

اثر عصاره‌ی آبی - الکلی غازیاقی بر بافت پانکراس در موش صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

زینب رفیعی^۱، فرامرز جلیلی^۱، مریم سهرابی^۲، دکتر محمدرضا سلحشور^۲، دکتر سیروس جلیلی^۲

(۱) کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، (۲) مرکز تحقیقات باروری و ناباروری، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران، نشانی مکاتبه‌ی نویسنده مسئول: کرمانشاه، سرخه لیژه، بلوار پرستار دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات باروری و ناباروری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دکتر سیروس جلیلی؛ e-mail: cjalili@yahoo.com

چکیده

مقدمه: بیماری مزمن دیابت، سومین علت مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه است. هایپرگلیسمی و استرس اکسیداتیو به عنوان اصلی‌ترین عوامل موثر در پاتوژنز دیابت شناخته شده‌اند؛ هم‌چنین سیستم آنتی‌اکسیدانی اولین خط دفاعی بدن در برابر استرس اکسیداتیو است. از طرفی، گیاه غازیاقی (*Falcaria vulgaris*) دارای ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی و کاهنده‌ی گلوکز خون است. در این مطالعه، اثرات دزهای مختلف (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) گیاه غازیاقی بر تغییرات بافتی جزایر لانگرهانس، میزان هورمون انسولین، نیتریک اکساید و گلوکز خون بررسی شد. مواد و روش‌ها: ۶۴ سر موش صحرایی نر به ۸ گروه، شامل گروه‌های کنترل، دیابتی شده به وسیله STZ و دریافت‌کننده‌ی دزهای مختلف غازیاقی (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده دزهای مختلف غازیاقی (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) تقسیم شدند. تحلیل داده‌ها به روش One-Way ANOVA انجام شد و $P < 0/05$ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. یافته‌ها: عصاره‌ی گیاه غازیاقی (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث کاهش معنی‌دار سطح گلوکز خون ($P < 0/01$) و بهبود قطر جزایر در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره نسبت به گروه دیابتی شد ($P < 0/05$). هم‌چنین دز ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم به طور معنی‌داری باعث بهبود سطح انسولین سرم ($P < 0/01$)، کاهش سطح نیتریک اکساید ($P < 0/01$)، افزایش وزن رت‌ها ($P < 0/01$) و تعداد جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره شد ($P < 0/05$). این تغییرات هم راستای مطالعات هیستوپاتولوژی بود. نتیجه‌گیری: گیاه غازیاقی احتمالاً از طریق کاهش تولید نیتریک اکساید و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو به بافت پانکراس، می‌تواند موجب افزایش ترشح انسولین و بهبود غلظت گلوکز سرم در مدل حیوانی دیابت القاء شده با STZ شود.

واژگان کلیدی: گیاه غازیاقی، دیابت، پانکراس، هایپرگلیسمی، موش صحرایی

دریافت مقاله: ۹۵/۱۲/۱۴ - دریافت اصلاحیه: ۹۶/۳/۲۳ - پذیرش مقاله: ۹۶/۳/۲۷

مقدمه

دیابت شیرین (Diabetes mellitus)، یکی از بیماری‌های متابولیک است که در آن سطوح بالای از گلوکز خون طی یک دوره‌ی طولانی در فرد مشاهده می‌شود. در این بیماری، توانایی تولید انسولین در بدن از بین می‌رود و یا بدن در مقابل انسولین مقاوم می‌شود و انسولین تولیدی نمی‌تواند عملکرد طبیعی خود را انجام دهد.^۱

نتایج مطالعات هیستوپاتولوژی از جزایر لانگرهانس رت نشان می‌دهد که ۷-۴ روز بعد از القای دیابت، کاهش در تعداد سلول‌های بتای تولیدکننده انسولین، نکروز و افزایش

سلول‌های آلفا مشاهده می‌شود که منجر به افزایش گلوکز خون می‌شوند.^۲ بیماران دیابتی، دچار هایپرگلیسمی مداوم هستند که فاکتور مهم دیابتوزنیک است و با افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده به وسیله‌ی اکسایش گلوکز همراه است.^۳ اگرچه مکانیسم‌های دقیق بیماری دیابت شیرین به خوبی شناخته نشده است، اما افزایش ساخت رادیکال‌های آزاد از مکانیسم‌های آسیب رسان این بیماری محسوب می‌شود.^۴ WHO (سازمان بهداشت جهانی)، استفاده از عوامل گیاهی در کنترل دیابت و هدایت تحقیقات در این راستا را به عنوان یک الزام اعلام کرده است.^۵ ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به واسطه داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی

قادرند رادیکال‌های آزاد موجود در محیط را خنثی و از اثرات مخرب آن‌ها جلوگیری کنند. ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها می‌توانند سلول را در برابر تخلیه‌ی گلوکاتانیون احیا کرده و با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی از آن‌ها محافظت کنند.^۶

