Research Paper

Received: 29 Nov 2020
Last revised: 15 Feb 2021
Accepted: 01 March 2021

Effect of chronic treatment with caffeine on glycemic indices and insulin sensitivity responses in streptozotocin-induced diabetic rats

Afshar Jafari[1], Ali Zarghami Khameneh[1]*, Saeed Nikookheslat[1], Pouran Karimi[2]

1. Department of Exercise Physiology, School of Physical Education and Sport Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Neurosciences Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran

*** Corresponding author e-mail:** ali.zarghami64@gmail.com

Citation: Jafari A, Zarghami Khameneh A, Nikookheslat S, Karimi P. Effect of chronic treatment with caffeine on glycemic indices and insulin sensitivity responses in streptozotocin-induced diabetic rats. Daneshvar Medicine 2021; 28(6):64-74.
doi: 10.22070/DANESHMED.2021.12913

Abstract

Background and Objective: Some studies have demonstrated that acute caffeine ingestion induces reduces insulin sensitivity in healthy subjects and shift glycemic homeostasis toward hyperglycemia. So, this study aimed to investigate the caffeine treatments on some of glycemic index and insulin sensitivity responses in the serum of type 2 diabetic rats.

Materials and Methods:: In experimental design, thirty male wistar rats with an age range of 3-2 months and weight range 300-250 g were randomly divided into 3 groups of homogeneous 10 rats in each group: Healthy control (C), Diabetic control (D): high-fat diet combined with a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) at a low dose 35 mg/kg-1 i.p and Diabetic with supplement (D+CA): intraperitoneal injection of pure caffeine at 70 mg/kg-1 5 days/week for 8 weeks. The 48-hours after last caffeine administration bout, fasting serum glucose and insulin levels and HOMA-IR and QUICKI were measured. Data were analyzed by one-way ANOVA for any statistical significant differences between the study groups.

Results: The results showed that the induction of type 2 diabetes causes a significantly increase in fasting serum glucose and insulin levels (P=0.001). Whereas, caffeine administration caused exacerbated in increased serum glycemic index levels in compared to other groups (P=0.001). Also, insulin resistance and sensitivity index in diabetic groups increased and decreased, respectively (P=0.001).

Conclusion: Based on the results of this study, chronic caffeine treatment have deleterious effect on glycemic homeostasis and insulin sensitivity index in type two diabetes.

Keywords: Caffeine, Insulin, Type two diabetes, High fat diet, Streptozotocin

مقاله پژوهشی

تأثیر تیمار مزمن با کافئین بر پاسخ شاخص‌های قندی و حساسیت انسولینی موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین

نویسندگان: افشار جعفری[1]، علی ضرغامی خامنه[1*]، سعید نیکوخصلت[1]، پوران کریمی[2]

۱.گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده تربیت‌بدنی و علوم ورزشی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
۲. مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

*نویسنده مسئول: علی ضرغامی خامنه **Email: ali.zarghami64@ gmail.com**

دریافت: ۱۳۹۹/۰۹/۰۹
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۹/۱۱/۲۷
پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۱

چکیده

مقدمه و هدف: برخی مطالعات عنوان کرده‌اند که مصرف حاد کافئین در افراد سالم موجب کاهش در حساسیت انسولینی و تغییر در هومئوستاز قندی به سمت هیپرگلایسمی می‌گردد. لذا، هدف از این پژوهش بررسی تیمار مزمن کافئین بر پاسخ شاخص‌های قندی و حساسیت به انسولینی در سرم موش‌های دیابتی نوع دو بود.

مواد و روش ها: در طرحی نیمه تجربی، ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ ویستار با دامنهٔ سنی ۳-۲ ماه و وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم به‌طور تصادفی در ۳ گروه همگن ۱۰ سری شامل: کنترل سالم (C)، کنترل دیابتی (D: رژیم غذایی پُرچرب در ترکیب با تزریق درون صفاقی تک دوز استرپتوزوسین به میزان ۳۵ mg.kg-1) و دیابتی با مکمل (D+CA: تزریق درون صفاقی کافئین خالص به میزان ۷۰ mg.kg-1 در ۵ روز هفته بمدت ۸ هفته) تقسیم شدند. ٤٨ ساعت پس از آخرین وهلهٔ تجویز کافئین میزان سرمی گلوکز و انسولین ناشتا و شاخص HOMA-IR و QUICKI اندازه گیری شد. از تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه برای بررسی تفاوت‌های آماری استفاده گردید.

نتایج: نتایج حاکی است که القاء دیابت نوع دو موجب افزایش معنی دار در سطوح گلوکز و انسولین ناشتای سرم می‌گردد (P=۰/۰۰۱). در حالیکه، تجویز کافئین باعث تشدید در میزان شاخص‌های قندی سرم افزایش یافته در مقایسه با دیگر گروه‌ها شد (P=۰/۰۰۱). همچنین، شاخص HOMA-IR و QUICKI به ترتیب در گروه‌های دیابتی شده به‌ترتیب افزایش و کاهش معنی‌داری پیدا نمود (P=۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته های این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت، احتمالاً تیمار مزمن کافئین دارای اثرات مخرب بر هومئوستاز قندی و شاخص حساسیت انسولینی ناشی از دیابت نوع دو می‌باشد.

