

## آثار ترمیمی و انادیوم بر سلول‌های بتای پانکراس در موش صحرایی مبتلا به دیابت نسبتاً شدید قندی تجربی

محمدتقی محمدی<sup>۱</sup>، دکتر سید فخرالدین مصباح<sup>۲</sup>، دکتر غلام‌عباس دهقان<sup>۳</sup>

(۱) گروه فیزیولوژی، (۲) گروه علوم تشریحی؛ (۳) مرکز شیمی دارویی و گیاهان دارویی؛ دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شیراز؛ نشانی مکاتبه‌ی نویسنده‌ی مسئول: شیراز، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، گروه فیزیولوژی، دکتر غلام‌عباس دهقان e-mail: dehghang@sums.ac.ir

### چکیده

**مقدمه:** ترکیبات و انادیوم علاوه بر آثار ضد دیابتی از طریق تحریک گیرنده‌های انسولینی، به نظر می‌رسد که بسته به شدت دیابت اثر بهبودی بخشی هم در ترمیم سلول‌های بتای پانکراس تخریب شده توسط استرپتوزوتوسین در موش‌های صحرایی داشته باشند. **مواد و روش‌ها:** برای بررسی این اثر سه گروه حیوان به صورت اتفاقی انتخاب و با تزریق  $40 \text{ mg/Kg}$  استرپتوزوتوسین دیابت قندی نسبتاً شدید در آن‌ها با قند خون  $500-600 \text{ mg/dL}$  ایجاد شد و به مدت دو ماه به شرح زیر تحت درمان قرار گرفتند. گروه اول ( $n=9$ ) طی دوره‌ی آزمایش بدون درمان باقیمانده، در گروه دوم ( $n=11$ ) با تزریق روزانه انسولین NPH یوگلیسمی ایجاد شد و گروه سوم ( $n=10$ ) از محلول پایه و انادیوم ( $1 \text{ mg/mL}$ ) به جای آب آشامیدنی استفاده کردند. طی دوره‌ی آزمایش در زمان‌های مشخص نمونه‌ی خون برای تعیین میزان قند خون گرفته شد و در پایان حیوانات بعد از بیهوشی عمیق کشته پانکراس آن‌ها برای مطالعه‌ی بافت‌شناسی خارج شد. یافته‌ها: میزان قند خون در حیوانات گروه اول و گروه دوم بدون حضور انسولین در پایان آزمایش بدون تغییر ماند. در حالی که در گروه سوم، و انادیوم پس از دو ماه توانست میزان قند خون را از  $558 \pm 13 \text{ mg/dL}$  به  $320 \pm 33 \text{ mg/dL}$  برساند. در پایان دوره، مقایسه‌ی نتایج بافت‌شناسی پانکراس گروه دریافت‌کننده‌ی و انادیوم با دو گروه دیابتی تفاوت بارزی نشان داد به نحوی که در این گروه جزایر لانگرهانس از نظر اندازه و تعداد افزایش قابل ملاحظه‌ای داشتند و افزایش تعداد سلول‌های بتا و حجم آن‌ها تأییدی بر آثار ترمیمی و انادیوم در پانکراس می‌باشد. نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که و انادیوم قادر است آثار ترمیمی خود را بر سلول‌های بتای پانکراس در صورتی که تخریب به طور کامل انجام نشده باشد، اعمال نماید.

**واژگان کلیدی:** و انادیوم، پانکراس، دیابت قندی، قند خون

دریافت مقاله: ۸۵/۸/۵ - دریافت اصلاحیه: ۸۵/۱۲/۱۱ - پذیرش مقاله: ۸۵/۱۲/۱۴

### مقدمه

دیابت قندی نوع ۱ با کاهش شدید سطح انسولین پلاسما همراه است که در انسان معمولاً به دلیل تخریب سلول‌های

بتای پانکراس در پاسخ به واکنش‌های خودایمنی صورت می‌گیرد. این نوع دیابت در حیوانات آزمایشگاهی نیز با تزریق استرپتوزوتوسین (STZ)، که سبب تخریب سلول‌های بتای پانکراس شده، به صورت تجربی ایجاد می‌شود.<sup>۱-۶</sup> آثار

گفت که آثار ترمیمی وانادیم بستگی به شدت وخامت دیابت، میزان تخریب سلول‌های بتای پانکراس، و دوره‌ی درمان دارد. برای اثبات این فرضیه، با توجه به نبود اطلاعات کافی، در مطالعه‌ی حاضر پژوهش با کمک دوز مناسبی از استرپتوزوتوسین در موش صحرایی دیابت نسبتاً وخیم ولی غیر وابسته به انسولین تزریقی ایجاد شد و خواص پایین آورنده‌ی قند خون و ترمیم‌کننده‌ی پانکراس توسط وانادیوم، طی مدت دو ماه درمان مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

موش‌های صحرایی از نژاد Sprague-Dawley در محدوده‌ی وزن ۲۷۰-۲۱۰ گرم به تعداد معین انتخاب و در قفس‌های جداگانه، شرایط استاندارد (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی)، دمای  $23 \pm 3$  سانتی‌گراد و رطوبت مناسب نگهداری شدند. همه‌ی حیوانات در طول آزمایش غذا و آب کافی در اختیار داشتند.

