

Kesan *In Vitro* Rilmenidine ke atas Rembesan Insulin

ROSNANI HASHIM, TARIQ ABDUL RAZAK & SUHAIMI HASHIM

ABSTRAK

Kajian ini dijalankan untuk menentukan kesan agen antihipertensi baru, Rilmenidine, ke atas rembesan insulin secara in vitro. Kesan langsung Rilmenidine ke atas rembesan insulin rangsangan glukosa dikaji dengan menggunakan pankreas terpisah tikus. Kepekatan Rilmenidine yang dipilih adalah berdasarkan kepekatan puncak plasma yang dicapai dengan dos oral 1 mg. Pada kepekatan rendah (0.35 ng/ml), Rilmenidine memberi rangsangan rembesan insulin yang signifikan ($p < 0.01$). Walau bagaimanapun Rilmenidine menghasilkan rencatan yang rendah tetapi signifikan ($p < 0.05$) pada kepekatan 3.5 ng/ml dan rencatan yang ketara pada kepekatan yang lebih tinggi (35.0 ng/ml). Keputusan ini menunjukkan Rilmenidine mempunyai kesan rangsangan dan perencatan yang signifikan terhadap pembebasan insulin dari pankreas pada kepekatan yang berlainan.

Kata kunci: Rilmenidine, pankreas terpisah, rembesan insulin, kepekatan puncak plasma.

ABSTRACT

This study was carried out to determine the in vitro effect of a new antihypertensive drug, Rilmenidine, on insulin secretion. The direct effect of Rilmenidine on glucose-induced insulin secretion was studied using isolated rat pancreas. The concentrations of Rilmenidine used were based on the peak plasma concentration achieved with an oral dose of 1 mg. At a low concentration, Rilmenidine (0.35 ng/ml) significantly stimulated insulin secretion ($p < 0.01$). However, Rilmenidine showed a significantly weak inhibition ($p < 0.05$) at 3.5 ng/ml and a strong inhibition at a higher concentration (35.0 ng/ml). The result showed that Rilmenidine exhibited significant stimulating and inhibitory effects on insulin secretion from the pancreas at different concentrations.

Key words: Rilmenidine, isolated pancreas, insulin secretion, peak plasma concentration

PENDAHULUAN

Walaupun tekanan darah pesakit hipertensi berjaya dikawal dengan agen-agen antihipertensi, rawatannya tidak mengurangkan kematian dan morbiditi akibat penyakit koronari jantung. Salah satu kemungkinan ialah kesan agen-agen ini menghasilkan hiperglisemia, salah satu faktor risiko yang signifikan dalam kejadian penyakit koronari jantung (Fuller et al. 1983). Gangguan kepada rembesan insulin mengakibatkan keadaan yang dikenali sebagai 'paradoks penyakit arteri koronari'. Pesakit hipertensi esensial didapati lebih berisiko kepada kesan tersebut disebabkan sensitiviti pesakit hipertensi terhadap insulin adalah rendah walaupun sebelum rawatan dimulakan (Pollare et al. 1988).

Terdapat banyak laporan yang mengesahkan kebimbangan terhadap kesan metabolik agen-agen antihipertensi dalam rawatan jangka masa panjang penyakit darah tinggi. Beberapa agen antihipertensi yang digunakan didapati boleh mengakibatkan kesan hiperglisemia dengan menjejaskan rembesan insulin sebagai kesan sampingan atau kesan mudaratnya (Dornhorst et al. 1985; Pollare et al. 1989). Kesan mudarat agen antihipertensi ke atas toleran glukosa adalah kompleks. Sesetengah agen mengganggu pembebasan insulin daripada sel pankreas secara langsung, ada yang mengubah tindakan insulin ke atas tisu periferi otot rangka dan tisu adipos. Beberapa dadah antihipertensi menyebabkan diuresis mengakibatkan pembebasan katekolamin daripada medula adrenal yang boleh merencat pembebasan insulin. Ada yang bertindak mempengaruhi keluaran glukosa hati dengan mengubah tindakan glukagon ke atas hati.

