Feyz Medical Sciences Journal
2023, Volume 27, Issue 5
Pages: 473-480
Doi: 10.48307/FMSJ.2023.0.5.473
Original Article

Changes in protein expression of NMDA glutamate receptor and Pannexin-1 channel in gastric antrum tissue of rats with type 2 diabetes and treated with insulin

Hossein Rezazadeh Mehrizi [1], Nepton Soltani [1], Nasrin Mehranfard [2], Maedeh Ghasemi [1*]

[1] Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
[2] Neurophysiology Research Center, Cellular and Molecular Medicine Research Institute, Urmia University of Medical Sciences, Urmia, Iran

[*]**Corresponding author:** Maedeh Ghasemi, Department of Physiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
Email: ghasemi.m.ph@gmail.com

Received: 6 August 2023 **Revised:** 8 November 2023 **Accepted:** 17 October 2023

Abstract

Background and Aim: Evidence shows that glutamate receptors play a role in the occurrence of gastrointestinal damage caused by diabetes. Therefore, in this study, the protein expression pattern of glutamate receptor N-methyl-D-aspartate (NMDA) and pannexin-1 (Panx-1) channel, which has an important functional relationship with glutamate receptors, in the stomach of type 2 diabetic rats were investigated. We also assessed the effect of long-term treatment with insulin on the possible changes of the mentioned proteins.

Methods: In this experimental study, 18 male Wistar rats weighing approximately 80-90 grams were randomly assigned into 3 groups (6 rats each): 1) control with standard diet, 2) type 2 diabetes: high-fat diet for 3 months + single dose of streptozotocin (35 mg/kg), and 3) type 2 diabetes + insulin treatment. The protein content of NMDA receptor as well as Panx-1 was detected using western blot method and compared among groups.

Results: In the stomach of type 2 diabetic rats, the expression of Panx-1 protein was significantly decreased ($P<0.001$), while the expression of NMDA receptor ($P<0.001$) showed a significant increase. Insulin treatment improved the expression level of Panx-1 protein in diabetic rats, in addition, insulin treatment decreased the expression level of NMDA receptor in diabetic rats ($P<0.05$).

Conclusion: The present findings indicate important changes in protein levels of NMDA receptor and Panx-1 channel and their possible role in the occurrence of sensory-motor and secretory damage related to diabetes. The correction of the above changes may play a role in improving the functional damage caused by type 2 diabetes.

Keywords: Type 2 diabetes, NMDA receptor, Pannexin-1 channel

Copyright© 2023. This open-access article is published under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International License which permits Share (copy and redistribute the material in any medium or format) and Adapt (remix, transform, and build upon the material) under the Attribution-NonCommercial terms. Downloaded from: http://feyz.kaums.ac.ir/

مجله علوم پزشکی فیض
دوره ۲۷، شماره ۵، آذر و دی ۱۴۰۲
صفحات: ۴۸۰-۴۷۳
Doi: 10.48307/FMSJ.2023.0.5.473
اصیل پژوهشی

تغییرات بیان پروتئین گیرنده گلوتاماتی NMDA و کانال Pannexin-1 در بافت آنتروم معده موش‌های صحرائی مبتلا به دیابت نوع ۲ و تحت درمان با انسولین

حسین رضازاده مهریزی [۱]، نپتون سلطانی [۱]، نسرین مهران فرد [۲]، مائده قاسمی [۱*]

[۱] گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران
[۲] مرکز تحقیقات نوروفیزیولوژی، موسسه پزشکی سلولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه، ارومیه، ایران

دریافت مقاله: ۱۴۰۲/۰۵/۱۵ **اصلاح مقاله:** ۱۴۰۲/۰۸/۱۷ **پذیرش مقاله:** ۱۴۰۲/۰۷/۲۵

چکیده

زمینه و هدف: شواهد نشان می‌دهد گیرنده‌های گلوتاماتی در بروز آسیب‌های گوارشی ناشی از دیابت نقش دارند. از این رو، در این مطالعه به الگوی بیان پروتئین گیرنده گلوتاماتی N-متیل-D-آسپارتات (NMDA) و کانال pannexin-1(Panx-1)، که ارتباط عملکردی مهمی با گیرنده‌های گلوتاماتی دارد، در معده موش‌های دیابتی نوع ۲ پرداختیم. همچنین تأثیر درمان طولانی مدت با انسولین را بر تغییرات احتمالی پروتئین‌های مذکور بررسی کردیم.

روش‌ها: در این مطالعه تجربی ۱۸ سر موش صحرایی نر ویستار با وزن تقریبی ۹۰-۸۰ گرم به طور تصادفی به ۳ گروه (هر کدام ۶ موش) تقسیم شدند: ۱) کنترل با رژیم غذایی استاندارد، ۲) دیابت نوع ۲: تحت رژیم غذایی پرچرب به مدت ۳ ماه + تک دوز استرپتوزوتوسین (۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، و ۳) دیابت نوع ۲ + درمان با انسولین. محتوای پروتئینی گیرنده NMDA و همچنین Panx-1 با استفاده از روش وسترن بلات شناسایی و بین گروه ها مقایسه شد.

یافته‌ها: در معده موش‌های دیابتی نوع ۲ بیان پروتئین Panx-1 به طور معنی‌دار کاهش داشت (P<۰/۰۰۱)، در حالی که بیان گیرنده NMDA (P<۰/۰۰۱) افزایش معنی‌داری را نشان داد. درمان با انسولین سطح بیان پروتئین Panx-1 را در موش‌های دیابتی بهبود بخشید، علاوه بر این، درمان با انسولین باعث کاهش سطح بیان گیرنده NMDA در موش‌های دیابتی شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: نتایج حاضر حاکی از تغییرات مهم سطوح پروتئینی گیرنده NMDA و کانال Panx-1 و نقش احتمالی آنها در بروز آسیب‌های حسی-حرکتی و ترشحی مرتبط با دیابت است. اصلاح تغییرات فوق ممکن است در بهبود آسیب‌های عملکردی ناشی از دیابت مزمن نوع ۲ نقش داشته باشد.