گیاه *Falcaria Vulgaris* با نام محلی *Paghaza* و نام فارسی غازیاقی از خانواده چتریان،^۷ در طب سنتی در درمان زخم‌های پوستی و معده، بیماری‌های کبد، سنگ کلیه و کیسه صفرا، تصفیه خون و افزایش شیر مادر استفاده می‌شود.^۸ وجود تانن، ساپونین و ترکیبات موجود در این گیاه دارای خاصیت کاهندگی گلوکز خون هستند.^{۹،۱۰} افزایش گلوکز خون و استرس اکسیداتیو در پاتوژنز دیابت ذکر شده است که هر دو در تعامل با یکدیگر هستند. ماده‌ی ساپونین که در بسیاری از گیاهان و ترکیبات طبیعی یافت می‌شود، به دلیل داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌گلیسمیک، توانایی درمان دیابت را دارد.^{۱۱} تانن‌ها که به طور پراکنده در بسیاری از گیاهان وجود دارند، منجر به کاهش جذب ویتامین‌ها و مواد معدنی می‌شوند. این ترکیبات، گروه منحصر به فردی از متابولیت‌های فنولیک هستند که توانایی ترکیب شدن با کربوهیدرات‌ها و پروتئین‌ها را دارند. نتایج مطالعات اخیر نشان داده‌اند که تانن دارای اثرات بیولوژیک قابل توجهی مانند خاصیت آنتی‌اکسیدانی و از بین بردن رادیکال‌های آزاد است، همچنین خواص مهار لیپید پراکسیداسیونی و لیپواکسیژناز و ضد دیابتیک آن ثابت شده است.^{۱۲} همان‌گونه که عنوان شد، دیابت در حال شیوع فزاینده‌ای است و اثرات مخربی بر روی سیستم درون‌ریز پانکراس دارد. با وجود این که این گیاه به طور گسترده‌ای در غرب کشور مورد استفاده قرار می‌گیرد، ماهیت عمل عصاره‌ی آن بر بافت پانکراس افراد دیابتی در ابهام قرار دارد، در نتیجه تحقیقات بیشتر در این زمینه ضروری است. لذا این مطالعه به منظور بررسی اثر غازیاقی بر تغییرات پارامترهای بیوشیمیایی و ساختار بافت پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها

گیاه غازیاقی (*Falcaria vulgaris*) از فروشگاه محلی خریداری شد. پس از تایید توسط گیاه‌شناس، در سایه خشک شد و عصاره‌ی هیدروالکلی آن به روش پراکولاسیون گرفته شد. در این روش، برگ‌های تازه‌ی گیاه چند روزی در سایه و هوای معمولی قرار گرفت و کاملاً خشک شد. برگ‌های

خشک شده‌ی گیاه با آسیاب برقی پودر شدند. ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به ۵۰ گرم از پودر گیاه اضافه شد و به مدت ۲۴ ساعت با همزن مغناطیسی در محیط آزمایشگاه کاملاً مخلوط شد. سپس محلول حاصل، از کاغذ صافی عبور داده شد و پس از آن به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت تا خشک شود. پودر خشک شده، وزن شد و در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. با توجه به مطالعات قبلی، دزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم انتخاب شدند.^{۱۳}

در این مطالعه، از ۶۴ سر موش صحرایی نر جوان نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۳ هفته و میانگین وزنی ۲۲۰ تا ۲۵۰ گرم که از موسسه رازی تهران خریداری شدند، استفاده شد. حیوانات در دمای ۲۲±۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و دوره‌ی نور-تاریکی ۱۲ ساعته در قفس مخصوص نگهداری شدند و دسترسی آزاد به آب و غذا داشتند. در تمامی مراحل آزمایش، اصول اخلاقی کار با حیوانات رعایت شد. حیوانات به طور تصادفی به ۸ گروه مطالعاتی شامل گروه کنترل، گروه دیابتی به دنبال دریافت ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم استرپتوزوتوسین، گروه‌های دریافت‌کننده غازیاقی با دزهای ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه‌های دیابتی تیمار شده با سه دز ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره غازیاقی تقسیم شدند. در تمامی گروه‌های کنترل و آزمایش، تعداد نهایی حیوانات در هر قفس (۸=تعداد) مساوی بود. تزریق‌ها در ساعت ۱۰ صبح انجام شد. همه حیوانات گروه کنترل، حلال عصاره (آب مقطر) را با دوز ۵۰ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن دریافت کردند. کد کمیته‌ی اخلاق مطالعه‌ی حاضر kums.rec.1359.194 بود.

برای ایجاد دیابت از استرپتوزوتوسین استفاده شد. دز داروی به کار برده شده برای دیابتی کردن موش‌های صحرایی ۵۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود که پس از حل کردن در بافر سیترات ۰/۱ مولار سرد به صورت داخل صفاقی و تک دوز به گروه‌های دیابتی تزریق شد.^{۱۴} پس از تهیه‌ی نمونه‌ی خون وریدی از دم حیوانات، میزان گلوکز خون با استفاده از دستگاه آنالیز خودکار (glucometer Roche Company Accue Chech) اندازه‌گیری شد. نوار تست دستگاه را مستقیم در تماس با قطره خون قرار دادیم، بعد از چند ثانیه، مقدار گلوکز خون روی صفحه نمایش دستگاه بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر نمایان شد. گلوکز

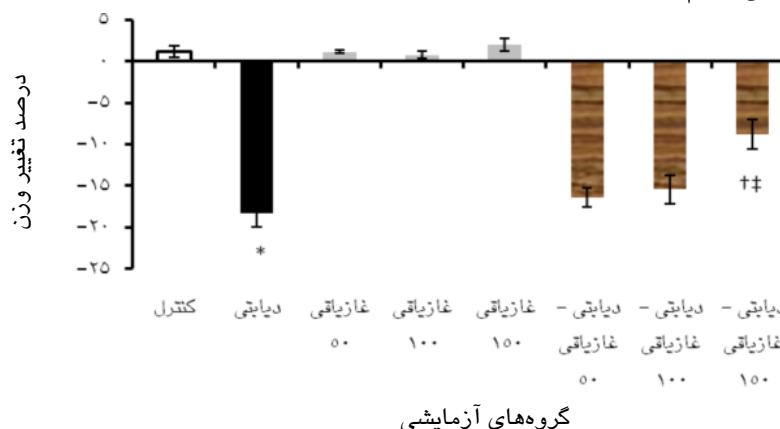
آماده‌سازی بافت‌ها بر اساس روش متداول بافت‌شناسی توسط دستگاه آماده‌سازی بافت (Automatic Tissue Processor) از شرکت Scilab انگلستان صورت گرفت.^{۱۷} پس از قالب‌گیری هر نمونه، برش‌های سریالی از قالب مورد نظر تهیه شد و از بین مقاطع تهیه شده، حدود ۱۰ عدد رنگ‌آمیزی شدند، به طوری که از پانکراس هر موش حدود ۱۰ لام تهیه شد.