برای انجام آزمایش حیوانات به صورت اتفاقی به دو گروه سالم و دیابتی تقسیم شده و به شرح زیر تحت آزمایش قرار گرفتند.

گروه سالم، حیوانات به دو زیر گروه تقسیم شدند: گروه I (گروه شاهد طبیعی)، ( $n=12$ ) که طی دو ماه آزمایش هیچ‌گونه دارویی دریافت نکردند. گروه II (گروه طبیعی دریافت‌کننده‌ی وانادیوم)، ( $n=12$ ) که به مدت دو ماه به جای آب محلول وانادیل سولفات با غلظت  $0.5 \text{ mg/mL}$  مصرف کردند.

دیابت قندی با تزریق داخل وریدی استرپتوزوتوسین ( $40$  میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن حیوان) ایجاد شد و بعد از گذشت  $10$  روز حیواناتی که قند خون  $500-600 \text{ mg/dL}$  داشتند، ولی برای ادامه حیات به انسولین تزریقی وابسته نبودند، به عنوان دیابت نسبتاً وخیم در نظر گرفته شده، به طور اتفاقی به سه زیرگروه به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه III (گروه شاهد دیابتی): موش‌های دیابتی بودند ( $n=9$ ) که طی دوره آزمایش هیچ‌گونه درمانی دریافت نکردند. گروه IV (گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی انسولین): درمان این گروه ( $n=12$ ) با تزریق داخل صفاقی یک دوز روزانه‌ی انسولین NPH انسانی ( $4$  واحد به ازای  $100$  گرم وزن حیوان) شروع و به مرور با افزایش دوز انسولین تا  $10$  واحد به ازای  $100$  گرم وزن حیوان طی دوره‌ی آزمایش،

ضد دیابتی ترکیبات وانادیوم در سال‌های اخیر توجه تعداد زیادی از مراکز تحقیقاتی را به خود معطوف داشته است. مطالعه‌های زیادی خواص ضددیابتی وانادیوم را مورد بررسی قرار داده‌اند که نتایج آن‌ها به طور خلاصه با کاهش قند خون از طریق مکانیسم‌های متعدد، از جمله اثر شبه انسولینی در بافت‌های محیطی، کاهش برون‌ده گلوکز کبدی و غیره، گزارش شده است.<sup>۱۲-۷،۴۵</sup> با این وجود، تا به حال مکانیسم دقیقی که بتواند آثار ضد دیابتی این ترکیب را بیان کند، گزارش نشده است.

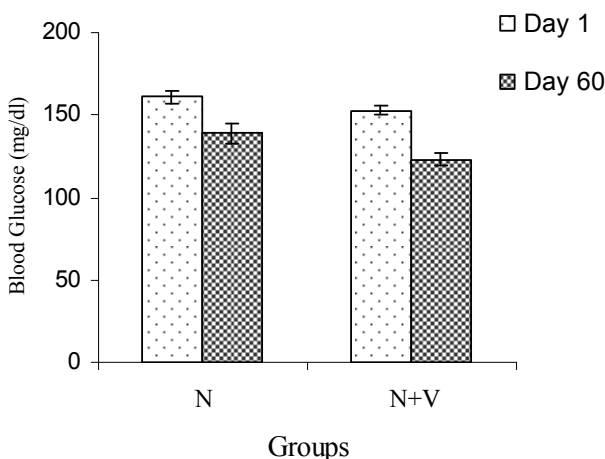
یکی از مکانیسم‌های احتمالی خواص ضد دیابتی وانادیوم بر اساس بعضی گزارش‌ها عملکرد آن بر پانکراس حیواناتی است که سلول‌های بتای پانکراس آن‌ها به طور تجربی تخریب شده است. مطالعه‌های انجام شده در این زمینه نشان می‌دهند که درمان با وانادیوم در کوتاه‌مدت، علاوه بر آن که می‌تواند قند خون را با تحریک گیرنده‌های محیطی انسولینی به حد طبیعی برگرداند، از طریق ترمیم و تکثیر سلول‌های بتای پانکراس حیوانات دیابتی شده نیز می‌تواند سطح انسولین پلازما را نسبت به گروه‌های دیابتی درمان نشده افزایش دهد.<sup>۱۶-۱۳،۱۱،۲۶</sup> و حتی بعد از قطع مصرف وانادیوم، قند خون این حیوانات در حد طبیعی باقی می‌ماند.<sup>۱۷،۴۵</sup> لازم به یادآوری است که مطالعه‌های انجام شده در مورد بررسی خواص ضد دیابتی وانادیوم به طور عمده در موش‌های صحرایی با دیابت جزئی (partial) و با قند خون در محدوده‌ی  $400-450 \text{ mg/dL}$  بوده و بر اساس نظر بعضی از پژوهشگران، سطح انسولین پلازما در آن مطالعه‌ها از حد پایه بالاتر بوده است.<sup>۱۶،۱۳،۷-۱</sup>