واژه های کلیدی: کافئین، انسولین، دیابت نوع دو، رژیم پُرچرب، استرپتوزوسین

مقدمه

شیوع دیابت نوع دو (T2D)[1] در سرتاسر جهان بطور پیوسته با افزایش میزان چاقی در حال رشد است. بطوریکه، مقاومت به انسولینی (IR)[2] از ویژگی‌های برجستهٔ این اختلال سوخت و سازی بوده و اشاره به اختلال در توانایی انسولین برای تحریک برداشت گلوکز از بافت‌های پیرامونی دارد (۱). در حالیکه سازوکارهای مولکولی زیربنایی مؤثر در T2D بطور کامل ثابت نشده، اما به خوبی مشخص شده است که افراد دارای مقاومت به انسولین معمولاً با کاهش انتقال گلوکز و افزایش در غلظت اسیدهای چرب آزاد پلاسما (FFA)[3] تشخیص داده می‌شوند و با اختلال سوخت و سازی همراه هستند (۱). بطور نمونه، قارابودا[4] و همکاران چنین گزارش نمودند که موش‌های مبتلا به دیابت نوع دو دارای سطوح افزایش یافته‌ای از شاخص‌های گلوکز پلاسمایی، هایپرانسولینمی، مقاومت به انسولینی (HOMA-IR)[5] و کاهش در عملکرد سلول‌های بتای پانکراسی هستند که در انتها موجب کاهش در برداشت گلوکز تحریک شده بر اثر انسولین در برخی از بافت‌ها از جمله عضلات اسکلتی و کبد می‌گردد (۲).

این در حالی است که امروزه محققان پزشکی از تعدیل‌کننده‌های مختلف سبک زندگی برای کنترل چاقی و علائم دیابت نوع دو بهرهٔ دوچندانی می‌برند (۳). در این زمینه، استفاده از مداخلات دارویی-تغذیه‌ای همچون قهوه به‌عنوان محبوب‌ترین و رایج‌ترین نوشیدنی در سراسر جهان نشان دهندهٔ کاهش وزن و بهبود علائم مربوط به دیابت نوع دو می‌باشد (٤-۳). به‌طوریکه، برخی از ادبیات موجود چنین ادعا می‌کنند که اثرات ضد دیابتی قهوه توسط مهم‌ترین ترکیب فعال بیولوژیکی موجود در آن یعنی کافئین میانجیگری می‌شود (۵). کافئین (۱،۳،۷- تری متیل گزانتین)[6] آلکالوئید پورینی متیل‌دار مشتق شده از خانوادهٔ متیل‌گزانتین‌ها (با فرمول شیمیایی C8H10N4O2) است که به دلیل دارا بودن پتانسیل قوی برای تغییر سوخت و ساز انرژی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. از طرفی، اثرات کوتاه و بلندمدت کافئین طی مطالعات همه‌گیرشناختی و تجربی بر هومئوستاز گلوکز در افراد سالم و مبتلا به دیابت بررسی و گهگاه نیز یافته‌های متناقض و بحث برانگیزی مشاهده شده است (۷-۵). در این راستا، گروه تحقیقاتی کُلنس[7] و همکاران عنوان داشتند که برداشت گلوکز تحریک شده بر اثر انسولین و فسفوریلاسیون پروتئین کیناز کیناز B (PKB)[8] در عضلات اپی‌تروکلئاریس ساعد موش‌های ویستار نر انکوبه شده در مواجههٔ کوتاه مدت کافئین و تئوفیلین (متابولیت کافئین) متوقف می‌گردد (۷). به‌علاوه، کیجزرس[9] و همکاران با بررسی تزریق کوتاه مدت ۳ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن کافئین در آزمودنی‌های سالم به کاهش در حساسیت به انسولین به میزان ۱۵٪ از ۰/٤٦ به ۰/۳۹ میکرومول در لیتر در مقایسه با گروه دارونما اظهار داشتند (۹). در تضاد با این موضوع، کویلهو[10] و همکارانش با مطالعه بلند مدت رژیم هایپرکالریک با سوکروز بالا در موش‌های ویستار و به دنبال آن تیمار ۱۲ هفته‌ای با مقادیر متفاوت ۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ گرم در لیتر کافئین در آب نوشیدنی آزمودنی‌ها به بهبود در هومئوستاز گلوکز کل بدن و مسیرهای پیام‌رسانی انسولین اشاره داشتند (۸). بااین‌حال، اطلاعات جامعی در رابطه با سازوکارهای کافئین بر تغییرات شاخص‌های قندی وجود ندارد، ولی در سطح سلولی نشان داده شده است که مصرف کافئین امکان دارد از طریق چند سازوکار متفاوت اعمال مهاری خود بر هومئوستاز گلوکز بدن و تحریک برداشتن گلوکز ناشی از انسولین را اعمال کند؛ که شامل افزایش فعالیت دستگاه عصبی سمپاتیکی (SNS) در ارتباط با افزایش سطح هورمون‌های ضد تنظیمی گلوکز (آدرنالین و کورتیزول) (۱۰)، مهار چرخهٔ نوکلئوتید فسفودی‌استراز

[1] Type 2 diabetes
[2] Insulin resistance
[3] Free Fatty Acids
[4] Garabadu
[5] Homeostatic model assessment
[6] Caffeine (1, 3, 7-trimethylxanthine)
[7] Kolnes
[8] Protein kinase B
[9] Keijzers
[10] Coelho

که منجر به افزایش درون سلولی آدنوزین مونوفسفات حلقوی (cAMP)[1] و هیپرفسفوریلاسیون باقیماندهٔ سرین IRS-1[2] (۱۱) و مهار گیرنده‌های آدنوزینی ایزوفرم A1 و A2B موجود بر روی عضلات اسکلتی و بافت آدیپوزی می‌گردد (۱۲)، که منجر به بروز مقاومت به انسولینی می‌شود. این یافته‌های متناقض چنین پیشنهاد می‌کنند که تجویز کوتاه و بلند مدت کافئین دارای اثرات به ظاهر متضاد و اثرات فارماکولوژیکی و اهداف متفاوتی هستند.