جهت مطالعه‌ی هیستوپاتولوژیک، پس از پاساژ و برش بافت پانکراس‌های جدا شده از موش‌های صحرایی، اسلایدهای میکروسکوپی با استفاده از آلدهید فوشین گومری تغییر یافته رنگ‌آمیزی شدند. سپس با استفاده از میکروسکوپ (Microscope, nikon) مجهز به دوربین و نرم‌افزار Motic (motacam 5000) از جزایر عکس گرفته شد و تغییرات بافتی مورد بررسی قرار گرفتند.

برای تحلیل آماری از برنامه‌ی نرم‌افزاری SPSS (نسخه‌ی ۱۶) استفاده شد و داده‌های کمی با روش آماری ANOVA دو طرفه (متغیرها شامل گروه‌های کنترل و دیابتی از یک طرف و دز غازیاقی از طرف دیگر بود) و تست تعقیبی TUKEY مقایسه شدند. $P < 0.05$ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

اندازه‌گیری وزن رت‌ها نشان داد که STZ باعث کاهش وزن شده است ($P < 0.01$)؛ از طرفی تجویز دز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم غازیاقی این کاهش وزن را به طور معنی‌داری جبران کرد و وزن رت‌ها به حالت طبیعی نزدیک شد ($P < 0.01$) (نمودار ۱).



نمودار ۱- تاثیر غلظت‌های مختلف غازیاقی بر درصد تغییر وزن حیوانات (بعد از مطالعه نسبت به قبل از مطالعه) در گروه‌های مورد مطالعه. هرستون نشان‌دهنده‌ی میانگین $\pm$ انحراف معیار است. در گروه دیابتی کاهش وزن معنی‌داری نسبت به گروه کنترل وجود داشت ($P < 0.01$). تفاوت بین گروه‌های ۱۵۰ با گروه‌های ۱۰۰ و ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نیز معنی‌دار

خون بالاتر از ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر ملاک دیابتی شدن در نظر گرفته شد.

به منظور مشخص شدن اثرات دیابت بر بافت پانکراس، پس از القای دیابت، گروه‌های مورد مطالعه به مدت ۴ هفته متمادی پشت سرهم، هر روز دزهای متفاوت (۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از عصاره را به صورت گاواژ دریافت کردند.

در ابتدا و انتهای آزمایش، وزن همه حیوانات اندازه‌گیری و ثبت شد. در روز بعد از آخرین تزریق، موش‌های مربوط به هر گروه توسط کتامین و زایلازین بیهوش شدند.^{۱۸} پوست ناحیه‌ی قفسه سینه رت‌های بیهوش باز شد و از قلب آن‌ها خون گرفته شد. پانکراس رت‌ها جهت مطالعات بافت‌شناسی در فیکساتیو (فرمالین ۱۰٪) نگهداری شد. نمونه‌های خون گروه‌های مختلف به مدت ۱۵ دقیقه در ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شدند، سپس سرم‌های جدا شده از آن‌ها به میکروتیوپ‌های جدید منتقل و در ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

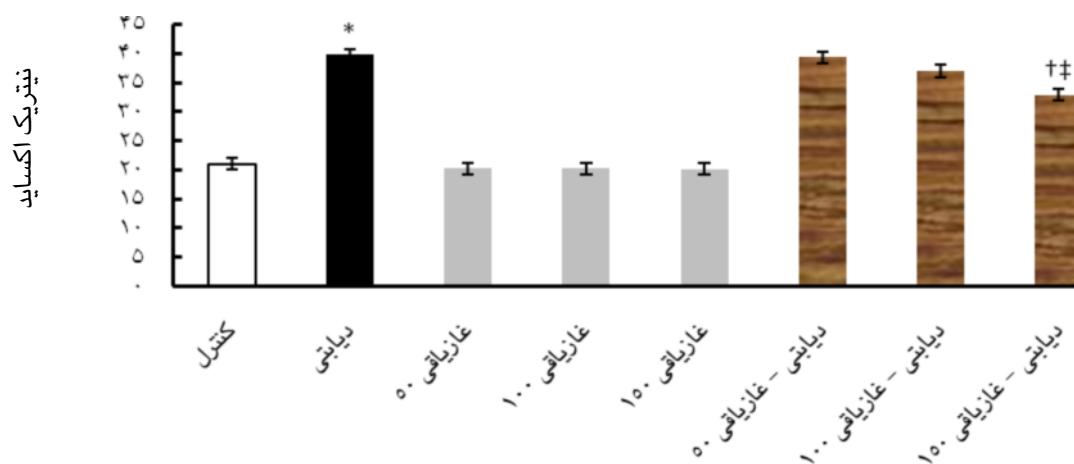
سطح هورمون انسولین در نمونه‌های فریز شده به وسیله‌ی کیت الایزا (Monobind, USA) و طبق پروتکل آن توسط دستگاه ELISA reader (شرکت awareness آمریکا) محاسبه شد.

میزان نیتریک اکساید به طور غیرمستقیم از طریق اندازه‌گیری متابولیت‌های پایدار آن یعنی نیتريت کل (NO_x) اندازه‌گیری شد. بین تولید نیتریک اکساید در بدن و سطح نیترات و نیتريت کل (NO_x) در سرم و ادرار همبستگی بالایی وجود دارد. سنجش نیتریک اکساید به وسیله واکنش گریس و با روش میکروپلیتی انجام شد.^{۱۹}

($P < 0.01$)[†] بود. علی‌رغم افزایش وزن در گروه‌های دیابتی تیمار شده با عصاره، تنها با دز ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم این تغییر معنی‌دار بود ($P < 0.01$)[†].