Kajian ini dilakukan untuk melihat kesan sejenis agen antihipertensi baru, Rilmenidine terhadap toleran glukosa bagi memastikan sama ada ianya bersifat diabetogenik *in vitro*. Rilmenidine adalah agen terbitan oxazolin yang pertama wujud untuk kegunaan terapeutik dan berpotensi untuk digunakan sebagai salah satu dadah dalam terapi hipertensi. Ia bertindak melalui reseptor imidazolin di sistem saraf otak yang dikenali terbabit dalam penurunan tekanan darah tinggi. Rilmenidine mempunyai hubungan dengan agonis adrenergik-alfa, dan mempunyai ciri-ciri antihipertensi simpatolitik.

KAEDAH

Kaedah kajian melibatkan perfusi pankreas terpisah dengan medium sintetik dan insulin diasai daripada efluen yang dikumpulkan. Pankreas tikus albino jantan Sprague Dawley digunakan dan dipisahkan menggunakan teknik surgikal. Pankreas yang telah diasingkan diperfusi dengan larutan Krebs yang mengandungi albumin bovine (200 mg/dl) dan larutan glukosa kepekatan rendah (60 mg/dl) diikuti dengan larutan Krebs yang mengandungi glukosa berkepekatan tinggi (300 mg/dl). Larutan Krebs dibuihkan dengan campuran

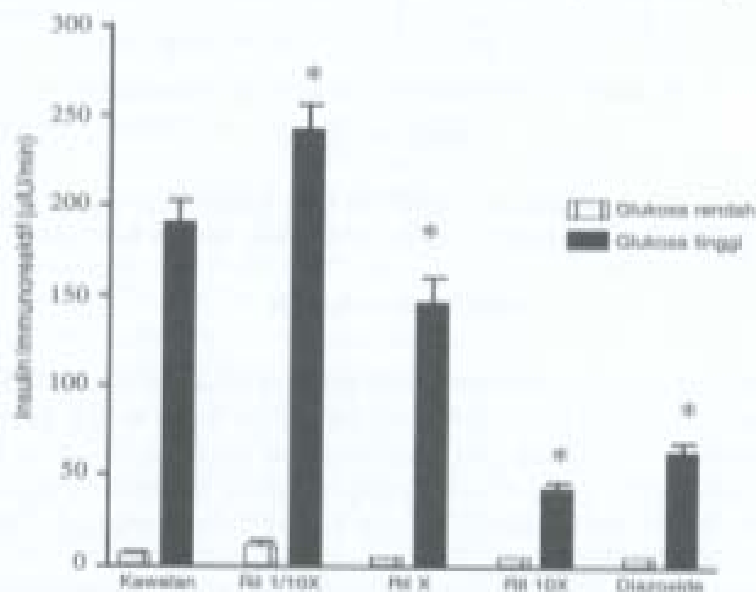
gas oksigen 95% dan karbon dioksida 5% dan dikawal pada suhu 36 – 37°C. Aliran effluen dikawal pada kadar 4 ml/minit. Sebanyak 20 sampel diambil pada jarak masa yang sama dan sampel dikumpul selama 15 saat pada permulaan tiap-tiap satu minit menggunakan tiub appendof.

Kepekatan Rilmenidine yang dipilih adalah berpandukan kepekatan aras puncak plasma (~3.5 ng/ml) yang dicapai dengan dos oral standard 1 mg (Gennisel & Bromet 1989). Kepekatan ubat yang diuji adalah 1/10 kepekatan puncak plasma (0.35 ng/ml), kepekatan aras puncak plasma dan 10 kali kepekatan puncak plasma (35.0 ng/ml). Diazoxide yang merupakan perencat rembesan insulin yang kuat digunakan sebagai kawalan positif. Analisis insulin immunoaktif dibuat dengan menggunakan prosedur Coat-A-Count Kit (Diagnostic Product Corporation, USA). Kaedah radioimmunoasai ini digunakan untuk menyukat kuantiti insulin dalam larutan perfusi. Pengiraan dibuat menggunakan kaunter gamma.