کلیدواژه‌ها: دیابت نوع ۲، گیرنده NMDA، کانال Pannexin-1

*نویسنده مسئول: **مائده قاسمی**. پست الکترونیک: ghasemi.m@med.mui.ac.ir
آدرس: گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

مقدمه

اختلال عملکرد معده (گاستروپاتی) یک عارضه شایع در بیماران دیابتی است که با تغییر در عملکرد سلول‌های ایمنی و سیستم عصبی انتریک مرتبط است. گزارش شده علائم پاتوفیزیولوژیک گاستروپاتی دیابتی مانند تهوع، استفراغ، انسداد، اسهال، نفخ و درد شکم در بیماران دیابتی، به عدم تعادل گلوکز خون، نوروپاتی سیستم عصبی انتریک و اتونوم، کمبود سنتز نیتریک اکسید سنتاز نورونی (nNOS)، کاهش بیان هِم اکسیژناز-۱ و کاهش سلول‌های بینابینی کاخال مربوط می‌باشد [۱]. مطالعات اخیر به نقش پاتوفیزیولوژیک سیگنالینگ انتقال دهنده‌های عصبی در بیماری‌های گوارشی از جمله گاستروپاتی دیابتی اشاره دارند [۲].

گلوتامات، مولکول تحریک کننده اصلی موجود در سیستم عصبی مرکزی و اندام‌های محیطی است. گیرنده‌های گلوتاماتی یونوتروپیک، کانال‌های یونی وابسته به لیگاند هستند که شامل سه زیرگروه گیرنده‌های NMDA، AMPA و kainate است. اخیراً شواهد فزاینده‌ای نشان داده که گیرنده گلوتامات/گلوتامات/ سیستم گلوتاماترژیکی نقش مهمی در تنظیم عملکردهای فیزیوپاتولوژیک بافت‌های گوارشی ایفا می‌کنند [۳،۴]. ال-آرژنین ال-گلوتامات خوراکی وابسته به دوز باعث تخلیه معده در موش‌ها شده و عملکرد حرکتی معده را بهبود می‌بخشد، که نشان می‌دهد می‌تواند یک داروی خوراکی برای درمان سوء هاضمه عملکردی یا کندی حرکات بخش فوقانی دستگاه گوارش باشد [۵]. همچنین یک مطالعه نشان داده که مسدود کردن گیرنده گلوتاماتی، التهاب روده بزرگ مرتبط با استرس مزمن را تسکین می‌دهد [۶]. گیرنده‌های گلوتاماتی در مخاط معده در انتقال اطلاعات حسی مربوط به فیبرهای آوران واگ شرکت می‌کنند و در کنترل ترشح اسید معده و فعالیت حرکتی آن نقش دارند [۷]. همچنین نشان داده شده است که تمام زیرواحدهای گیرنده NMDA، در سلول‌های عصبی لایه زیرمخاطی و میانتریک جدار معده وجود دارند. شواهد فارماکولوژیک نشان می‌دهد که گیرنده‌های NMDA و kainate نورون‌های میانتریک واقع در عضلات صاف فوندوس موش‌ها دارای اثر تحریکی قوی هستند [۸]. مطالعات از وجود یک ارتباط تقویتی مثبت بین عملکرد گیرنده NMDA و کانال رهاکننده ATP و به عبارتی پانکسین‌ها (pannexins; Paxns) در بافت‌های مختلف گزارش می‌دهند [۹].

پانکسین‌ها یک خانواده سه عضوی (Panx-1, Panx-2,Panx-3)) از پروتئین‌های غشای پلاسمایی هستند که با پروتئین‌های تشکیل‌دهنده اتصال شکافدار، یعنی اینکسین‌ها، همسانی ساختاری دارند. با این حال، پانکسین ها اتصالات شکافی ایجاد نمی‌کنند بلکه به عنوان کانال‌های غشایی آزاد کننده ATP عمل می‌کنند [۱۰]. شناخته شده ترین عضو این پروتئین‌ها، Panx-1 است. مشخص شده است که Panx-1 از نظر عملکردی با گیرنده پورینرژیک P2X و گیرنده NMDA مرتبط می‌باشد. فعال شدن این گیرنده‌های پورینرژیک و گلوتاماتی توسط لیگاندهای اندوژن منجر به فعال شدن متقاطع کانال‌های Panx-1 می‌شود. این به نوبه خود سیگنالینگ گیرنده‌های P2X و NMDA را تقویت می‌کند [۹]. مطالعات نشان می‌دهند که Panx-1 در سیستم عصبی مرکزی فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند نوروژنز و شکل پذیری سیناپسی وابسته به رسپتور NMDA را وساطت می‌کند [۱۱]. گزارش شده یک ارتباط عملکردی مهمی بین فعال‌سازی رسپتور NMDA و Panx-1 در پردردی نوروپاتیک نخاع و آسیب‌های مغزی تروماتیک نیز وجود دارد [۹،۱۲].