عصاره‌ی غازیایی در دز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، سطح NO سرم به طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی کاهش یافته است (نمودار ۲) ($P < 0.05$).

نتایج حاصل از بررسی تغییرات سطح نیتریک اکساید نشان داد که در گروه‌های دیابتی، میزان NO به طور معنی‌داری افزایش یافته است و در گروه‌های تیمار شده با



گروه‌های آزمایشی

نمودار ۲- سطح سرمی نیتریک اکساید در گروه‌های دیابتی و گروه‌های دیابتی دریافت‌کننده دوزهای مختلف غازیایی هر ستون نشان‌دهنده‌ی میانگین ± انحراف معیار است. در گروه دیابتی میزان نیتریک اکساید به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش یافته بود ($P < 0.01$)^{*}. تفاوت بین گروه‌های ۱۵۰ و ۱۰۰ با گروه ۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم نیز معنی‌دار ($P < 0.01$)[†] بود. علی‌رغم کاهش نیتریک اکساید در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره، تنها با دز ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم این کاهش معنی‌دار بود ($P < 0.01$)[†].

کاهش یافت. همچنین میزان گلوکز خون نهایی سرم در گروه دیابتی به طور معنی‌داری کاهش یافت ($8 \pm 1/516$) ($P < 0.001$) (جدول ۱).

میزان گلوکز خون در گروه‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری داشت ($2/58 \pm 1/5$). پس از تیمار با عصاره در دزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، گلوکز خون (به ترتیب $249 \pm 1/7$ و $275/88 \pm 2/1$) به طور معنی‌داری

جدول ۱- تغییرات فاکتورهای مختلف اندازه‌گیری شده

گروه‌های مطالعاتی	کنترل	دیابتی	غازیایی ۵۰	غازیایی ۱۰۰	غازیایی ۱۵۰	دیابتی + غازیایی ۵۰	دیابتی + غازیایی ۱۰۰	دیابتی + غازیایی ۱۵۰
قطر جزایر (میکرومتر)	۱۹۵/۱۶ ± ۲/۱	۶۲/۲۴ ± ۱/۱*	۱۹۶/۷۶ ± ۲/۵*	۱۹۹/۲۱ ± ۲/۲	۲۰۰/۷۲ ± ۱/۵	۶۸/۲۹ ± ۱/۳	۱۰۸/۵۵ ± ۶/۷†	۱۵۰/۴۴ ± ۴/۸†
تعداد جزایر	۵/۵ ± ۰/۲	۱/۲۵ ± ۰/۲	۵/۳۷ ± ۰/۲†	۵/۵ ± ۰/۱	۱/۲۵ ± ۰/۲	۱/۲۵ ± ۰/۲	۱/۷۵ ± ۰/۱	۲/۳۷ ± ۰/۱*
انسولین سرم (نانوگرم بر میلی‌لیتر)	۱۰/۲۸ ± ۰/۴	۲/۸ ± ۰/۳†	۱۰/۶۱ ± ۰/۳†	۱۱/۱۸ ± ۰/۵	۲/۸۵ ± ۰/۲	۲/۸۵ ± ۰/۲	۳/۵۴ ± ۰/۳	۹/۹۶ ± ۰/۴
گلوکز خون روز اول مطالعه (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۵۵/۲۸ ± ۱/۶	۵۳۸/۵ ± ۲/۱†	۸۷/۳۷ ± ۱/۴†	۸۸ ± ۱/۶	۸۹ ± ۱/۱	۵۳۲ ± ۱/۹	۵۳۰/۶۲ ± ۱/۹	۵۰۸/۶۲ ± ۲/۱
گلوکز خون بعد از تیمار با عصاره (میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر)	۸۸ ± ۱/۷	۵۱۶ ± ۱/۸†	۸۷/۵ ± ۱/۱†	۸۸ ± ۱/۶†	۸۹ ± ۱/۱	۵۰۴/۸۸ ± ۲/۶	۳۷۵/۸۸ ± ۲/۱	۲۴۹ ± ۱/۷

مقایسه‌ی گروه دیابتی با گروه کنترل و مقایسه سایر گروه‌ها با گروه دیابتی ($P < 0.05$)^{*} و ($P < 0.01$)[†]، مقادیر به صورت میانگین ± انحراف معیار برای ۶ سر حیوان نمایش داده شده است.

انسولین سرم به طور معنی‌داری ($P < 0.001$) افزایش یافت ($4/95 \pm 0/2$) (جدول ۱).