گزارش‌های دیگری در حیوانات مبتلا به دیابت تجربی وخیم نوع ۱ و وابسته به انسولین تزریقی وجود دارد که فاقد آثار یاد شده طی مدت شش ماه درمان بودند، در حالی که وانادیوم توانست با تحریک گیرنده‌های انسولینی محیطی نیاز به انسولین تزریقی را تا حدود  $80\%$  نسبت به گروه درمان نشده با وانادیوم کاهش دهد ولی با قطع موقت مصرف وانادیوم، قند خون گروه مذکور بعد از مدت کوتاهی تا حد حیوانات دیابتی بالا رفت.<sup>۱۴</sup> در شرایط فوق و با درمان بیش از یک سال، وانادیوم در تعدادی از حیوانات درمان شده توانست آثار ترمیمی خود را بر پانکراس ظاهر نموده، در مدت نسبتاً طولانی حتی بعد از قطع مصرف وانادیوم و تزریق روزانه‌ی انسولین، قند خون آن‌ها را در حد حیوانات سالم نگهدارد.<sup>۱</sup> با استنباط از نتایج ارایه شده شاید بتوان

## یافته‌ها

در موش‌های صحرایی سالم میزان قند خون کمتر از  $200 \text{ mg/dL}$  در نظر گرفته شد. میانگین قند خون در همه‌ی گروه‌ها در شروع آزمایش  $157 \pm 2 \text{ mg/dL}$  بود. همان‌طوری که در نمودار ۲ نشان داده شده است، ده روز بعد از تزریق استرپتوزوسین میانگین قند خون گروه‌های III، IV و V به بیش از سه برابر حد طبیعی افزایش یافت.

مصرف وانادیل سولفات با دوز پایین ( $0.2 \text{ mg/mL}$ ) برای گروه‌های II و V شروع و به تدریج طی هفته‌ی دوم و سوم به ترتیب افزایش یافت، و سپس با یک دوز نگهدارنده تا پایان دوره‌ی آزمایش روند درمان ادامه پیدا کرد که در جداول ۱ و ۲ این مقدار افزایش برای هر گروه به صورت مجزا نشان داده شده است. به این ترتیب بعد از دو ماه درمان، میزان قند خون در گروه II نسبت به گروه I تغییر قابل ملاحظه‌ای پیدا نکرد (نمودار ۱ و جدول ۱) ولی میزان قند خون گروه V نسبت به قبل از درمان با وانادیوم تا  $320 \pm 33 \text{ mg/dL}$  کاهش یافت. این در حالی است که در گروه IV با تزریق داخل صفاقی روزانه‌ی انسولین NPH به صورت ۱۰ واحد به ازای ۱۰۰ گرم وزن حیوان در طول آزمایش با میانگین قند خون  $177 \pm 42 \text{ mg/dL}$  یوگلیسمی ایجاد شد اما در پایان آزمایش، چهار روز بعد از قطع انسولین میزان قند خون به  $510 \pm 32 \text{ mg/dL}$  رسید. در گروه III طی دوره‌ی آزمایش، تغییر قابل ملاحظه‌ای در سطح قند خون مشاهده نشد (نمودار ۲ و جداول ۲ و ۳).



نمودار ۱- مقایسه‌ی میانگین قند خون در حیوانات گروه شاهد طبیعی (N) و طبیعی دریافت‌کننده‌ی وانادیوم (N+V). مقایسه‌ی میانگین قند خون در شروع و پایان دوره‌ی درمان با  $P < 0.05$  تفاوت معنی‌داری نشان نمی‌دهد؛ داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.

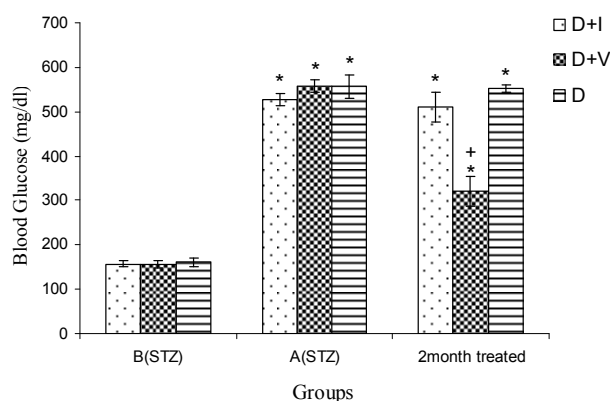
میزان قند خون کاهش و در سطح گروه I ثابت نگهداشته شد. گروه V (گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی وانادیوم): موش‌های دیابتی این گروه ( $n=15$ ) به مدت دو ماه متوالی به جای آب از محلول وانادیل سولفات با غلظت  $1 \text{ mg/mL}$  مصرف کردند.