در بافت‌های محیطی مانند دستگاه گوارش، مطالعات پیشین، نقش Panx-1 را در فرآیندهای التهابی نشان داده‌اند [۱۳]. با استفاده از مدل‌های کولیت تجربی، گزارش شده که فعال شدن Panx-1 در روده زمینه ساز مرگ نورونی و متعاقب آن حرکت غیرطبیعی روده در بیماری التهابی روده (IBD) است. حفظ نورون‌های انتریک با مهار Panx-1 از شروع اختلال عملکرد حرکتی کولون ناشی از التهاب جلوگیری می‌کند [۱۴]. پیشنهاد شده هدف قرار دادن Panx-1 یک استراتژی محافظت کننده عصبی جدید برای بهبود پیشرفت اختلال حرکتی مرتبط با IBD باشد. همچنین در یک مدل کولیت ex vivo کولون انسانی، مهار Panx-1 آسیب کریپت ناشی از سیتوکین‌های التهابی، از دست دادن پروتئین‌های اتصالات محکم، و افزایش نفوذپذیری سلول را کاهش داده است. بنابراین، Panx-1 ممکن است در ایجاد آسیب مخاطی، به عنوان ویژگی بالینی رایج بیماری التهابی روده، نقش داشته باشد [۱۵]. در یک مطالعه، Zhang و همکاران نشان دادند که گیرنده پورینرژیک P2X7 و Panx-1 در بافت معده موش‌های دیابتی افزایش می‌یابد. این تنظیم افزایشی منجر به افزایش نفوذپذیری کلسیم و ماکرومولکول‌ها می‌شود و در نتیجه به نورون‌های تولیدکننده نیتریک اکسیدسنتاز (NOS) در موش‌های دیابتی آسیب می‌رسد [۱۶]. مطالعه دیگر گزارش کرده که افزایش بیان Panx-1 با القای بیان آکوپورین ۵ (AQP5)، که بیان ویمنتین و E-cadherin را تسهیل می‌کند، باعث انتقال سلول‌های سرطانی معده به مزانشیمی و اپیتلیال و ارتقای توانایی‌های مهاجرتی و تهاجمی آنها می‌شود [۱۷]. از این رو مشخص شده که Panx-1 در پاتوفیزیولوژی بسیاری از بیماریها مانند بیماری کرون، ایدز، ملانوم، صرع، التهاب مزمن روده، آسیب نخاعی و سکته نقش دارد [۱۱،۱۸،۱۹] . تنوع آسیب‌های سلولی در این بیماری‌ها نشان می‌دهد که Panx-1 در فرآیندهای سلولی که منجر به التهاب مزمن، مرگ سلولی و بیماری می شود نقش دارد، اگر چه هنوز جزییات دقیق به طور کامل مشخص نشده است.

با توجه به اینکه التهاب با درجه پایین یک ویژگی رایج در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ است و گزارشات مختلفی حاکی از دخالت فعالیت Panx-1 در واکنش‌های التهابی می‌باشد و نیز با توجه به اینکه ارتباط عملکردی بین فعال‌سازی رسپتور NMDA و

کانال Panx-1 در مطالعات بسیاری گزارش شده، در این مطالعه به بررسی الگوی بیان پروتئین کانال Panx-1 و رسپتور گلوتاماتی NMDA در بافت معده موش‌های مبتلا به دیابت مزمن نوع ۲ پرداخته شد.

روش‌ها

نوع مطالعه و گروه‌بندی حیوانات

مطالعه تجربی حاضر در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۰ در آزمایشگاه فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام شد. هجده سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (۴ هفته با وزن ۸۰-۹۰ گرم) در قفس‌های استاندارد با رژیم غذایی معمولی، دسترسی آزاد به آب و چرخه‌های نور/تاریکی ۱۲:۱۲ ساعته، سازگار شدند. موش-ها به طور تصادفی به سه گروه (۶ موش) گروه کنترل، گروه دیابت نوع ۲ (T2) و گروه دیابتی تحت درمان با انسولین تقسیم شدند [۲۰]. گروه کنترل رژیم استاندارد را دریافت کردند. در گروه دیابتی T2، موش‌ها به مدت سه ماه تحت رژیم غذایی پرچرب قرار گرفتند، سپس ۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین داخل صفاقی را به صورت تک دوز در پایان ماه سوم دریافت کردند. پس از سه روز، گلوکز خون اندازه گیری شد. مدل دیابتی T2، با سطح گلوکز خون غیر ناشتا بیشتر یا مساوی ۲۵۰ میلی گرم در دسی لیتر و تست تحمل گلوکز مختل تایید گردید [۲۱]. رژیم غذایی پرچرب حاوی ۲۵ درصد پروتئین، ۱۷ درصد کربوهیدرات و ۵۸ درصد چربی بود. در گروه دریافت کننده انسولین، موش‌های دیابتی با دوز ۲/۵U/Kg دو بار در روز تحت درمان قرار گرفتند. به طور همزمان، گروه کنترل و دیابت T2 به مدت دو ماه نرمال سالین را به‌عنوان حامل دریافت کردند. تا پایان آزمایش تمام گروه‌های دیابتی به طور مداوم تحت رژیم پرچرب بودند. اندازه‌گیری گلوکز خون به صورت هفتگی انجام شد.

پس از اتمام دوره، موش‌ها با دوز بالای کتامین و زایلازین قربانی شدند. بخشی از بافت آنتروم معده جدا و بلافاصله با بافر فسفات سرد شسته شد و برای ارزیابی وسترن بلات در نیتروژن مایع غوطه ور گردید. سطح گلوکز خون با استفاده از روش آنزیمی گلوکز اکسیداز رنگی با استفاده از دستگاه گلوکومتر ارزیابی شد.

ارزیابی بیان پروتئین به روش وسترن بلات

سطح پروتئین Panx-1، گیرنده NMDA، و β-اکتین با استفاده از روش وسترن بلات تعیین شد. پروتئین کامل از نمونه‌های بافتی با استفاده از بافر لیزکننده، طبق پروتکل ساخته شده استخراج شد. مقادیر مساوی از پروتئین‌ها روی ژل SDS-PAGE برای جداسازی پروتئین‌ها قرار گرفتند. پس از الکتروفورز، ژل‌ها به غشای PVDF منتقل شدند. برای بلاکینگ غشاءها از بافر حاوی شیرخشک بدون چربی استفاده گردید. پروتئین‌های مورد نظر توسط آنتی‌بادی‌های اولیه اختصاصی [Panx-1 (Santa Cruz Biotechnology, Inc) and NMDAε1 (E-4) (Santa Cruz Biotechnology, Inc)] و آنتی‌بادی‌های ثانویه مناسب با یک سوبسترای لومینسانس شیمیایی قابل رویت شدند. کمّی‌سازی باندهای پروتئینی توسط نرم‌افزار image J انجام شد. پروتئین β-اکتین، بعنوان پروتئین کنترل داخلی استفاده گردید.