Analisis statistik dibuat dengan menggunakan ujian Mann Whitney U pada aras keyakinan $p = 0.05$.

HASIL

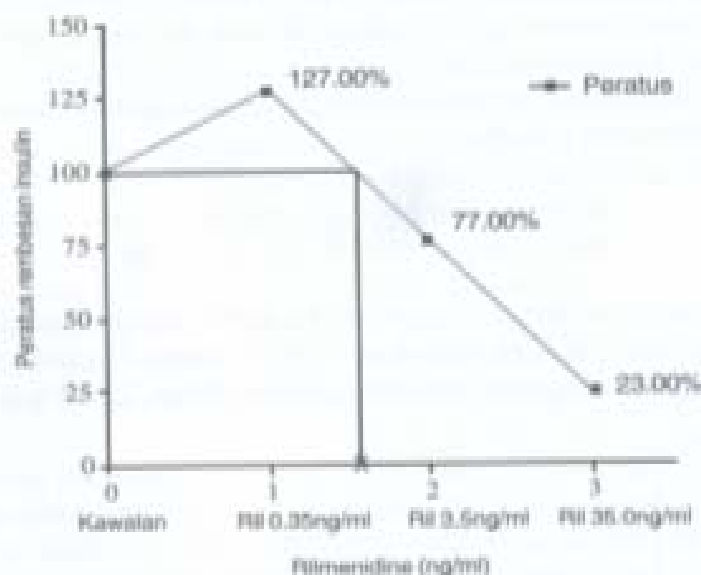
Keputusan yang diperolehi menggambarkan respon pembebasan insulin hasil rangsangan glukosa. Kadar rembesan insulin daripada pankreas terpisah didapati meningkat dengan peningkatan glukosa. Rajah 1 menunjukkan kesan



RAJAH 1. Respons pembebasan insulin tisu pankreas terpisah terhadap rangsangan glukos kepekatan rendah (60 mg/dl) dan tinggi (300 mg/dl) bagi Rilmenidine dan Diazoxide berbanding kawalan (* $p < 0.05$)

hubungan respon dos Rilmenidine pada kepekatan 0,35 ng/ml, 3,5 ng/ml dan 35,0 ng/ml yang dirangsang dengan glukosa kepekatan rendah (3,3 mM) dan tinggi (16,7 mM) berbanding dengan kawalan dan kawalan positif, diazoxide.

Rilmenidine pada kepekatan 1/10 puncak plasma menunjukkan peningkatan rembesan insulin sebanyak 27% berbanding kawalan (Rajah 2). Pada kepekatan yang bersamaan dengan puncak plasma, terdapat rencatan rembesan insulin pada kadar yang rendah tetapi signifikan ($p < 0.05$). Rembesan insulin pada kepekatan ini adalah 77% iaitu perencatan sebanyak 23%. Rilmenidine pada kepekatan 10 kali ganda paras puncak plasma menunjukkan perencatan sama seperti yang dilihat dari kesan Diazoxide 10 ug/L. Jumlah insulin yang dirembeskan hanyalah 23.0% berbanding dengan kawalan.



RAJAH 2. Jumlah pembebasan insulin (%) bagi Rilmenidine pada kepekatan 0,35ng/ml, 3,5ng/ml, 35ng/ml berbanding dengan kawalan

PERBINCANGAN

Kajian ini dilakukan secara *in vitro* untuk melihat kesan langsung Rilmenidine ke atas proses rembesan insulin. Kajian secara ini lebih sesuai kerana kesan rembesan boleh dilihat tanpa gangguan hormon atau faktor-faktor lain yang terdapat dalam tubuh yang boleh mempengaruhi keputusan kajian. Hasil keputusan *in vitro* boleh dijadikan sebagai model untuk mengkaji respon ujian dadah secara *in vivo*.