از این رو هدف تحقیق حاضر، بررسی این موضوع و پاسخ به این پرسش است که آیا تیمار مزمن کافئین (تزریق درون صفاقی ۷۰ میلی‌گرم در وزن بدن بمدت هشت هفته) می‌تواند بر سطوح شاخص‌های قندی (گلوکز ناشتای سرمی) و حساسیت به انسولینی (انسولین ناشتا، شاخص حساسیت و مقاومت به انسولین) در موش‌های صحرایی مبتلاء به دیابت نوع دو مفید باشد؟

مواد و روش ها

در تحقیق حاضر از نوع مطالعات تجربی با طرح پس‌آزمون با گروه کنترل است. در این مطالعه از ۳۰ سر موش صحرایی نر سفید نژاد ویستار با سن ۳-۲ ماه و با میانگین وزنی ۲۰±۲۵۰ گرم که به روش در دسترس از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی تبریز خریداری و در آزمایشگاه حیوانی دانشگاه علوم پزشکی تبریز (مرکز تحقیقات علوم اعصاب) نگهداری شد. به‌طوری‌که تمامی آزمودنی‌ها در محیط آزمایشگاهی ویژه حیوانات در اتاقی به ابعاد ۳ در ٤ متر با دارا بودن شرایط ذیل؛ دما ۳±۲۲ درجهٔ سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۵±۵۰ درصد، با کمترین سروصدا و چرخهٔ روشنایی-تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته (شروع روشنایی از ساعت ۷:۰۰ صبح الی ۱۹:۰۰ عصر) به‌صورت ۳ تا ۵ عدد موش در هر قفس از جنس پلی‌کربنات شفاف با درب توری و در ابعاد ۲۵×۲۷×٤۳ سانتی‌متر قرار داده شدند. در سراسر دوره تحقیق، تمامی حیوانات به‌صورت آزادانه[3] به آب و غذای استاندارد حیوانی (پلت تهیه شده از شرکت خوراک‌سازان اصفهان) به مدت سه ماه دسترسی (فصل بهار) داشتند که این میزان غذای مصرفی به‌صورت دقیق اندازه‌گیری و ثبت گردید.

در پایان دوره آشناسازی (دو هفته‌ای)، آزمودنی‌ها پس از مطابقت وزنی به‌طور تصادفی ساده در یکی از ۳ گروه ۱۰ سری شامل؛ گروه کنترل سالم (C=۱۰)، گروه کنترل دیابتی (D=۱۰) و گروه دیابتی دریافت کننده کافئین (D+CA=۱۰) جای گرفتند (جدول ۱).

جدول ۱. گروه‌های مورد مطالعه در تحقیق حاضر (هر گروه شامل ۱۰ سر موش)

گروه	مشخصات	ID
کنترل سالم	بدون مکمل (همزمان تزریق سرم سالین برای ایجاد شرایط یکسان با گروه کنترل دیابت)	C
کنترل دیابتی	بدون مکمل (تزریق سرم سالین بعنوان دارونما)	D
دیابتی با کافئین	با مکمل کافئین (تزریق کافئین هیدراته)	D+CA

روش القاء دیابت نوع دو

پس از گذشت دو هفته سازگاری با محیط جدید (دوره آشناسازی)، برای القای دیابت نوع دو (در گروه‌های D وD+CA) طبق روش گروه مطالعاتی ساسیدهاران[4] و همکاران (۲۰۱۳)، بمدت دو هفته غذای پُرچرب (٤۵٪ چربی، ۲۱٪ پروتئین و ۳٤٪ کربوهیدرات) که توسط محققان و با همکاری شرکت خوراک‌سازان اصفهان تهیه شده بود و سپس تزریق درون صفاقی (IP)[5] سم استرپتوزوسین[6] (شرکت سیگما آلدریچ[7]، آمریکا) در یک دوز ۳۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار (PH٤/۵=) بعد از شش ساعت ناشتایی به‌صورت تک وهله‌ای اعمال گردید (۱۳). برای گروه کنترل سالم (C) نیز همان مقدار سرم فیزیولوژیک (سالین)[8] برای ایجاد شرایط کاملاً یکسان با گروه‌های دیابتی شده تزریق شد. ۹٦ ساعت پس از روش دیابتی کردن، میزان گلوکز نمونه خونی از ورید دُمی حیوان جمع‌آوری و با

[1] Cyclic adenosine monophosphate
[2] Insulin receptor substrate
[3] Ad libitum
[4] Suja Rani Sasidharan
[5] Intraperitoneal injection
[6] Streptozotocin
[7] Sigma-Aldrich
[8] Saline

استفاده از روش آنزیمی گلوکز اُکسیداز بررسی و غلظت گلوکز خون بالاتر از ۳۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به‌عنوان موش‌های صحرایی دیابتی نوع دو وارد تحقیق شدند.

نحوه تجویز مکمل کافئین

کافئین به شکل پودر کافئین خالص اِنهیدروز (خشک) تهیه شده از شرکت آلمانی مرک[1] با شماره مجوز (۲۵۱۸۳۵۹٤۳۵۵۷۱۰۲۰) از سازمان غذا و دارو، ۵ روز در هفته بمدت هشت هفته با توجه به وزن بدن حیوانات (۷۰ میلی‌گرم در وزن بدن در روز با توجه متوسط دوز کشندهٔ mg.kg-1190LD50= برای موش) (۱٤) به‌طور کافئین هیدراته (محلول در یک سی‌سی نرمال سالین) بصورت تزریق درون صفاقی (IP)[2] توسط سرنگ انسولین بود (برابر با ۱٤ میلی‌گرم کافئین به ازای هر ۲۰۰ گرم از وزن بدن موش). تجویز کافئین در دورهٔ بیدار شدن موش‌ها از خواب و اوایل زمان فعالیت آن‌ها در محدودهٔ زمانی ساعت ۲۰-۱۹ عصر تجویز گردید.