محاسبات آماری

تمام مقادیر به صورت میانگین ± انحراف استاندارد (SEM) گزارش شدند و P<۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد. ارزیابی تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک‌طرفه با آزمون تعقیبی توکی انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری توسط GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد.

ملاحظات اخلاقی

تمامی پروتکل‌های آزمایشی بر اساس دستورالعمل‌ها و مقررات NIH مربوط به حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان (IR.MUI.MED.REC.1398.832) تایید گردید.

نتایج

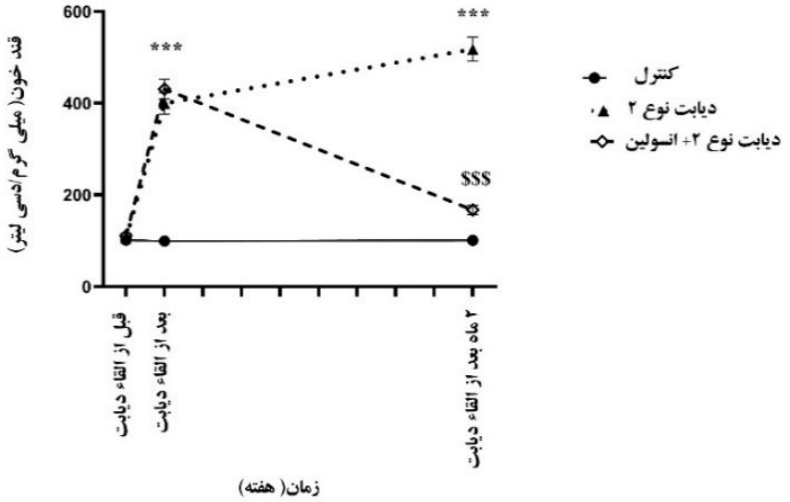
تغییرات قند خون ناشتا (FBG) موش‌های دیابتی T2 و تحت درمان با انسولین

سطح FBG در همه گروه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت و در شکل ۱ آمده است. سطح FBG در گروه دیابتی T2 به طور قابل توجهی نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود. سطح FBG کاهش معنی‌داری را در گروه تحت درمان با انسولین در مقایسه با گروه دیابت T2 در روند و پایان آزمایش نشان داد (P<۰/۰۰۱).

تغییرات پروفایل بیان پروتئین Panx-1 و رسپتور NMDA بافت معده موش‌های دیابتی T2 و تحت درمان با انسولین

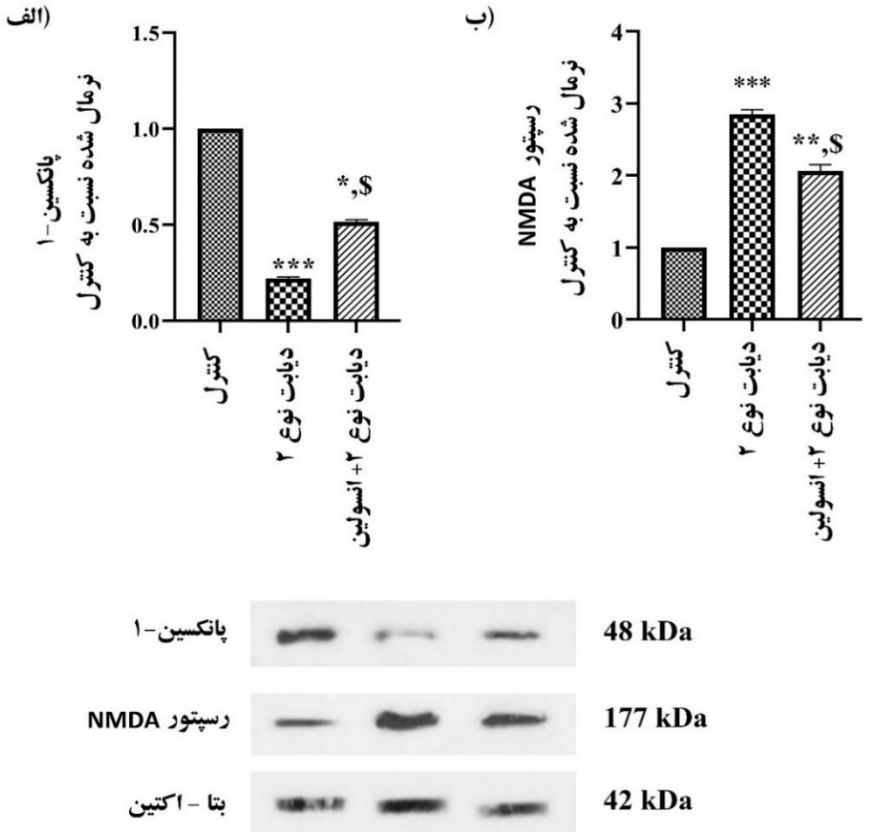
Panx-1: همانطور که شکل-۲-الف نشان می‌دهد، بیان پروتئین Panx-1 در گروه دیابتی T2 در مقایسه با گروه کنترل کاهش قابل توجهی را نشان می‌دهد (P<۰/۰۰۱). در مقایسه با گروه دیابتی T2، بیان پروتئین Panx-1 در گروه تحت درمان با انسولین به طور معناداری افزایش داشت (P<۰/۰۵). اگرچه همچنان گروه تحت درمان با انسولین تفاوت معنی‌داری را با گروه کنترل نشان می‌دهد (P<۰/۰۵).