برای خون‌گیری ابتدا حیوان با اتر بیهوش شد سپس با قطع انتهای دم  $1-1/5 \text{ mL}$  خون تهیه و با روش‌های متداول سرم آن جدا و برای اندازه‌گیری میزان قند از کیت گلوکز مخصوص موش صحرایی و تکنیک اسپکتوفوتومتری استفاده شد. میزان آب آشامیدنی همه‌ی حیوانات مورد آزمایش به صورت روزانه و وزن حیوانات دو بار در هفته اندازه‌گیری شد. از آنجایی که پرورش و پرادراری در حیوانات گروه دیابتی وجود داشت، برای جلوگیری از ایجاد هیپوناترمی (کاهش سدیم خون) و کاهش تلفات حیوانات به آب آشامیدنی همه‌ی آن‌ها کلرور سدیم (۳ گرم در لیتر) اضافه و از آن به عنوان محلول پایه برای همه‌ی گروه‌ها استفاده شد. در پایان دو ماه درمان، از هر گروه و به طور اتفاقی ۵ عدد حیوان انتخاب و بعد از بیهوشی با دوز بالای اتر کشته شدند. پس از باز کردن شکم، ناحیه‌ی دم پانکراس مشخص و با دقت جدا و با کمک فرمالین ۱۰ در صد بافر شده فیکس شد. سپس با استفاده از روش‌های متداول بافت‌شناسی نمونه‌های بافتی آماده‌سازی و با استفاده از روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) اسلایدهای هیستولوژی تهیه و کدگذاری شدند. در پایان تمامی اسلایدها توسط یک کارشناس بافت‌شناسی که هیچ‌گونه اطلاعی از انجام پژوهش و یا نوع نمونه‌ها نداشت با میکروسکوپ نوری مطالعه و تشخیص‌ها یادداشت شد و سرانجام توسط فردی دیگر تشخیص‌های بافت‌شناسی با نمونه‌ها مطابقت داده شد. طی دوره‌ی مطالعه در ارتباط با حیوانات مورد آزمایش، همه‌ی مقررات مربوط به نحوه نگهداری حیوانات آزمایشگاهی رعایت شد.

اطلاعات ارایه شده به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد (Means  $\pm$  SEM) می‌باشد. برای مقایسه و تجزیه و تحلیل نتایج کمی به دست آمده بین گروه‌ها از آنالیز واریانس یک طرفه<sup>۱</sup> با Post Hoc توکی (Tukey) و شفه (Scheffe) استفاده شد و از آزمون فریدمن برای تجزیه و تحلیل نتایج داخل گروهی استفاده شد. در همه‌ی موارد  $p < 0.05$  به عنوان اختلاف معنی‌دار بین میانگین پارامترها در نظر گرفته شد.

i- One way ANOVA

میانگین آب مصرفی در حیوانات همه‌ی گروه‌ها در شروع آزمایش  $37 \pm 4$  mL/day بود. بعد از ایجاد دیابت میزان مصرف آب آشامیدنی در گروه‌های III، IV و V افزایش یافت و بعد از ده روز به ترتیب به  $161 \pm 6$ ،  $186 \pm 7$  و  $155 \pm 10$  میلی‌لیتر در روز افزایش یافت. در گروه III این افزایش همچنان تا پایان آزمایش بدون تغییر باقی ماند ولی در گروه IV پس از تزریق انسولین این میزان به طور معنی‌داری کاهش یافت و به میزان  $92 \pm 7$  mL/day رسید، همچنین در گروه V (گروه دریافت‌کننده‌ی وانادیوم)، این کاهش شدید بود به طوری که بعد از یک ماه به مقدار  $22 \pm 3$  mL/day و پس از دو ماه درمان به  $17 \pm 2$  mL/day رسید که در مقایسه با گروه‌های دیگر معنی‌دار بود (جدول ۳ و ۲). همچنین میزان آب مصرفی گروه II (گروه سالم دریافت‌کننده‌ی وانادیوم) کاهش معنی‌دار نسبت به گروه I (سالم) داشت که میزان آن در جدول ۱ آورده شده است.