Hasil kajian menunjukkan terdapat perbezaan kesan Rilmenidine ke atas rembesan insulin pada kepekatan yang berlainan. Keputusan yang diperolehi boleh dijelaskan melalui peranan reseptor. Rilmenidine adalah agen yang

pertama dengan struktur oxazolin dan didapati mempunyai selektiviti yang lebih cenderung bertindak pada tapak reseptor imidazolin. Reseptor ini adalah subjenis adrenoceptor- α_2 . Rilmenidine didapati mempunyai selektiviti 2.5 hingga 3 kali ganda lebih pada tapak imidazolin daripada adrenoceptor- α_1 (Coupry et al. 1989). Kesan rangsangan rembesan insulin pada tapak reseptor imidazolin telah dilaporkan oleh Chan dan Morgan (1990). Sebaliknya rangsangan adrenoceptor- α_1 merencat rembesan insulin secara *in vitro* (Hallaire-Buys et al. 1985).

Keputusan yang diperolehi mengesyorkan bahawa pada dos terapeutik yang rendah iaitu dos yang mencapai puncak plasma kurang dari 1.75 ng/ml, tindakan Rilmenidine adalah ke atas reseptor imidazolin di sel islet beta. Hasilnya adalah rangsangan kepada rembesan insulin. Beberapa kajian telah dibuat bagi mentakrifkan peranan tapak pengikat imidazolin. Ianya dipostulatkan terlibat dalam pengawalan neurotransmitter dan kawalan ketelapan membran K^+ (Chan et al. 1991). Kajian tersebut mengesyorkan imidazolin merangsang rembesan insulin dengan cara penutupan terusan K^+ sensitif-ATP pada membran sel islet beta. Pada dos puncak plasma dan sederhana tinggi, rilmenidine menunjukkan aktiviti adrenoceptor- α_1 yang minima. Pada dos yang tinggi, kesan Rilmenidine ke atas reseptor α_1 adalah lebih dominan dan berpengaruh mengurangkan keupayaan pankreas merembeskan insulin. Seperti yang dilihat dalam kajian ini, kesan rangsangan Rilmenidine diambil alih oleh kesan rencatan.

Kesan rencatan adrenoceptor α_1 telah didokumentasi. Walau bagaimanapun, asas biokimia rencatan adrenergik masih tidak jelas. Seperti yang dicadangkan, aktiviti saraf simpatetik mungkin menjejaskan respons rembesan insulin terhadap glukosa. Rangsangan reseptor α_1 oleh noradrenalin menghasilkan repolarisasi semula membran, menghasilkan pengurangan kepekatan Ca^{2+} dan rencatan rembesan insulin. Diazoxide yang digunakan sebagai kawalan positif adalah asai perbandingan yang baik bagi menentukan keberkesanan tindakbalas Rilmenidine pada sel islet pankreas terpisah. Diazoxide bertindak merencat rembesan insulin hasil cetusan glukosa dengan membuka terusan K^+ -ATP. Ini menghasilkan hiperpolarisasi sel dan penutupan terusan Ca^{2+} dan seterusnya pengurangan kadar rembesan insulin. Agen-agen dengan struktur imidazolin telah dilaporkan dapat mengatasi kesan rencatan Diazoxide ke atas rembesan insulin cetusan glukosa (Dunne 1991).

Kajian klinikal yang telah dilakukan oleh Mpoy et al. (1988) dan Lambert et al. (1989) menunjukkan Rilmenidine pada dos terapeutik didapati berkesan dan selamat digunakan dalam rawatan hipertensi ringan dan sederhana bagi pesakit yang dirawat dengan insulin. Rilmenidine didapati tidak memberi apa-apa kesan sampingan sama ada pada pengawalan glukosa darah atau keperluan insulin bagi pesakit-pesakit dalam kajian.