گیرنده NMDA: بیان پروتئین گیرنده NMDA در همه گروه‌ها نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری دارد (شکل-۲-ب). این افزایش در گروه دیابتی T2 در بالاترین سطح با اختلاف معنادار (P<۰/۰۰۱) نسبت به گروه کنترل قرار دارد. مشاهده می‌شود که گروه تحت درمان با انسولین توانست بیان این گیرنده را در مقایسه با گروه T2 به‌طور معناداری کاهش دهد (P<۰/۰۵).



شکل ۱. اثرات درمان طولانی مدت انسولین بر غلظت گلوکز ناشتا در موش‌های دیابتی T2 (n=6) .

داده ها به صورت میانگین SEM ± گزارش شده است، ***(P<۰/۰۰۱) در مقابل کنترل و $$$ (P<۰/۰۰۱) در مقابل موش‌های T2 سطح معنی‌داری را نشان می‌دهند.



شکل ۲. تغییرات سطوح پروتئین گیرنده NDDA و کانال Panx-1 در گروه‌های مختلف در مقایسه با گروه کنترل

الف: میزان بیان پروتئین Panx-1 در گروه دیابتی در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری کاهش یافته است. گروه دیابتی تحت درمان با انسولین نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌داری در سطح پروتئین Panx-1 را نشان می‌دهد.

ب: میزان بیان پروتئین گیرنده NMDA در گروه دیابتی و دیابت + انسولین نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری نشان می‌دهد. در حالی که میزان بیان آن در گروه دیابت + انسولین نسبت به گروه دیابتی T2 بدون درمان به طور قابل توجهی کاهش یافته است.

*(P<۰/۰۵)، **(P<۰/۰۱) و *** (P<۰/۰۰۱) نشان دهنده تفاوت معنی‌داری در مقایسه با گروه کنترل و $ P<۰/۰۵ در مقایسه با گروه های دیابتی T2 است.

بحث

در این مطالعه، تغییرات بیان پروتئین کانال panx-1 و گیرنده NMDA در بافت معده موش‌های دیابتی T2 و تحت درمان بلند مدت با انسولین ارزیابی شد. نتایج پایش قند خون ناشتا در حیوانات دیابتی نشان‌دهنده کنترل قندخون به دنبال دریافت انسولین با دوز ۲/۵U/Kg بود. نتایج مولکولی نشان داد بیان پروتئین کانال Panx-1 کاهش و گیرنده NMDA در بافت معده موش‌های دیابتی نوع ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش یافته است. درمان با انسولین باعث افزایش معنی‌داری در بیان پروتئین کانال panx-1 شد. همچنین، سطح پروتئین گیرنده NMDA به دنبال انسولین درمانی در بافت معده گروه دیابتی کاهش داشت.

مشکلات معده معمولاً در بیماران دیابتی که مدت طولانی‌تری به این بیماری مبتلا هستند بسیار شایع است و بیشتر به دلیل نوروپاتی است که بر اعصاب خاصی در دستگاه گوارش تأثیر می‌گذارد. مهمتر از همه، عصب واگ است که بسیاری از عملکردهای معده را کنترل می‌کند [۲۲]. آسیب به اعصاب می‌تواند در نتیجه هیپرگلیسمی طولانی مدت اتفاق بیفتد. بنابراین کنترل قند خون اصلی‌ترین راهکار درمانی برای کاهش مشکلات ناشی از دیابت در بافت‌های مختلف از جمله معده می‌باشد. همانطور که نتایج قند خون نشان داد با دوز درمانی انسولین در مطالعه حاضر، گلوکز خون به طور مطلوبی تحت کنترل می‌باشد.

بیان فراوان رسپتور گلوتاماتی در بافت‌های محیطی نشان دهنده نقش گسترده گلوتامات به عنوان یک انتقال دهنده عصبی است. در مورد دستگاه گوارش، مدل‌های تجربی مختلفی هر دو نوع گیرنده AMPA و NMDA بر روی نورون‌های شبکه‌های زیرمخاطی و میانتریک روده و معده را با استفاده از ایمونوهیستوشیمی فلورسنت شناسایی کرده‌اند [۲۳]. علاوه بر این، شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد دستگاه گوارش نیز توسط آکسون‌های گلوتامرژیک خارجی عصب‌دهی می‌شود. پایانه‌های گلوتامرژیک به اجسام سلول‌های عصبی در شبکه زیرمخاطی و میانتریک مربوط می‌شوند. در معده، نورون‌های گلوتاماترژیک، کولین استیل ترانسفراز را همزمان بیان می‌کنند. تصور می‌شود که نورون‌های زیرمخاطی حاوی کولین استیل ترانسفراز، نورون‌های آوران اولیه‌ای هستند که به مخاط پروجکت داده و به محرک‌های حسی در دستگاه گوارش پاسخ می‌دهند. بنابراین، برخی از نورون‌های گلوتاماترژیک روده و معده احتمالاً نورون‌های حسی هستند و گلوتامات ممکن است در انتقال اطلاعات حسی از مخاط به شبکه‌های انتریک نقش داشته باشد [۸،۲۴]. همچنین در معده، گیرنده NMDA به طور گسترده در سلول‌های مخاطی معده و سلول‌های جداری ترشح کننده اسید و به‌طور متوسط در سلول‌های ترشح کننده پپسینوژن بیان می‌شود. به‌طوری‌که مشخص شده گیرنده NMDA از طریق تنظیم گیرنده‌های H2-هیستامین به کنترل ترشح اسید معده کمک می‌کند [۲۵]. با این حال، نقش گیرنده NMDA در تنظیم ترشحات معده و فعالیت حرکتی به اندازه کافی بررسی نشده است. به طور کلی بینش‌های جدیدی برای درک نقش گیرنده NMDR در دستگاه گوارش مورد نیاز است که ممکن است امکان درمان انتخابی و هدفمند بیماری‌های معده از جمله عوارض ناشی از دیابت و انکولوژی را فراهم نماید. اهمیت تحقیقات در زمینه گیرنده گلوتامات از این جهت است که مشخص شده گیرنده‌های گلوتاماتی به ویژه NMDA ها در مکانیسم سرکوب تومور نقش دارند و ممکن است تحت تأثیر نور یا لیزر درمانی قرار گیرند [۲۶]. در مطالعه حاضر مشاهده شد که بیان پروتئین گیرنده NMDA در بافت آنتروم معده گروه دیابتی T2 نسبت به گروه کنترل به‌طور معنی‌دار افزایش یافته است. درمان با انسولین به مدت دو ماه سطح بیان این گیرنده را به طور معنی داری در مقایسه با گروه دیابت T2 کاهش داد. به نظر می‌رسد انسولین با کنترل قند خون یا مستقیماً از طریق سیگنالینگ درون سلولی باعث بهبود سطح بیان گیرنده NMDA شده و از آسیب بیشتر مرتبط با سیگنالینگ گیرنده‌های گلوتاماتی در بافت معده حیوانات دیابتی جلوگیری نماید. به طوری‌که اخیراً مطالعه‌ای نشان داده که مهار گیرنده NMDA توسط ممانتین باعث کاهش مقاومت به انسولین و استئاتوز کبدی در موش‌های چاق شده و فعالیت NMDA به مدت ۶ ماه باعث چاقی در موش‌ها گردیده که با هیپرگلیسمی، افزایش چربی خون، مقاومت به انسولین و تغییرات پاتولوژیک در کبد همراه بوده است [۲۷]. همچنین این مطالعه شواهدی را در شرایط آزمایشگاهی ارائه می‌نماید که نشان می‌دهد فعال‌سازی گیرنده NMDA سندرم متابولیک را در چاقی تسهیل می‌کند. بنابراین افزایش بیان رسپتورهای NMDA در بافت معده ممکن است به عنوان یک مارکر پیش‌بینی کننده آسیب گاستروپاتی دیابتی در نظر گرفته شود. همچنین کنترل فعالیت رسپتورهای NMDA می‌تواند از اهداف درمانی در بیماران مبتلا به گاستروپاتی دیابتی در نظر گرفته شود.