نمونه‌گیری و تجزیه و تحلیل آزمایشگاهی

تمامی موش‌های صحرایی، ٤۸ ساعت پس از آخرین مداخله (جهت از بین بردن اثرات حاد) و پس از ۱۲ تا ۱٤ ساعت ناشتایی، با تزریق داخل صفاقی کتامین (۹۰ mg.kg-1) و زایلازین (۱۰ mg.kg-1) به روش بدون درد توسط متخصصین کارآزموده بیهوش و جراحی شدند. سپس نمونه‌های خونی با سرنگ و به میزان کافی مستقیماً از بطن چپ آن‌ها اخذ گردید و برای تهیهٔ سرم درون لوله‌های خلأ ریخته شد؛ سپس سریعاً به مدت ۸ دقیقه با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ با تعداد ۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد تا سرم بدست آمده برای آزمایش‌های بعدی در لوله های مجزا در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردد. میزان گلوکز ناشتا به روش رنگ‌سنجی آنزیمی بر اساس واکنش گلوکز اُکسیداز (کیت شرکت پارس آزمون؛ ایران) با حساسیت ۵ میلی‌گرم در دسی‌لیتر و توسط دستگاه اتوآنالایزر مدل ۹۰۲ (هیتاچی[3]؛ آلمان) اندازه‌گیری شد. میزان انسولین ناشتای سرم نیز به روش الایزا از نوع ساندویچی رقابتی با حساسیت ۰/۵ میکرو واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر (μ U/ml) و ضریب تغییرات درون‌سنجی و برون-سنجی ٦/٤۵٪ از شرکت الایزا ریدر (دی‌آرجی؛ آلمان) محاسبه شد. شاخص مقاومت به انسولین با استفاده از روش ارزیابی مدل هومئوستازی (HOMA) و میزان حساسیت به انسولینی (QUICKI)[4] نیز با استفاده از معادله‌های زیر محاسبه گردید:

HOMA-IR = (µU/ml) انسولین ناشتا × (mg/dl) گلوکز ناشتا ÷٤۰۵

QUICKI= 1/ (log (fasting insulin µU/mL) + log (fasting glucose mg/dL)

روش آماری

توزیع طبیعی داده‌ها با استفاده از آزمون کلموگروف-اسمیرنوف بررسی گردید. پس از تأیید توزیع طبیعی داده‌ها و با توجه به هدف تحقیق، نخست پیش فرض تحقیق مبنی بر تفاوت معنی‌دار گروه تجربی با گروه کنترل با استفاده از آزمون تی مستقل بررسی و سپس اثرات جداگانه و همزمان متغیر مستقل (مکمل کافئین) روی متغیرهای وابسته در قالب یک طرح آماری ANOVA یک راهه و آزمون تعقیبی توکی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. تمامی عملیات آماری در سطح معنی‌داری برابر و کمتر از ۵ درصد و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS22 تحت ویندوز انجام شد. نمودارها و جداول نیز با استفاده از نرم افزار۲۰۱۰ Excel رسم گردیدند.

یافته‌ها

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد (جدول ۲)، القای دیابت نوع دو در گروه کنترل دیابتی (D) منجر به افزایش معنی‌دار ۱۸۸/۲۷ و ٤۱/۵۰ درصدی به ترتیب در سطوح سرمی گلوکز و انسولین ناشتا در مقایسه با گروه کنترل سالم (C) می‌گردد (P=۰/۰۰۱). بطوریکه، میزان شاخص‌های حساسیت به انسولین و مقاومت به انسولین در گروه کنترل دیابتی (D) در مقایسه با گروه کنترل سالم (C) به ترتیب کاهش (۱۲/۵ درصد) و افزایش (۳۰۹ درصد) پیدا نموده است (P۰/۰۵≥) (نمودار ۱ و ۲).

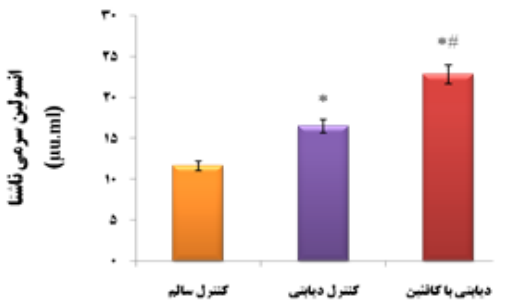
به علاوه، میزان سطوح انسولین ناشتای سرمی به میزان ۳۸/۳٦ درصد (P=۰/۰۰٦) و سطوح گلوکز ناشتای سرمی به میزان ٦/۸ درصد (P=۰/۰۱۵) در موش‌های دیابتی شده متعاقب هشت هفته تیمار با کافئین (D+CA) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی (D) افزایش معنی‌داری یافته است.