KESIMPULAN

Berasarkan keputusan ini Rilmenidine didapati mampu merangsang rembesan insulin pada dos rendah. Kesan negatifnya hanya akan terhasil pada dos yang tinggi. Rilmenidine pada kepekatan yang tinggi menunjukkan sifat perencanaan ke atas rembesan insulin dan boleh mempengaruhi metabolisme glukosa darah. Ini menunjukkan Rilmenidine mempengaruhi sel beta pankreas secara langsung. Penemuan ini adalah mustahak khususnya bagi pesakit hipertensi yang mengalami diabetes. Pemonitoran dan pengawalan glukosa adalah perlu pada dos terapeutik dengan kepekatan aras plasma yang tinggi.

PENGHARGAAN

Kajian ini adalah di bawah biayaan peruntukan geran UKM F21/95 dan sumbangan kewangan geran luar D5/96

RUJUKAN

- Chan, S. L. F. & Morgan, N. G. 1990. Stimulation of insulin secretion by efaroxan may involve interaction with potassium channels. *Eur. J. Pharmacol.* 176: 97-101.
- Chan, S. L., Dunne, M. J., Stillings, M. R. & Morgan, N. G. 1991. The α_1 -adrenoceptor antagonist efaroxan modulates K⁺ATP channels in insulin secreting cells. *Eur. J. Pharmacol.* 204: 41-48.
- Coupry, L., Lachaud, V., Podevin, R. A., Koenig, E. & Parini, A. 1989. Different affinities of α_1 agonist for imidazoline and α_1 adrenergic receptors. *Am. J. Hypertens.* 2: 468-470.
- Dornhorst, A., Powell, S. H. & Pensky, J. 1985. Aggravation by propranolol of hyperglycemia effect of hydrochlorothiazide in type II diabetics without alteration of insulin secretion. *Lancet* 1: 123-126.
- Dunne, M. J. 1991. Block of ATP-regulated potassium channels by phentolamine and other α_1 -adrenoceptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.* 103: 1847-1850.
- Fuller, J. H., Shipley, M. J., Rose, G., Jarrett, R. J. & Keen, H. 1983. Mortality from coronary heart disease and stroke in relation to degree of glycaemia: The Whitehall Study. *Br. Med. J.* 287: 867-870.
- Gennisel, P. & Bromet, N. 1989. Pharmacokinetics of rilmenidine. *Am. J. Med.* 87(suppl 3C): 18S-23S.
- Hallaire-Buys, D., Gross, R., Blayac, J. P., Ribes, G. & Mariani, M. M. L. 1985. Effects of α_1 -adrenoceptor agonists and antagonist on insulin secreting cells and pancreatic blood vessels: comparative study. *Eur. J. Pharmacol.* 117: 253-257.
- Lambert A. E., Mpoy, M., Vandeleene, B. & Ketelslegers, J. M. 1989. Treatment of hypertension in diabetic patients. *Am. J. Med.* 87 (Suppl 3C): 30S-33S.
- Mpoy, M., Vandeleene, B., Ketelslegers, J. M. & Lambert, A. E. 1988. Treatment of systemic hypertension in insulin treated diabetes mellitus with rilmenidine. *Am. J. Cardiol.* 61: 91D-94D.

- Pollare, T., Lithell, H., Selinus, I. & Berne, C. 1988. Application of prazosin is associated with an increase of insulin sensitivity in obese patients with hypertension. *N. Eng. J. Med.* 321: 868-873.
- Pollare, T., Lithell, H. & Berne, C. 1989. A comparison of the effects of hydrochlorothiazide and captopril on glucose and lipid metabolism in patients with hypertension. *N. Eng. J. Med.* 321: 868-873.

Rosnani Hashim
Jabatan Farmasi
Fakulti Sains Kesihatan Bersekutu
Universiti Kebangsaan Malaysia
50300 Jalan Raja Muda Abdul Aziz
Kuala Lumpur
Malaysia

Tariq Abdul Razak
Suhaimi Hashim
Kulliyah Farmasi
Universiti Islam Antarabangsa Malaysia
15710 Kuantan, Pahang Darul Makmur
Malaysia