مطالعات نشان داده‌اند که گیرنده‌های NMDA از طریق فعال‌سازی کانال اختصاصی بنام Panx-1 در یک سیکل مثبت سبب رهایش گلوتامات و در نتیجه تقویت سیگنالینگ درون سلولی گلوتامات می‌شوند [۲۸]. باز شدن کانال‌های Panx-1 با رهایش ATP مرتبط است و این ATP آزاد شده از طریق Panx-1 به سرعت توسط اکتونوکلئوتیدازهای موجود در همه بافت‌ها تجزیه می‌شود و منجر به تجمع خارج سلولی آدنوزین می‌گردد که می‌تواند با فعال کردن گیرنده‌های جفت شده با پروتئین G خود، آزادسازی گلوتامات را تعدیل نماید. مطالعات تامسون و همکاران نشان داده که تقویت گیرنده‌های یونوتروپیک NMDA از طریق افزایش فعال کردن کانال‌های Panx-1 رخ می‌دهد که منجر به دپلاریزاسیون غشا سلول می‌شود [۲۹]. آزمایشات انجام شده بر سیستم عصبی مرکزی نشان داده که حیوانات با حذف Panx-1 دارای سطوح پایین خارج سلولی ATP/آدنوزین در هیپوکامپ و در نتیجه اختلال در

سیگنال‌دهی آن هستند. همچنین اخیراً مشاهده شده که تغییر در سیگنال‌دهی آدنوزین، اساس تفاوت‌های مشاهده شده در چرخه خواب و بیداری و رفتار در موش‌های فاقد Panx-1 است [۳۰]. علاوه بر ارتباط بین Panx-1 و گیرنده NMDA، یک ارتباط تقویتی بین P2X7R/ Panx-1 گزارش شده است و مشخص شده که افزایش سطح بیان پروتئین‌های P2X7R/ Panx-1 واسطه از دست دادن نورون‌های NOS در عضله صاف فوندوس معده موش‌های دیابتی است. افزایش Panx-1، که در نورون‌های میانتریک قرار دارد و به P2X7R کمک می‌کند، منجر به افزایش نفوذپذیری غشاء به ماکرومولکول‌ها و یون‌ها می‌شود. این فرآیند می‌تواند منجر به آسیب نورون NOS و اختلال آرامش در بافت معده موش‌های دیابتی گردد [۱۶]. نتایج مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار حضور پروتئین کانال Panx-1 را در بافت انتروم معده نشان داد. با توجه به نقش مثبت حضور این کانال بر فعالیت گیرنده‌های NMDA/ P2X7R و درنتیجه افزایش تحریک‌پذیری و پیشبرد فرآیندهای التهابی در بافت متأثر، این کاهش در بافت دیابتی ممکن است یک پاسخ جبرانی برای کاهش دادن افزایش فعالیت سیگنالینگ گیرنده NMDA (طبق نتایج حاضر) و احتمالاً گیرنده P2X7 باشد. درمان با انسولین سبب بهبود حضور پروتئین کانال Panx-1 و کاهش گیرنده NMDA شده که ممکن است دال بر کاهش آسیب بلند مدت ناشی از هیپرگلیسمی و دیابت T2 بر بافت معده باشد. به طوری که مطالعه‌ای گزارش داده که مهار فارماکولوژیک یا حذف ژنتیکی انتخابی Panx-1 از سلول‌های چربی، جذب گلوکز ناشی از انسولین را در شرایط آزمایشگاهی و درون تنی کاهش می‌دهد و مقاومت به انسولین ناشی از رژیم غذایی را در موش‌ها تشدید می‌کند [۳۱].