نمودار ۲- مقایسه‌ی میانگین قند خون در حیوانات گروه شاهد دیابتی (D)، گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی انسولین (D+I) و گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی وانادیوم (D+V) در سه زمان متفاوت قبل از تزریق استرپتوزوسین B(STZ)، بعد از تزریق استرپتوزوسین A(STZ) و پایان دو ماه درمان؛ \* نشانگر مقایسه‌ی معنی‌دار با  $P < 0.05$  با داده‌های قبل از ایجاد دیابت و گروه شاهد طبیعی می‌باشد؛ + نشانگر مقایسه معنی‌دار با  $P < 0.05$  با داده‌های بعد از ایجاد دیابت و گروه شاهد دیابتی می‌باشد؛ داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نمایش داده شده است.

جدول ۱- نتایج به دست آمده از موش‌های صحرایی سالم تحت درمان دو ماهه با محلول وانادیل سولفات (گروه طبیعی دریافت‌کننده‌ی وانادیوم)

شاخص دوره‌ی آزمایش	کلوکز mg/dL	آب mL/day	غلظت محلول وانادیوم mg/mL	وزن بدن (گرم)
شروع آزمایش (n=12)	$152 \pm 3$	$37 \pm 4$	-	$237 \pm 4$
شروع درمان با وانادیوم				
روز ۵ (n=12)	-	$19 \pm 2$	۰/۲	$237 \pm 3$
روز ۱۰ (n=12)	-	$10 \pm 1^*$	۰/۳	$220 \pm 4$
روز ۲۰ (n=12)	-	$8 \pm 1^*$	۰/۵	$195 \pm 8^*$
روز ۳۰ (n=12)	-	$10 \pm 1^*$	۰/۶	$175 \pm 7^*$
روز ۶۰ (n=11)	$123 \pm 4$	$12 \pm 2^*$	۰/۵	$209 \pm 12^*$

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نمایش داده شده است؛ \* نشانگر مقایسه‌ی معنی‌دار با  $P < 0.05$  با داده‌های شروع آزمایش و گروه شاهد طبیعی می‌باشد.

جدول ۲- نتایج به دست آمده از موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان دو ماهه با انسولین (گروه دیابتی دریافت‌کننده‌ی انسولین)

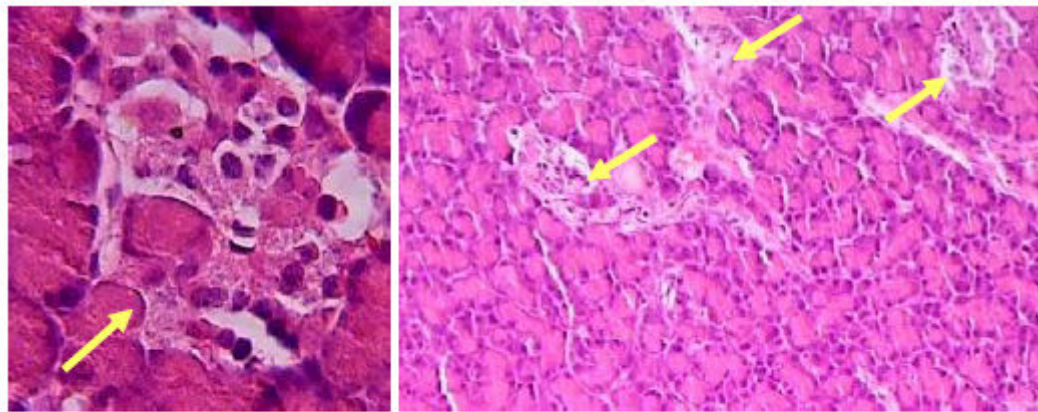
شاخص دوره‌ی آزمایش	گلوکز خون mg/dL	آب mL/day	انسولین تزریقی unit/100g	وزن بدن (گرم)
شروع آزمایش (n=12)	$157 \pm 7$	$39 \pm 3$	-	$241 \pm 5$
۱۰ روز بعد از ایجاد دیابت (n=12)	$527 \pm 12^*$	$186 \pm 7^*$	-	$245 \pm 5$
شروع درمان با انسولین				
روز ۵ (n=12)	-	$119 \pm 14^*$	۴	$255 \pm 7$
روز ۱۰ (n=12)	-	$128 \pm 9^*$	۸	$263 \pm 8$
روز ۲۰ (n=11)	-	$92 \pm 7^{*\dagger}$	۱۰	$291 \pm 11^*$
روز ۳۰ (n=11)	$177 \pm 42^\dagger$	$100 \pm 9^{*\dagger}$	۱۰	$296 \pm 10^*$
روز ۶۰ (n=11)	$510 \pm 32^*$	$103 \pm 7^{*\dagger}$	-	$290 \pm 13^*$

داده‌ها به صورت میانگین  $\pm$  خطای استاندارد نمایش داده شده است؛ \* نشانگر مقایسه‌ی معنی‌دار با  $P < 0.05$  با داده‌های شروع آزمایش (قبل از ایجاد دیابت) و گروه شاهد طبیعی می‌باشد؛  $\dagger$  نشانگر مقایسه معنی‌دار با  $P < 0.05$  با داده‌های بعد از ایجاد دیابت و گروه شاهد دیابتی می‌باشد.