[1] Merck KGaA
[2] Intra Protaneal
[3] Hitachi
[4] Quantitative Insulin Sensitivity Check Index

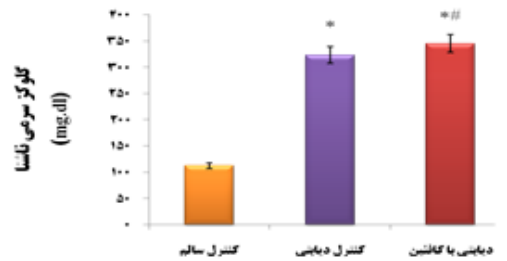
همچنین، میزان شاخص مقاومت به انسولین (HOMA-IR) در گروه دیابتی با کافئین (D+CA) به میزان ٤٧/٦٠ درصد در مقایسه با گروه کنترل دیابتی (D) افزایش معنی‌داری را نشان داد (P=٠/٠٠٥). از طرفی، میزان شاخص حساسیت به انسولین (QUICKI) به میزان ٣/٥ درصد در گروه دیابتی با کافئین (D+CA) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی (D) کاهش معنی‌داری را نشان می دهد (P=٠/٠٢٥) (نمودار ٣ و ٤).

جدول ٢. مشخصات شاخص‌های قندی و حساسیت به انسولین در گروه‌های مورد مطالعه (هر گروه شامل ١٠ سر موش)

گروه‌ها / متغیرها	کنترل سالم (C)	کنترل دیابتی (D)	دیابتی با مکمل (D+CA)	F	P-Value
گلوکز ناشتای سرم (mg/dl)	١١٢/١٦±١٠/٦٦	٣٢٣/٣٣±١٣/٢٠	٣٤٥/٣٣±١١/٦٩	٧٠٢/٤٤	٠/٠٠١
انسولین ناشتای سرم (µu/ml)	١١/٦٦±١/٨٦	١٦/٥٠±٢/٨١	٢٢/٨٣±٣/٩٧	٢٥/٥٨	٠/٠٠١
مقاومت به انسولین (HOMA-IR)	٣/٢٢±٠/٠٦	١٣/١٧±٠/٤١	١٩/٤٤±٠/٤٠	١٦/٠٥	٠/٠٠١
حساسیت به انسولین (QUIKI)	٠/٣٣±٠/٠٧	٠/٢٨±٠/٠٥	٠/٢٦±٠/٠٦	٤/٣٥	٠/٠٠١

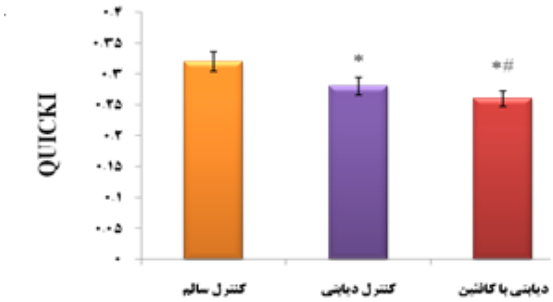


نمودار شماره ١. میزان تغییرات انسولین سرمی ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه
* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل سالم
# نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی



نمودار شماره ٢. میزان تغییرات گلوکز سرمی ناشتا در گروه‌های مورد مطالعه
* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل سالم
# نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی

نمودار شماره ٣. میزان تغییرات شاخص مقاومت به انسولینی (HOMA-IR) در گروه‌های مورد مطالعه
* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل سالم
# نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی



نمودار شماره ٤. میزان تغییرات شاخص حساسیت به انسولین (QUICKI) در گروه‌های مورد مطالعه
* نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل سالم
# نشان دهنده تفاوت معنی‌دار (P<٠/٠٥) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی

بحث

یافته‌های پژوهش حاضر مبنی بر افزایش معنی‌دار سطوح سرمی گلوکز و انسولین در گردش به دنبال تجویز مزمن کافئین همسو با نتایج برخی از مطالعات موجود همچون کُلنس و همکاران و اِگاوا[1] و همکاران حاکی است که مصرف کافئین منجر به اختلال در سوخت و ساز گلوکز و مهار پیام رسانی مربوط به انسولین شده و باعث پدیده‌ای بنام هایپرگلیسیمی و هایپرانسولینمی می‌گردد (١٥،٧).