در پایان، عدم استفاده همزمان مهارکننده‌های رسپتور گلوتاماتی NMDA با درمان انسولین یا دیگر درمان‌های داروئی مانند متفورمین و بررسی نتایج آن از محدودیت‌های مطالعه حاضر می‌باشد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر کاهش معنی‌دار در محتوای پروتئینی کانال Panx-1 معده، همراه با بیان افزایش یافته گیرنده NMDA در موش‌های دیابتی را نشان داد. درمان با انسولین تا حدودی سطح پروتئین کانال Panx-1 و گیرنده NMDA را به مقادیر طبیعی در معده موش‌های دیابتی بازگرداند. یافته‌های حاضر پیشنهاد می‌کند که تعدیل بیان گیرنده NMDA و همچنین کانال Panx-1 ممکن است نقش مهمی در بهبود حرکات و ناهنجاری‌های ترشحی ناشی از دیابت مزمن در معده ایفا کند.

تشکر و قدردانی: از همه اساتیدی که در غنای مطالب حاضر یاری‌رسان بودند، نهایت تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

نقش نویسندگان: همه نویسندگان در نگارش اولیه مقاله یا بازنگری آن سهیم بودند و همه با تایید نهایی مقاله حاضر، مسئولیت دقت و صحت مطالب مندرج در آن را می پذیرند. طرح حاضر توسط دانشگاه علوم پزشکی اصفهان [شماره گرنت 198302) حمایت شده است.

تضاد منافع: نویسندگان تصریح می کنند که هیچ گونه تضاد منافعی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

منابع

1. Zavaleta MJC, Yovera JGG, Marreros DMM, Robles L del PR, Taype KRP, Gálvez KNS, et al. Diabetic gastroenteropathy: An underdiagnosed complication. World J Diabetes. 2021; 12(6):794. doi:10.4239/wjd.v12.i6.794 PMid:34168729 PMCid:PMC8192258
2. Yang X, Lou J, Shan W, Ding J, Jin Z, Hu Y, et al. Pathophysiologic Role of Neurotransmitters in Digestive Diseases. Front Physiol. 2021;12:567650 doi:10.3389/fphys.2021.567650 PMid:34194334 PMCid:PMC8236819
3. Choi WM, Kim HH, Kim MH, Cinar R, Yi HS, Eun HS, et al. Glutamate Signaling in Hepatic Stellate Cells Drives Alcoholic Steatosis. Cell Metab. 2019; 30(5): 877-889.e7. doi:10.1016/j.cmet.2019.08.001 PMid:31474565 PMCid:PMC6834910
4. Shao L, Liu Y, Xiao J, Wang Q, Liu F, Ding J. Activating metabotropic glutamate receptor-7 attenuates visceral hypersensitivity in neonatal maternally separated rats. Int J Mol Med. 2019; 43(2): 761-70.
5. Ishibashi-Shiraishi I, Shiraishi S, Fujita S, Ogawa S, Kaneko M, Suzuki M, et al. L-Arginine L-Glutamate Enhances Gastric Motor Function in Rats and Dogs and Improves Delayed Gastric Emptying in Dogs. J Pharmacol Exp Ther. 2016; 359(2): 238-46 doi:10.1124/jpet.116.234658 PMid:27535977
6. Peterlik D, Stangl C, Bauer A, Bludau A, Keller J, Grabski D, et al. Blocking metabotropic glutamate receptor subtype 5 relieves maladaptive chronic stress consequences. Brain Behav Immun. 2017; 59: 79-92. doi:10.1016/j.bbi.2016.08.007 PMid:27524668
7. Tsai LH, Lee YJ, Wu JY. Role of N-methyl-D-aspartate receptors in gastric mucosal blood flow induced by histamine. J Neurosci Res. 2004; 77 (5): 730-8. doi:10.1002/jnr.20202 PMid:15352220
8. Milusheva EA, Kuneva VI, Itzev DE, Kortezova NI, Sperlagh B, Mizhorkova ZN. Glutamate stimulation of acetylcholine release from myenteric plexus is mediated by endogenous nitric oxide. Brain Res Bull. 2005; 66(3): 229-34. doi:10.1016/j.brainresbull.2005.05.011 PMid:16023920
9. Bravo D, Zepeda-Morales K, Maturana CJ, Retamal JS, Hernández A, Pelissier T, et al. NMDA and P2X7 Receptors Require Pannexin 1 Activation to Initiate and Maintain Nociceptive Signaling in the Spinal Cord of Neuropathic Rats. Int J Mol Sci.