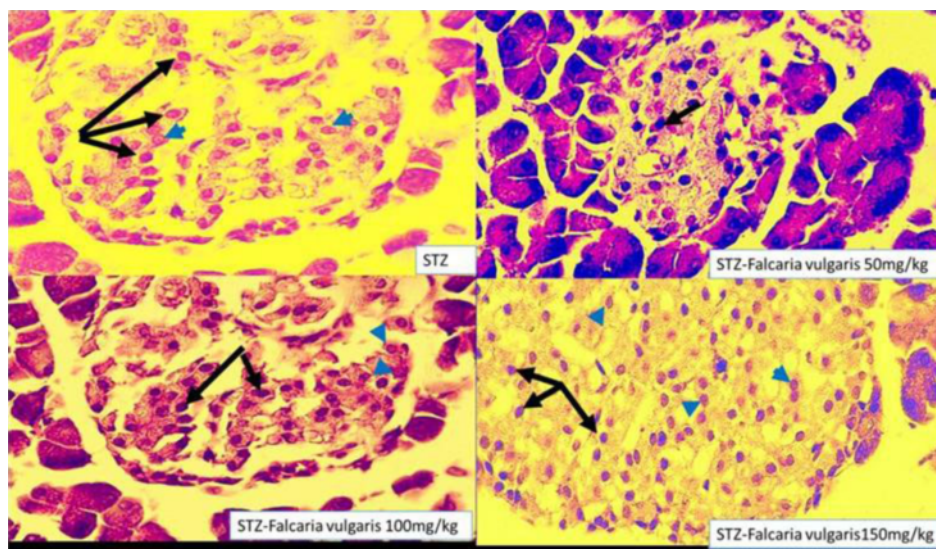
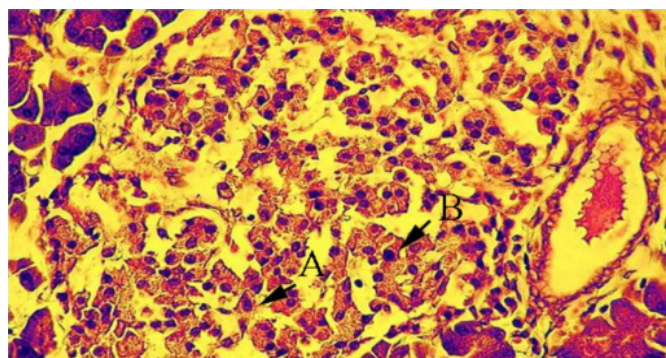
نتایج نشان داد که تجویز STZ منجر به کاهش سطح انسولین سرم شد ($2/8 \pm 0/2$) و در گروه‌های دیابتی تیمار شده با عصاره در دز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میزان

($P < 0.05$)، ($P < 0.01$)، نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت (جدول ۱).

شکل ۱ جزایر لانگرهانس را در گروه کنترل نشان می‌دهد. سلول‌های آلفا با رنگ‌آمیزی آلدئید فوشین به رنگ آبی کم‌رنگ (A) و سلول‌های بتا به رنگ آبی تیره (B) دیده می‌شوند. در گروه دیابتی، عمده‌ی سلول‌های بتا در جزایر لانگرهانس به دلیل تزریق STZ از بین رفتند و سلول‌های آلفا بیشترین تعداد را در گروه دیابتی داشتند. در گروه‌های دیابتی تیمار شده با عصاره، تنها در دز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، تعداد جزایر و سلول‌های بتا افزایش پیدا کردند.

تجویز STZ منجر به کاهش قطر جزایر شد (۶۲/۲۴±۱/۱)، به طوری که در گروه‌های دیابتی تیمار شده با عصاره در دزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، میزان قطر جزایر به طور معنی‌داری ($P < 0.05$) نسبت به گروه دیابتی افزایش یافت (۱۵۰/۴۴±۴/۸ و ۱۰۸/۵۵±۶/۷) (جدول ۱).

نتایج نشان داد که تجویز STZ، منجر به کاهش معنی‌دار تعداد جزایر لانگرهانس نسبت به گروه کنترل (۱/۲۵±۰/۱) شد و در گروه‌های دیابتی تیمار شده با دز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره، تعداد جزایر لانگرهانس به طور معنی‌داری



شکل ۱- برش‌های بافت پانکراس (رنگ‌آمیزی آلدئید فوشین، بزرگنمایی ۴۰×) کنترل: پانکراس موش‌های گروه کنترل دارای جزایر لانگرهانس با نمای طبیعی هستند. سلول‌های بتا (A) و سلول‌های آلفا (B). دیابتی: جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی، که کاهش در تعداد سلول‌های بتا مشاهده می‌شود. در دو گروه STZ-Falcaria Vulgaris 50mg/kg (گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه غازیایی با دز ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و STZ-Falcaria Vulgaris 100mg/kg (گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه غازیایی با دز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در تعداد سلول‌های بتا کاهش یافته است. در گروه STZ-Falcaria Vulgaris 150mg/kg (گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه غازیایی با دز ۱۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) نمای جزیره لانگرهانس، تعداد جزایر و تعداد سلول‌های بتا طبیعی بودند. فلش‌های بلند سلول‌های بتا و فلش‌های کوتاه سلول‌های آلفا را در جزایر لانگرهانس نشان می‌دهند.

بحث

در مطالعه‌ی حاضر مشاهده شد که دوزهای بالای عصاره‌ی گیاه غازیایی موجب کاهش گلوکز خون در موش‌های صحرایی دیابتی شده می‌شوند و همچنین سطح انسولین سرم را بهبود می‌بخشند. عامل کاهش گلوکز خون در عصاره‌ی این گیاه را می‌توان به وجود تانن، ساپونین، کارواکرول و ترکیبات دیگر موجود در آن نسبت داد. در این راستا، پتلⁱ و همکارانش نشان دادند که تجویز خوراکی عصاره‌ی ساپونین با دزهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب کاهش گلوکز خون و بهبود سطح هورمون انسولین سرم در رت‌های دیابتی می‌شود. القای دیابت موجب افزایش قابل توجه سطوح تری‌گلیسیرید، کلسترول، HDL، LDL، VLDL و آسپاراتات آمینوترانسفراز و آلانین آمینوترانسفراز، اوره و کراتینین می‌شود که تجویز خوراکی ساپونین، همه‌ی پارامترهای بالا را به سطح طبیعی می‌رساند.^{۱۸} نتایج حاصل از مطالعه‌ی کانیاگاⁱⁱⁱ نشان داد که تانن با داشتن فعالیت بازدارنده‌ی α -amilaz و α -glucosidas به ترتیب به میزان ۴۴-۲۳ درصد و ۸۸-۵۸ درصد در بهبود میزان گلوکز دیابتی‌ها موثر است که با نتایج مطالعه ما سازگار است.^{۱۹}

