Androgenic activity . Pharmacology,* 1988, vol , 36 321-324.
- 19- Nestler JE . Barlascini ,CO . Matt.DW . Stingold, KA .Plymate, SK. Clore, JN .and Blackard, WG. *suppression of serum insulin by diazoxide reduces serum testosterone levels in obese women with polycystic ovary syndrome.* J.Clin . Endoc . and Metab .1989, vol ,68 (6) 1027-1031