[1] Egawa

به‌عنوان نمونه، کُلنس و همکاران عنوان داشتند که مصرف کافئین در غلظت‌های بالا (همچون تحقیق حاضر) بطور کامل برداشت گلوکز تحریک شده بر اثر انسولین از طریق فسفوریلاسیون باقیماندهٔ Thr308 و Ser473 پروتئین کیناز B را بطور کامل متوقف کرده و فسفوریلاسیون GSK-3 β Ser9 تحریک شده بر اثر انسولین نیز توسط کافئین مهار می‌گردد (۷). اِگاوا و همکاران نیز با بررسی عضلات اپی‌تروکلئاریس موش‌های نر اسپرادوگوالی تحت انکوباسیون با کافئین ۳-۰/۱ میلی‌مول بمدت ۱۵ دقیقه اظهار داشتند که کافئین منجر به سرکوب فسفوریلاسیون باقیماندهٔ Tyr612 سوبسترای ۱-گیرندهٔ انسولین (IRS-1) در یک روش وابسته به دوز-زمان می‌شود (۱۵). به‌علاوه، کافئین باعث سرکوب فسفوریلاسیون باقیماندهٔ IRS-1 Ser636/639 تحریک شده بر اثر انسولین و کینازهای پائین دستی شامل هدف راپامایسین پستانداران (mTOR)[1] و کیناز P70S6K گردید. درحالیکه منجر به افزایش فسفوریلاسیون IRS-1 Ser307 و کیناز IRS-1 Ser307، Ser176/180 کیناز مهار کنندهٔ- α / β kB (IKK-) و مهمتر از همه افزایش فسفوریلاسیون IRS-1 Ser789 تحریک شده بر اثر انسولین می‌گردد (۱۵). این در حالی است که در مطالعات درون آزمایشگاهی ارتباط بین فسفوریلاسیون Ser789 و مقاومت به انسولینی مشاهده شده است (۱۵)؛ بنابراین، در رابطه با یافته‌های مشاهده شده در مطالعات فوق‌الذکر و تحقیق حاضر چنین می‌توان اظهار داشت که احتمالاً دوزاج بکار رفته و متعاقب آن سطوح خونی کافئین می‌تواند عامل تعیین کننده‌ای در پاسخ مسیرهای پیام رسانی انسولین به میزان برداشت گلوکز از گردش خون باشد. بطوریکه، نشان داده شده است که کافئین سرکوب کنندهٔ فعالیت ایزوفرم p110 δ فسفاتیدیل اینوزیتول ۳-کیناز (PI3-K) مسیر پیام رسانی انسولین IRS-PI3K-Akt در غلظت مهاری در حدود بیش از ۵۰ میکرومول (IC50=50 μ M) شده و همچنین ممانعت کننده از فعالیت دستهٔ IA PI3-k در غلظت‌های نسبتاً بالا می‌شود (۱۶). چنانچه بر اساس نتایج مطالعات موجود، همچون تحقیق حاضر تجویز ۷۰ میلی‌گرم در وزن بدن موش‌ها موجب غلظت‌های پلاسمایی در حدود ۴۰ الی ۵۰ میکرومول (دارای اثرات مهاری در برداشت گلوکز توسط انسولین) می‌شود که بسیار شبیه به غلظت‌هایی است که پس از مصرف ٤ تا ٥ فنجان قهوه بصورت یکجا[2] مصرف می‌گردد (١٤). همچنین، این را نیز بایستی ذکر کرد که عدم بررسی غلظت کافئین در سرم حیوانات و نیز فعالیت مسیرهای پیام‌رسانی بالادستی انسولین می‌تواند از محدودیت‌های اصلی در تحقیق ما برای درک اثرات بالقوهٔ کافئین باشد.

به‌علاوه، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف کافئین باعث کاهش در حساسیت به انسولین به میزان ۳/۵ درصد از ۰/۲۸ به ۰/۲٦ میکروگرم در کیلوگرم در دقیقه در مقایسه با گروه کنترل دیابتی و کاهش ۱۸/۷ درصدی در مقایسه با گروه کنترل سالم می‌گردد. در توافق با یافته‌های تحقیق حاضر، ساکرامنتو[3] و همکاران عنوان داشتند که مصرف حاد کافئین (۵-۰/۰۰۱ میکرومول) باعث کاهش حساسیت به انسولین از طریق یک اثر وابسته به غلظت (EMAX=54/55 و IC50=61/11 نانومول)، اثراتی که توسط گیرنده‌های آدنوزینی A1 و A2B میانجیگری می‌شوند (۱۷). در تناقض با یافته‌های تحقیق حاضر، سیلوا و همکاران (٢٠١٤) با بررسی موش‌های ٦٠ روزه با وزن متوسط ٢٣٨ گرم دیابتی شده توسط تزریق درون صفاقی استرپتوزوسین (STZ) و تحت مصرف گاواژ دوز حاد کافئین (٦ میلی‌گرم در وزن بدن) در آب مقطر ٦٠ دقیقه قبل از انجام فعالیت شنا بمدت ٦٠ دقیقه شدند، اظهار داشتند که گروه دریافت کنندهٔ کافئین در مقایسه با گروه کنترل باعث کاهش در گلوکز خون سرمی به میزان ٢٥٪ (از ٤٠٣ به ٣١١ میلی‌گرم در دسی‌لیتر) و افزایش در حساسیت به انسولینی در موش‌های دیابتی شده در مقایسه با گروه کنترل می‌گردد (١٨).

با وجود این، افزایش در شاخص مقاومت به انسولینی (HOMA) به میزان ٤٧/٦٠ درصد در گروه دیابتی متعاقب تیمار با ٧٠ میلی‌گرم کافئین (D+CA) در مقایسه با گروه کنترل دیابتی (D) در مطالعهٔ حاضر مشاهده شد. در این راستا، گروه تحقیقاتی بئودین[4] و همکاران در مطالعه‌ای با بررسی ٢٤ آزمودنی داوطلب (١٢ مرد و ١٢ زن) شرکت

[1] Mammalian target of rapamycin

[2] Bolus
[3] Sacramento
[4] Beaudoin

کننده در ٤ کارآزمایی به دنبال آزمون تحمل گلوکز خوراکی ۲ ساعته (OGTT)[1] و مصرف مقادیر متفاوت (۱، ۳ و ۵ میلی‌گرم در کیلوگرم وزن بدن) اظهار داشتند که حتی مصرف مقادیر پائین کافئین (۱ میلی‌گرم) نیز باعث افزایش در هر دوی مساحت زیر منحنی (AUC)[2] انسولین و گلوکز در طی آزمون OGTT شده و تفسیر نتایج بدین شکل بود که مصرف هر میلی‌گرم از کافئین باعث تشدید مقاومت به انسولینی به میزان ۱۰-۵٪ می‌گردد که این پاسخ‌ها بین مردان و زنان یکسان بود (۱۹). همچنین، پتریه و همکاران با آزمون اثرات مصرف کافئین روی پاسخ انسولین به مصرف یکجای ۷۵ گرم گلوکز متعاقب آزمون OGTT نشان دهندهٔ اختلال در هومئوستاز گلوکز ناشی از انسولین علی‌رغم یک کاهش وزن معنی‌دار ۸/۵ کیلوگرمی متعاقب مصرف کافئین بودند (۲۰). این نشان می‌دهد که احتمالاً مصرف کافئین بطور معنی‌داری در ارتباط با مقاومت به انسولینی مستقل از فعالیت بدنی با یا بدون کاهش وزن است.