در مطالعه‌ی حاضر، عصاره‌ی گیاه غازیایی منجر به افزایش تعداد جزایر لانگرهانس، افزایش سلول‌های بتا و در نتیجه کاهش گلوکز خون نسبت به گروه دیابتی شد که هم راستا با مطالعه‌ی کنریⁱⁱⁱ و همکارانش بر روی رت‌های دیابتی است که به نظر می‌رسد تجویز ساپونین با دز ۱۷۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم، کاهش گلوکز خون، کلسترول و تری‌گلیسیرید و همچنین افزایش سطح هورمون انسولین را به دنبال دارد. تعداد جزایر پانکراس و سلول‌های بتا نیز افزایش پیدا کرد که به نظر می‌رسد ساپونین اثر ضد دیابتی دارد و ممکن است که فعالیت آن به دلیل افزایش ترشح انسولین توسط ساخت مجدد سلول‌های بتا باشد.^{۲۰} هم‌راستا با این مطالعه، الکوفنتی^{iv} نشان داد که ساپونین از طریق واکنش مستقیم بین متابولیسم انرژی، پیام‌رسانی سلول و بیان ژن می‌تواند به عنوان تنظیم‌کننده گلوکز خون در مدل‌های دیابتی

حیوانی تیمار شده با ساپونین به شمار آید. از طریق موارد خاصی از lipoprotein lipase, peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR)-gamma, ylinositide 3-kinase (PI-3-K), protein phosphatid kinase B (Akt) activation, fatty acid binding protein 4 repression (FABP4), تنظیم ژن آدیپونکتین و انتقال‌دهنده‌ی گلوکز نوع ۴ می‌تواند زمینه مولکولی را برای کاهش گلوکز خون، کاهش کلسترول و اثرات ضدچاقی فراهم کند.^{۲۱}

در مطالعه‌ی حاضر، همچنین پی بردیم که دیابت موجب کاهش وزن رت‌ها می‌شود. نتایج مطالعه‌ی لیانگ^v نشان داد که کمبود انسولین با افزایش تجزیه‌ی پروتئین همراه است و باعث کاهش وزن بدن می‌شود. در رت‌های دیابتی، هم میزان ساخت و هم تجزیه پروتئین افزایش می‌یابد، اما کاتابولیسم پروتئین از آنابولیسم آن تجاوز می‌کند؛ در نتیجه باعث تلف شدن ذخایر پروتئین در بدن می‌شود.^{۲۲} به طور کلی، وزن بدن در جریان پیشرفت دیابت قندی کاهش می‌یابد. همان‌طور که در بخش نتایج ذکر شد، در رت‌های گروه دیابتی در مقایسه با گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره، کاهش معنی‌داری در وزن بدن دیده شد و این کاهش وزن بدن در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره جبران شد.

در مطالعه‌ای که چو^{vi} و همکارانش انجام دادند، به نظر می‌رسید که کارواکرول با سرکوب فاکتور رشد فیبروبلاست استخوانی، از تولید آدیپوسیت جلوگیری می‌کند و پیغام‌رسانی آن را طبیعی می‌کند؛ همچنین تولید سایتوکین‌های پیش‌ساز التهاب بافت‌های چربی احشایی را به وسیله‌ی جلوگیری از عبور فاکتور رشد شبه گیرنده-2 TLR و فاکتور پیغام رسان TLR-4 کمتر می‌کند.^{۲۳}

گیاه غازیایی غنی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موثر در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن است.^{۲۴} نتایج مطالعه‌ی ما همچنین نشان داد که سطح نیتریک اکساید در گروه‌های دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد. یکی از آسیب‌های احتمالی در آسیب سلول‌های بتا، طی القای دیابت با STZ می‌تواند تولید بیش از حد NO باشد که به دنبال آن استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد. تولید بیش از حد NO طی القای دیابت با STZ احتمالاً بخش مهمی از واکنش خودایمنی پیچیده‌ای است که منجر به تخریب سلول‌های بتا پانکراس می‌شود که این موضوع با توجه به

i- Patel

ii-kunyanga

iii- koneri

iv- Elcofehinti

v- Liang

vi - CHO

سلول‌های بتا در جزایر از نوع NT+ هستند. اکسیژن و رادیکال آزاد از طریق تشکیل پری‌اکسی نیتریک در تخریب سلول‌های بتا شرکت می‌کنند^{۲۷} که با یافته‌های هیستولوژی ما همراه بود. به نظر می‌رسد تحت شرایط پاتولوژیکی، عدم تعادل سیستماتیک سایشی منجر به مرگ سلول‌های بتا می‌شود. سایتوکین‌های پیش‌ساز التهاب باعث مرگ سلول‌های بتا می‌شود. افزایش گلوکز خون و استرس اکسیداتیو نیز در پاتوژنز دیابت ذکر شده است که این دو در تعامل با یکدیگر هستند. مواد موثره‌ی این گیاه در این مطالعه بررسی نشده است. ما پیشنهاد می‌کنیم در تحقیقات بعدی با استفاده از روش‌های سنجش و آنالیز مانند HPLC و GCMAS ترکیبات موجود در گیاه ابتدا استخراج شده و سپس اثر آن‌ها مورد بررسی قرار گیرد. این بررسی‌ها به فهم این نکته که کدام ماده در گیاه، نقش بیشتری در اثرات دیده شده در تحقیق حاضر را دارد، کمک خواهد کرد.