2022; 23(12): 6705. doi:10.3390/ijms23126705 PMid:35743148 PMCid:PMC9223805
10. Navis KE, Fan CY, Trang T, Thompson RJ, Derksen DJ. Pannexin 1 Channels as a Therapeutic Target: Structure, Inhibition, and Outlook. ACS Chem Neurosci. 2020; 11(15): 2163-72. doi:10.1021/acschemneuro.0c00333 PMid:32639715
11. Yeung AK, Patil CS, Jackson MF. Pannexin-1 in the CNS: Emerging concepts in health and disease. J Neurochem. 2020; 154(5): 468-85. doi:10.1111/jnc.15004 PMid:32162337
12. Seo JH, Dalal MS, Contreras JE. Pannexin-1 Channels as Mediators of Neuroinflammation. Int J Mol Sci. 2021;22(10):5189 doi:10.3390/ijms22105189 PMid:34068881 PMCid:PMC8156193
13. Crespo Yanguas S, Willebrords J, Johnstone SR, Maes M, Decrock E, De Bock M, et al. Pannexin1 as mediator of inflammation and cell death. Biochim Biophys Acta - Mol Cell Res. 2017; 1864(1): 51-61 doi:10.1016/j.bbamcr.2016.10.006 PMid:27741412 PMCid:PMC5693326
14. Gulbransen BD, Bashashati M, Hirota SA, Gui X, Roberts JA, MacDonald JA, et al. Activation of neuronal P2X7 receptor-pannexin-1 mediates death of enteric neurons during colitis. Nat Med. 2012; 18(4): 600-4 doi:10.1038/nm.2679 PMid:22426419 PMCid:PMC3321107
15. Diezmos EF, Markus I, Perera DS, Gan S, Zhang L, Sandow SL, et al. Blockade of Pannexin-1 Channels and Purinergic P2X7 Receptors Shows Protective Effects Against Cytokines-Induced Colitis of Human Colonic Mucosa. Front Pharmacol 2018; 9(AUG). doi:10.3389/fphar.2018.00865 PMid:30127744 PMCid:PMC6087744
16. Zhang CM, Huang X, Lu HL, Meng XM, Song NN, Chen L, et al. Diabetes-induced damage of gastric nitric oxide neurons mediated by P2X7R in diabetic mice. Eur J Pharmacol. 2019; 851: 151-60. doi:10.1016/j.ejphar.2019.02.033 PMid:30796903
17. Ying W, Zheng K, Wu Y, Wang O. Pannexin 1 Mediates Gastric Cancer Cell Epithelial-Mesenchymal Transition via Aquaporin 5. Biol Pharm Bull. 2021; 44(8): 1111-9. doi:10.1248/bpb.b21-00292 PMid:34135208
18. Wu LY, Ye ZN, Zhou CH, Wang CX, Xie G Bin, Zhang XS, et al. Roles of Pannexin-1 Channels in Inflammatory Response through the TLRs/NF-Kappa B Signaling Pathway Following Experimental Subarachnoid Hemorrhage in Rats. Front Mol Neurosci. 2017; 10. doi:10.3389/fnmol.2017.00175 PMid:28634441 PMCid:PMC5459922
19. Hernandez CA, Eliseo E, Hernandez CA, Eliseo E. The Role of Pannexin-1 Channels in HIV and NeuroHIV Pathogenesis. Cells. 2022; 11(14): 2245. doi:10.3390/cells11142245 PMid:35883688 PMCid:PMC9323506
20. Kroon C, Breuer L, Jones L, An J, Akan A, Ali EAM, et al. Blind spots on western blots: Assessment of common problems in western blot figures and methods reporting with recommendations to improve them. PLoS Biol. 2022; 20(9): e3001783. doi:10.1371/journal.pbio.3001783 PMid:36095010 PMCid:PMC9518894
21. Rezazadeh H, Sharifi MR, Sharifi M, Soltani N. Gamma-aminobutyric acid attenuates insulin resistance in type 2 diabetic patients and reduces the risk of insulin resistance in their offspring. Biomed Pharmacother. 2021; 138: 111440. doi:10.1016/j.biopha.2021.111440 PMid:33667789
22. Azpiroz F, Malagelada C. Diabetic neuropathy in the gut: pathogenesis and diagnosis. Diabetologia 2016; 59(3): 404-8 doi:10.1007/s00125-015-3831-1 PMid:26643877
23. Golovynska I, Beregova TV, Falalyeyeva TM, Stepanova LI, Golovynskyi S, Qu J, et al. Peripheral N-methyl-D-aspartate receptor localization and role in gastric acid secretion regulation: immunofluorescence and pharmacological studies. Sci Rep. 2018; 8(1). doi:10.1038/s41598-018-25753-6 PMid:29749407 PMCid:PMC5945873
24. Tsai LH, Wu JY. Glutamate receptors in the stomach and their implications. Glutamate Recept Peripher Tissue Excit Transm Outs CNS. 2005;179-90. doi:10.1007/0-306-48644-X_10 PMCid:PMC2171593
25. Golovynska I, Beregova T V., Falalyeyeva TM, Stepanova LI, Golovynskyi S, Qu J, et al. Peripheral N-methyl-D-aspartate receptor localization and role in gastric acid secretion regulation: immunofluorescence and pharmacological studies. Sci Reports. 2018; 8(1): 1-11.
26. Wu CS, Lu YJ, Li HP, Hsueh C, Lu CY, Leu YW, et al. Glutamate receptor, ionotropic, kainate 2 silencing by DNA hypermethylation possesses tumor suppressor function in gastric cancer. Int J Cancer. 2010; 126(11): 2542-52. doi:10.1002/ijc.24958 PMid:19824040
27. Huang XT, Yang JX, Wang Z, Zhang CY, Luo ZQ, Liu W, et al. Activation of N-methyl-D-aspartate receptor regulates insulin sensitivity and lipid metabolism. 2021; 11(5): 2247-62. doi:10.7150/thno.51666 PMid:33500723 PMCid:PMC7797674
28. Li S, Bjelobaba I, Stojilkovic SS. Interactions of Pannexin1 Channels with Purinergic and NMDA Receptor Channels. Biochim Biophys Acta. 2018; 1860(1):166. doi:10.1016/j.bbamem.2017.03.025 PMid:28389204 PMCid:PMC5628093
29. Thompson RJ. Pannexin channels and ischaemia. J Physiol. 2015; 593(16): 3463-70. doi:10.1113/jphysiol.2014.282426 PMid:25384783 PMCid:PMC4560578
30. Kovalzon VM, Moiseenko LS, Ambaryan AV, Kurtenbach S, Shestopalov VI, Panchin YV. Sleep-wakefulness cycle and behavior in pannexin1 knockout mice. Behav Brain Res. 2017; 318: 24-7. doi:10.1016/j.bbr.2016.10.015 PMid:27769744
31. Adamson SE, Meher AK, Chiu Y hsin, Sandilos JK, Oberholtzer NP, Walker NN, et al. Pannexin 1 is required for full activation of insulin-stimulated glucose uptake in adipocytes. Mol Metab. 2015; 4(9): 610-8. doi:10.1016/j.molmet.2015.06.009 PMid:26413467 PMCid:PMC4563021

How to Cite this Article:
Rezazadeh Mehrizi H, Soltani N, Mehranfard N, Ghasemi M. Changes in protein expression of NMDA glutamate receptor and Pannexin-1 channel in gastric antrum tissue of rats with type 2 diabetes and treated with insulin. Feyz Med Sci J. 2023;27(5): 473-480.
doi: 10.48307/FMSJ.2023.0.5.473