با این توصیف، تضاد موجود شاید به میزان غلظت‌های فیزیولوژیکی و فارماکولوژیکی پلاسمایی کافئین برای فعال کردن مسیرهای پیام‌رسانی باشد. چنانچه، به‌تازگی تسودا[3] و همکاران با بررسی عضلات اپی‌تروکلئاریس ساعد (عضلهٔ تند انقباض) جدا شدهٔ موش‌ها در شرایط انکوبه شده در حضور و یا عدم حضور ۳ میلی‌مول در لیتر کافئین بمدت ۳۰ یا ۱۲۰ دقیقه و انجام تحریک الکتریکی (ES) با ایجاد انقباض‌های تِتانی در طی ۱۰ دقیقهٔ انتهایی دورهٔ انکوباسیون عنوان داشتند که ترکیب کافئین به‌علاوهٔ فعالیت انقباضی دارای اثرات تجمعی روی فسفوریلاسیون AMPKα Thr172، فعالیت ایزوفرم α ویژهٔ AMPK، انتقال ۳-اُ-متیل-دی-گلوکز (MG۳) است (۱۱). این در حالی است که بطور جالبی، بیشتر مطالعات اعمال مهاری کافئین بر روی متوقف کردن برداشت گلوکز تحریک شده بر اثر انسولین در عضلهٔ اسکلتی را از طریق سازوکارهای مستقل از کلسیم و بواسطهٔ افزایش محتوای cAMP می‌دانند. چنانچه، افزایش در سطوح cAMP درون سلولی توسط کافئین باعث هایپرفسفوریلاسیون باقیماندهٔ تیروزینی IRS و اختلال در مسیر پیام رسانی انسولین می‌گردد (۲۱،۲۲). نتایج برخی از مطالعات نیز نشان داده‌اند که افزایش فعالیت دستگاه عصبی سمپاتیکی (SNS) در ارتباط با افزایش سطح هورمون‌های استرسی و ضدتنظیمی (کاتکولامین‌ها و کورتیزول) در گردش بوده که خود سرانجام باعث مقاومت به انسولینی خواهد شد (۲۳). چنانچه، بادرام[4] و همکاران اشاره داشتند که مصرف کپسول کافئین (۵ میلی‌گرم در وزن بدن) در مردان سالم متعاقب آزمایش کلامپ یوگلیسمی-هیپرانسولینمیک (HEC)[5] ۳-ساعته با افزایش سطوح آدرنالین به میزان ۰/٦ نانومول، میزان تزریق گلوکز (GIR) در ارتباط با میزان مصرف تام گلوکز بدن و حساسیت به انسولین را به‌ترتیب در حدود ۱۳٪ در مقایسه با دارونما بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد (۱۰). به‌علاوه، چنین بیان شده است که کافئین منجر به کاهش ۱۹ درصدی در جریان خون کبدی می‌شود؛ که این خود باعث افزایش در سطوح چربی‌های آزاد خون (FFA) شده و از این طریق می‌تواند بر کاهش حساسیت به انسولینی تأثیرگذار باشد.

نتیجه‌گیری

بطور کلی، چنین به نظر می‌رسد که تیمار هشت‌هفته‌ای کافئین به میزان ۷۰ میلی گرم بر کیلوگرم در موش‌های دیابتی شده بر شاخص‌ها قندی و حساسیت به انسولینی تأثیرات نامطلوبی داشته باشد. چنانچه، برخی از محققان سازوکار دخیل را اثرات مخرب کافئین بر مسیرهای بالا و پائین دستی پیام‌رسانی انسولین در برداشت گلوکز محیطی عنوان کرده‌اند. بطوریکه، برای رسیدن به نتایج قطعی‌تر در این مورد بررسی دوزاج‌های قابل تعمیم در آزمودنی‌های سالم و دیابتی انسان ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

پژوهش حاضر مربوط به قسمتی از یافته‌های رساله دکتری آقای علی ضرغامی خامنه در گرایش بیوشیمی و متابولیسم ورزشی دانشکدهٔ تربیت بدنی و علوم ورزشی دانشگاه تبریز می‌باشد. بخشی از هزینه طرح حاضر توسط معاونت

[1] Oral glucose tolerance test
[2] Area under the curve
[3] Tsuda
[4] Battram
[5] Hyperinsulinemic-euglycemic clamp

پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه تبریز تأمین شده است. از این‌رو، نویسندگان از حامیان مالی و مدیریت آزمایشگاه حیوانی مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز و همچنین شرکت سامانه یاخته پژوهان سارا کمال تشکر و امتنان را دارند.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر دارای کد اخلاق: IR.TBZMED.VCR.REC.1397.389 از کمیته پزشکی اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی تبریز می‌باشد.