از این تحقیق نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره‌ی گیاه غازیایی موجب افزایش ترشح انسولین و بهبود غلظت گلوکز سرم در مدل حیوانی دیابت القاء شده با STZ می‌شود. به نظر می‌رسد این عصاره از طریق کاهش تولید نیتریک اکساید و جلوگیری از آسیب‌های اکسیداتیو به بافت پانکراس اثرات فوق را ایجاد می‌کند. تعیین موادی از این گیاه که مسئول خواص ضد دیابتی آن هستند، نیازمند تحقیقات بیشتری است.

سپاسگزاری: این مقاله، حاصل از پایان‌نامه‌ی خانم زینب رفیعی دانشجوی کارشناسی ارشد رشته علوم تشریحی است. نویسندگان مقاله، صمیمانه از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه به خاطر پشتیبانی مالی طرح تحقیقاتی شماره ۹۵۱۸۹ قدردانی می‌کنند.

i- Ahn

ii- Wang

iii -Suarez-Pinzon

نقش NO و تولید بیش از حد آن در تخریب سلول‌های بتا طی دیابت با STZ قابل توجه است. در مطالعه‌ی ما، در رت‌های دیابتی تیمار شده با عصاره، کاهش معنی‌داری در میزان نیتریک اکساید سرم مشاهده شد که نشان‌دهنده‌ی کاهش میزان سایتوکین‌های آسیب‌رسان به بافت پانکراس است. این نتایج نشان‌دهنده‌ی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی گیاه غازیایی است. در راستای این نتایج، آنⁱ و همکارانش در مطالعه‌ی دریافتند که ساپونین ممکن است از طریق مسدود کردن فعالیت NF- κ B، منجر به کاهش بیان ژن iNOS و COX-2 شود.^{۲۸} وانگⁱⁱ و همکارانش نشان دادند که تیمار هم‌زمان رت‌های دیابتی شده با ترکیب کارواکول (CVL) و روسیگلیتازون (RSG)، باعث کاهش معنی‌دار سطح سرمی سایتوکین‌های التهابی TNF- β و IL-6، نسبت به حالتی می‌شود که ترکیبات فوق به تنهایی مورد استفاده قرار گیرند.^{۲۹} تناقض اطلاعات حاصل از مطالعه‌ی مذکور با نتایج مطالعه‌ی ما نیز احتمالاً ناشی از تفاوت دز و یا تفاوت ترکیب مورد مطالعه باشد.

در مطالعه‌ی ما در گروه دیابتی، عمده‌ی سلول‌های بتا در جزایر کوچک و دژنه شده بودند و جزایر به طور نسبی دچار آتروفی بودند که در گروه تیمار با عصاره، تا حدی این تخریب بافتی جبران شده بود و اثر عصاره، منجر به بازسازی قطر جزایر لانگرهانس در رت‌های دیابتی شده بود. سوارز پینسونⁱⁱⁱ نشان داد که پراکسی نیتریک یک گونه اکسیژن غیرفعال است که به وسیله‌ی واکنش با رادیکال آزاد سوپراکسید (O_2^-) و نیتریک اکساید تولید می‌شود. نیتروتیروزین (NT) یک مارکر از پراکسی نیتریک است که در جزایر لانگرهانس موش‌های دیابتی مشاهده می‌شود. با استفاده از روش‌های ایمونوهیستوشیمیایی مشخص شده است که سلول‌های NT+ بیشترین تعداد را دارند و عمده‌ی

References

- Gardner DGS, Greenspan D. Greenspan's basic and clinical endocrinology: McGraw-Hill Medical; 2007.
- Mohammadi J, Naik PR. The histopathologic effects of Morus alba leaf extract on the pancreas of diabetic rats. Turkish J Biol 2012; 36: 211-6.
- 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: 734-43.
- Ceriello A, Bortolotti N, Motz E, Pieri C, Marra M, Tonutti L, et al. Meal-induced oxidative stress and low-density lipoprotein oxidation in diabetes: the possible role of hyperglycemia. Metabolism 1999; 48: 1503-8.
- Rai MK. A review on some antidiabetic plants of India. Anc Sci Life 1995; 14: 168-80.
- Zaragoza A, Andrés D, Sarrión D, Cascales Ma. Potentiation of thioacetamide hepatotoxicity by phenobarbital pretreatment in rats. Inducibility of FAD monooxygenase system and age effect, Chem Biol Interact 2000; 124: 87-101.
- Ahvazi M, Khalighi-Sigaroodi F, Charkhchiyan MM, Mojab F, Mozaffarian VA, Zakeri H. Introduction of medicinal plants species with the most traditional usage in Alampur region. Iran J Pharm Res 2012; 11: 185-94.