جدول ۳- نتایج به دست آمده از موش‌های صحرایی دیابتی تحت درمان دو ماهه با محلول وانادیل سولفات (گروه دیابتی دریافت‌کننده وانادیوم)

دوره آزمایش شاخص	گلوکز خون mg/dL	آب آشامیدنی mL/day	غلظت محلول وانادیوم mg/mL	وزن بدن (گرم)
شروع آزمایش (n=۱۵)	۱۵۶±۷	۲۵±۳	-	۲۴۵±۵
۱۰ روز بعد از ایجاد دیابت (n=۱۵)	۵۵۸±۱۳*	۱۵۵±۱۰*	-	۲۳۵±۵
<b>شروع درمان با وانادیم</b>				
روز ۵ (n=۱۵)	-	۱۴۷±۹*	۰/۲	۲۴۰±۶
روز ۱۰ (n=۱۵)	-	۹۵±۸*†	۰/۴	۲۲۷±۶
روز ۲۰ (n=۱۵)	-	۴۸±۵*†	۰/۷	۱۹۹±۹*
روز ۳۰ (n=۱۴)	۳۳۱±۳۵*	۲۲±۳*†	۱	۱۸۹±۸*
روز ۶۰ (n=۱۰)	۳۲۰±۳۳*	۱۷±۲*†	۱	۱۹۱±۸*

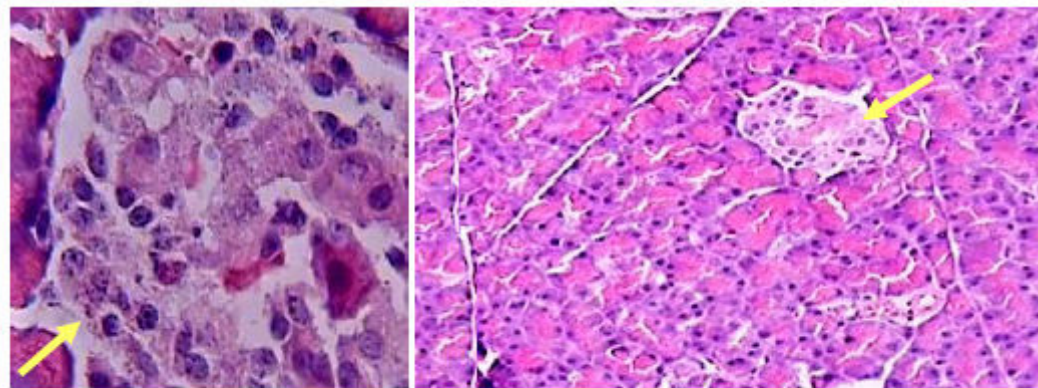
داده‌ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده است؛ \* نشانگر مقایسه‌ی معنی‌دار با  $P < ۰/۰۵$  با داده‌های شروع آزمایش (قبل از ایجاد دیابت) و گروه شاهد طبیعی می‌باشد؛ † نشانگر مقایسه‌ی معنی‌دار با  $P < ۰/۰۵$  با داده‌های بعد از ایجاد دیابت و گروه شاهد دیابتی می‌باشد.



B

A

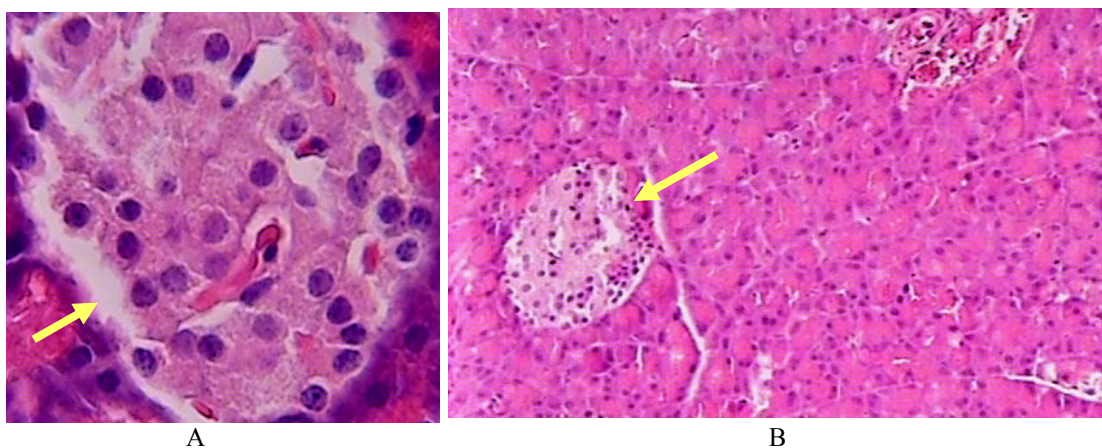
تصویر ۱- تصویر میکروسکوپ نوری پانکراس موش صحرایی دیابتی تحت درمان با وانادیوم. نوک پیکان‌ها نشان‌دهنده جزایر لانگرهانس بازسازی شده می‌باشند. (تصویر A درشت‌نمایی  $\times ۱۰۰$ ، تصویر B درشت‌نمایی  $\times ۴۰۰$ )