منابع

1. Julia H. Goedecke, Edward O. Ojuka. Diabetes and Physical Activity. 1st ed. Karger USA: 2014; 200-250.
2. Garabadu D, Krishnamurthy S. Metformin attenuates hepatic insulin resistance in type-2 diabetic rats through PI3K/Akt/GLUT-4 signalling independent to bicuculline-sensitive GABAA receptor stimulation. Pharmaceutical Biology 2017;55(1):722-728. doi: 10.1080/13880209.2016.1268635.
3. Wedick NM, Brennan AM, Sun Q, Hu FB, Mantzoros CS, Van Dam RM. Effects of caffeinated and decaffeinated coffee on biological risk factors for type 2 diabetes: a randomized controlled trial. Nutrition Journal 2011; 13(10):93-104. doi: 10.1186/1475-2891-10-93..
4. Zarghami-Khameneh A, Jafari A. The effect of different doses of caffeine and a single bout of resistant-exhaustive exercise on muscle damage indices in male volleyball players. FEYZ: Journal of Kashan University of Medical Scienes 2014; 18(3): 220-228 .
5. James DLane. Caffeine, glucose metabolism, and type 2 diabetes. Journal of Caffeine Research 2011; 1(1): 23-28. https://doi.org/10.1089/jcr.2010.0007
6. Kim AR, Yoon BK, Park H, et al. Caffeine inhibits adipogenesis through modulation of mitotic clonal expansion and the AKT/GSK3 pathway in 3T3-L1 adipocytes. BMB Reports 2016;49(2):111-5. doi: 10.5483/bmbrep.2016.49.2.128.
7. Kolnes AJ, Ingvaldsen A, Bolling A. Caffeine and theophylline block insulin-stimulated glucose uptake and PKB phosphorylation in rat skeletal muscles. Acta physiologica 2010;200(1):65-74. doi: 10.1111/j.1748-1716.2010.02103.x.
8. Coelho JC, Melo BF, Rodrigues T, Matafome P, Sacramento JF, Guarino MP, et al. Caffeine restores insulin sensitivity and glucose tolerance in high-sucrose diet rats: effects on adipose tissue. The Journal of Cardiovascular Diseases 2016: 440-449.
9. Gerben Keijzers, Bastiaan de Galan, Cees J Tack, Paul Smits. Caffeine can decrease insulin sensitivity in humans. Diabetes Care 2002; 25(2):364-9. doi: 10.2337/diacare.25.2.364.
10. Battram Danielle S, Terry E Graham, Erik A Richter, Flemming Dela. The effect of caffeine on glucose kinetics in humans − influence of adrenaline. The Journal of Physiology 2005; 15;569(Pt1):347-55. doi: 10.1113/jphysiol.2005.097444.
11. Satoshi Tsuda, Tatsuro Egawa, Kazuto Kitani. Caffeine and contraction synergistically stimulate 5′-AMP-activated protein kinase and insulin-independent glucose transport in rat skeletal muscle. Physiological Reports 2015; 3(10): e12592. doi: 10.14814/phy2.12592.

12. Johnston-Cox H, Koupenova M, Yang D, et al. The A2b adenosine receptor modulates glucose homeostasis and obesity. PLoS One 2012;7(7):e40584. doi: 10.1371/journal.pone.0040584.

13. Suja Rani Sasidharan, Joshua Allan Joseph, Senthilkumar Anandakumar, Vijayabalaji Venkatesan, Chandrasekharan Nair Ariyattu Madhavan, Amit Agarwal. An experimental approach for selecting appropriate rodent diets for research studies on metabolic disorders. BioMed Research International 2013: ID 752870; 1-9.

https://doi.org/10.1155/2013/752870.

14. Sinha RA, Farah BL, Singh BK, Siddique MM, Li Y, Wu Y, et al. Caffeine stimulates hepatic lipid metabolism by the autophagy-lysosomal pathway in mice. The Hepatology 2014;59(4):1366-80. doi: 10.1002/hep.26667.

15. Egawa T, Tsuda S, Ma X, et al. Caffeine modulates phosphorylation of insulin receptor substrate-1 and impairs insulin signal transduction in rat skeletal muscle. The Journal of Applied Physiology 2011;111(6):1629-36. doi: 10.1152/japplphysiol.00249.2011.

16. Akiba T, Yaguchi K, Tsutsumi K, et al. Inhibitory mechanism of caffeine on insulin-stimulated glucose uptake in adipose cells. Biochemical Pharmacology 2004; 15 (10):1929-37. doi: 10.1016/j.bcp.2004.07.036.

17. Sacramento JF, Ribeiro MJ, Yubero S. Disclosing caffeine action on insulin sensitivity: effects on rat skeletal muscle. European Journal of Pharmaceutical Sciences 2015; 5(70):107-16. doi: 10.1016/j.ejps.2015.01.011.

18. da Silva LA, de Freitas L, Medeiros TE, et al. Caffeine modifies blood glucose availability during prolonged low-intensity exercise in individuals with type-2 diabetes. Colombia Medical Journal 2014; 45 (2):72-6. doi: https://doi.org/10.25100/cm.v45i2.1477.

19. Beaudoin MS, Allen B, Mazzetti G, et al. Caffeine ingestion impairs insulin sensitivity in a dose-dependent manner in both men and women. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism 2013;38(2):140-7. doi: 10.1139/apnm-2012-0201.

20. Petrie HJ, Chown SE, Belfie LM. Caffeine ingestion increases the insulin response to an oral-glucose-tolerance test in obese men before and after weight loss. The American Journal of Clinical Nutrition 2004;80(1):22-8. doi: 10.1093/ajcn/80.1.22.

21. Jensen TE1, Rose AJ, Hellsten Y, Wojtaszewski JF, Richter EA. Caffeine-induced Ca (2+) release increases AMPK-dependent glucose uptake in rodent soleus muscle. The American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism 2007;293(1):E286-92. doi: 10.1152/ajpendo.00693.2006.

22. Zaharieva DP, Riddell MC. Caffeine and glucose homeostasis during rest and exercise in diabetes mellitus. Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism 2013; 38(8):813-22. doi: 10.1139/apnm-2012-0471..

23. Conde SV, Nunes da Silva T, Gonzalez C. Chronic caffeine intake decreases circulating catecholamines and prevents diet-induced insulin resistance and hypertension in rats. British Journal of Nutrition 2012;107(1):86-95. doi: 10.1017/S0007114511002406.