8. Jaberian H, Piri K, Nazari J. Phytochemical composition and in vitro antimicrobial and antioxidant activities of some medicinal plants. *Food Chem* 2013; 136: 237-44.
9. Sato M, Tai T, Nunoura Y, Yajima Y, Kawashima S, Tanaka K. Dehydrotrametenolic acid induces preadipocyte differentiation and sensitizes animal models of noninsulin-dependent diabetes mellitus to insulin. *Biol Pharm Bull* 2002; 25: 81-6.
10. Delfan B, Saki K, Bahmani M, Rangsz N, Delfan M, Mohseni N, et al. A study on anti-diabetic and anti-hypertension herbs used in Lorestan province, Iran. *J HerbMed Pharmacol* 2014; 3: 71-6.
11. Chen YF, Roan H-Y, Lii CK, Huang YC, Wang TS. Relationship between antioxidant and antiglycation ability of saponins, polyphenols, and polysaccharides in Chinese herbal medicines used to treat diabetes. *J Med Plant Res* 2011; 5: 2322-31.
12. Okuda T, Kimura Y, Yoshida T, Hatano T, Okuda H, Arichi S. Studies on the activities of tannins and related compounds from medicinal plants and drugs. I. Inhibitory effects on lipid peroxidation in mitochondria and microsomes of liver. *Chem Pharm Bull* 1983; 31: 1625-31.
13. Mozafar K, Salehi H. Protective effect of *Falcaria vulgaris* extract on ethanol induced gastric ulcer in rat. *Iranian J Pharmacol Ther* 2006; 5: 43-6.
14. Torrico F, Cepeda M, Guerrero G, Melendez F, Blanco Z, Canelón DJ, et al. Hypoglycaemic effect of *Croton cuneatus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Rev Bras Farmacogn* 2007; 17: 166-9.
15. Jalili C, Salahshoor M, Moradi M, Ahookhash M, Taghadosi M, Sohrabi M. Expression Changes of Apoptotic Genes in Tissues from Mice Exposed to Nicotine. *Asian Pac J Cancer Prev* 2017; 18: 239-44.
16. Jalili C, Ahmadi S, Roshankhah S, Salahshoor M. Effect of Genistein on reproductive parameter and serum nitric oxide levels in morphine-treated mice. *Int J Reprod Biomed* 2016; 14: 95-102.
17. Jalili C, Salahshoor MR, Naseri A. Protective effect of *Urtica dioica* L against nicotine-induced damage on sperm parameters, testosterone and testis tissue in mice. *Iran J Reprod Med* 2014; 12: 401-8.
18. Patel S, Santani D, Shah M, Patel V. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of bryonia laciniosa seed extract and its saponin fraction in streptozotocin-induced diabetes in rats. *J Young Pharm* 2012; 4: 171-6.
19. Kunyanga CN, Imungi JK, Okoth M, Momanyi C, Biesalski HK, Vadivel V. Antioxidant and antidiabetic properties of condensed tannins in acetonetic extract of selected raw and processed indigenous food ingredients from Kenya. *J Food Sci* 2011; 76: C560-7.
20. Koneri RB, Samaddar S, Ramaiah CT. Antidiabetic activity of a triterpenoid saponin isolated from *Momordica cymbalaria* Fenzl. *Indian J Exp Biol* 2014; 52: 46-52.
21. Elekofehinti OO, Omotuyi IO, Kamdem JP, Ejelonu OC, Alves GV, Adanlawo IG, et al. Saponin as regulator of biofuel: implication for ethnobotanical management of diabetes. *J Physiol Biochem* 2014; 70: 555-67.
22. Liang WC, Nishino I. Disorders of Lipid Metabolism. *Muscle Disease, Pathology and Genetics*, Second edition 2013: 265-72.
23. Cho S, Choi Y, Park S, Park T. Carvacrol prevents diet-induced obesity by modulating gene expressions involved in adipogenesis and inflammation in mice fed with high-fat diet. *J Nutr Biochem* 2012; 23: 192-201.
24. Yadegari M, Khazaei M, Hamzavi Y, Toloei AR. Antifertility effects of *Falcaria vulgaris* in female rat. *AMUJ* 2011; 14: 94-9.
25. Ahn KS, Noh EJ, Zhao HL, Jung SH, Kang SS, Kim YS. Inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase II by *Platycodon grandiflorum* saponins via suppression of nuclear factor- κ B activation in RAW 264.7 cells. *Life Sci* 2005; 76: 2315-28.
26. Wang R, Yan Z, Wu X, Ji K, Wang H, Zang B. Rosiglitazone attenuates renal injury caused by hyperlipidemic pancreatitis. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 4332-43.
27. Suarez-Pinzon WL, Szabó C, Rabinovitch A. Development of autoimmune diabetes in NOD mice is associated with the formation of peroxynitrite in pancreatic islet β -cells. *Diabetes* 1997; 46: 907-11.

Original Article

Effects of Hydro- alcoholic Extract of *Falcaria Vulgaris* on Pancreas Tissue in Streptozotocin-induced Diabetic Rats

Rafiee Z¹, Jalili F¹, Sohrabi M², Salahshoor M², Jalili C²

¹Students Research Committee, & ²Fertility and Infertility Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, I. R. Iran

e-mail: cjalili@yahoo.com

Received: 04/03/2017 Accepted: 17/06/2017

Abstract

Introduction: Diabetes, as a chronic disease, is the third leading cause of death in developing countries. Hyperglycemia and oxidative stress have been recognized as the main factors involved in pathogenesis of diabetes. On the other hand, the antioxidant system is the first defense mechanism of body against oxidative stress. *Falcaria Vulgaris* possesses hypoglycemic and antioxidant effects. This study surveyed the effects of different doses of *Falcaria vulgaris* extract (50,100,150 mg/kg) on histological changes of Langerhans islets and serum insulin, nitric oxide and glucose levels. **Materials and Methods:** A total of 64 male Wistar rats were divided into 8 groups (control, diabetic with STZ, treatment with *Falcaria Vulgaris* (50,100,150 mg/kg) and diabetic treated with *Falcaria Vulgaris* (50,100,150 mg/kg). Data were analyzed by one-way ANOVA, and p value <0.05 was considered significant. **Results:** *Falcaria Vulgaris* extract (100 and 150 mg/kg) significantly decreased serum glucose level ($p<0.01$) and improved the diameter of islets ($p<0.05$) in diabetic rats treated with *Falcaria Vulgaris* extract, compared with the diabetic group. Moreover, at dose of 150 mg/kg, the extract improved serum insulin ($p<0.01$), decreased nitric oxide ($p<0.01$) and increased the weight ($p<0.01$) and number of islets of diabetic rats ($p<0.05$). Histopathological studies also confirmed these changes. **Conclusion:** *F. vulgaris* can improve insulin secretion and serum glucose levels in an animal model of STZ induced diabetes, possibly by reducing nitric oxide production and preventing pancreatic tissue oxidative damage.

Keywords: *Falcaria vulgaris*, Diabetes, Pancreas, Hyperglycemias, Rats