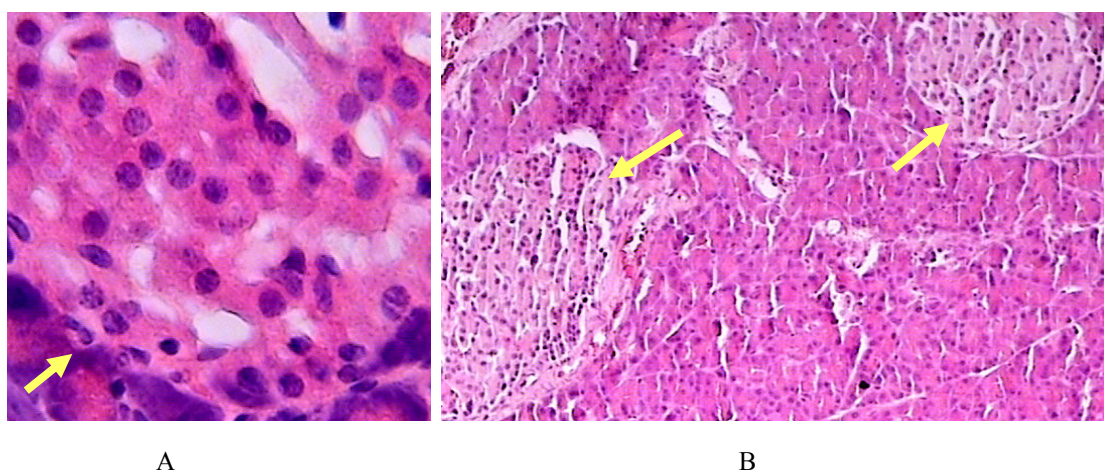
B

A

تصویر ۲- تصویر میکروسکوپ نوری پانکراس موش صحرایی دیابتی تحت درمان با انسولین. نوک پیکان‌ها نشان‌دهنده جزایر لانگرهانس آتروفیک می‌باشند. (تصویر A درشت‌نمایی  $\times ۱۰۰$ ، تصویر B درشت‌نمایی  $\times ۴۰۰$ )



تصویر ۳- تصویر میکروسکوپ نوری پانکراس موش صحرایی طبیعی. نوک پیکان‌ها نشان‌دهنده‌ی جزایر لانگرهانس سالم می‌باشند. (تصویر A درشت نمایی  $\times 100$ ، تصویر B درشت نمایی  $\times 400$ )



تصویر ۴- تصویر میکروسکوپ نوری پانکراس موش صحرایی طبیعی دریافت‌کننده‌ی وانادیوم. نوک پیکان‌ها نشان‌دهنده‌ی جزایر لانگرهانس هیپرتروفیک می‌باشند. (تصویر A درشت نمایی  $\times 100$ ، تصویر B درشت نمایی  $\times 400$ )

با گروه‌های سالم کاهش قابل ملاحظه‌ای داشتند. در این گروه‌ها به خصوص گروه دیابتی بدون درمان جزایر لانگرهانس بسیار کوچک و در بعضی حیوانات به سختی قابل شناسایی بودند (تصاویر ۲ و ۱). در گروه II، در حالی که سطح قند خون آن‌ها در سطح طبیعی (مشابه گروه I) بود، تعداد و اندازه‌ی جزایر لانگرهانس و همچنین تعداد و اندازه‌ی سلول‌های بتا در مقایسه‌ی با گروه I به طور چشمگیری افزایش نشان می‌داد (تصویر ۳ و ۴). در موش‌های صحرایی دیابتی گروه V نیز که به مدت دو ماه تحت درمان با وانادیوم بودند، افزایش قابل ملاحظه‌ای از نظر اندازه و تعداد جزایر لانگرهانس و همچنین سلول‌های سلول‌های بتا نسبت به گروه III و IV مشاهده شد (تصویر ۲).

پنج و ده روز بعد از تزریق استرپتوزوسین وزن موش‌های گروه‌های III، IV و V روند کاهشی داشت ولی این کاهش معنی‌دار نبود. در گروه IV بعد از درمان با انسولین این کاهش جبران شد و روند رشد با افزایش وزن به صورت طبیعی همانند گروه I ادامه پیدا کرد. این درحالی است که کاهش رشد در گروه‌های V نسبت به گروه IV و I و در گروه II نسبت به گروه I با کاهش معنی‌دار وزن قابل مشاهده بود (جدول ۱-۳). بررسی میکروسکوپی بافت‌شناسی پانکراس تفاوت بارزی را بین گروه‌ها نشان داد به طوری که تعداد و اندازه‌ی جزایر لانگرهانس، همچنین تعداد و اندازه‌ی سلول‌های بتا در گروه‌های دیابتی و دیابتی تحت درمان با انسولین در مقایسه

## بحث

وانادیوم توانسته میزان قند خون حیوانات گروه دیابتی را به صورت قابل ملاحظه‌ای نسبت به گروه دیابتی درمان نشده کاهش دهد. در ضمن همان‌طور که نتایج مطالعه‌ی بافت‌شناسی نشان می‌دهد وانادیوم توانسته در این نوع موش‌های دیابتی سلول‌های بتا و جزایر لانگرهانس را به طور واضح ترمیم نماید. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که وانادیوم هم از طریق آثار محیطی و هم از طریق ترمیم پانکراس و احتمالاً افزایش ترشح انسولین توانسته قند خون را به مقدار زیادی نسبت به گروه‌های دیابتی کاهش دهد. ممکن است به دلیل کافی نبودن دوره‌ی درمان، وانادیوم نتوانسته آثار بهبودی بخش خود را به طور کامل بر پانکراس اعمال نماید و قند خون این گروه را تا حد حیوانات سالم کاهش دهد.

یافته‌ی جالب دیگر اینکه وانادیوم باعث تکثیر سلول‌های بتا و بزرگی جزایر لانگرهانس در حیوان سالم (گروه II) شده ولی در میزان قند خون آن‌ها نسبت به گروه طبیعی (I) تغییری ایجاد نکرده است. با توجه به این اثر، می‌توان گفت که وانادیوم توانسته حساسیت سلول‌های بتا را به سطح قند خون حفظ نموده، با وجود افزایش حساسیت گیرنده‌های محیطی به انسولین احتمالاً با کاهش ترشح انسولین در حضور خود، سطح انسولین خون را پایین بیاورد و با این عمل سطح قند خون را در حد طبیعی نگهدارد. این موضوع در گزارش‌های قبلی با اندازه‌گیری سطح انسولین پلاسما ثابت شده است.<sup>۱</sup> وانگهی شاید همان‌طوری که قبلاً نتیجه‌گیری شد در این آزمایش تکثیر سلول‌های بتا خارج از کنترل نبوده با کنترل ترشح انسولین، سطح خونی آن با توجه به سطح قند خون در حد طبیعی حفظ شده است.<sup>۲،۳</sup>

بنابراین وانادیوم می‌تواند اثر ترمیمی و تکثیری خود را تا موقعی اعمال نماید که هم‌هی سلول‌های بتا به طور کامل تخریب نشده باشد. همچنین وانادیوم وقتی می‌تواند اثر کاهش دهنده‌ی قند خون را در حیوانات دیابتی اعمال نماید که انسولین خون حداقل از حد پایه بالاتر باشد. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان گفت که آثار ضد دیابتی وانادیوم از طریق ترمیم سلول‌های پانکراس، به شدت تخریب سلول‌های بتا و وخامت دیابت ایجاد شده در حیوانات آزمایشگاهی بستگی دارد.

وانادیم از طریق مکانیسم‌های متفاوت می‌تواند آثار ضد دیابتی خود را اعمال نماید. مطالعه‌هایی که در دو دهه‌ی اخیر در مراکز تحقیقاتی مختلف صورت گرفته، بسیاری از مکانیسم‌های احتمالی پایین آورنده‌ی قند خون این ترکیبات را مورد بررسی قرار داده‌اند. بیشتر پژوهشگران این آثار را به صورت محیطی و با تحریک گیرنده‌های انسولینی می‌دانند.<sup>۱-۳،۶،۷،۱۴،۱۳</sup> اما در این میان عده‌ای با دیدگاه‌های متفاوتی به آثار جالب این ترکیبات در سطح خود پانکراس اشاره کرده‌اند.<sup>۱-۳،۱۳،۱۶</sup>

بعضی از پژوهشگران عقیده دارند که وانادیم باعث ترمیم و تکثیر سلول‌های بتای تخریب شده‌ی پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین می‌شود،<sup>۲،۳،۱۳،۱۶</sup> اما این آثار ترمیمی زمانی دیده می‌شود که تخریب سلول‌های بتا به صورت کامل انجام نشده باشد، به عبارتی دیابت جزئی (Partial) ایجاد شده باشد.<sup>۵</sup> زمانی که دیابت از نوع وخیم و حیات حیوان وابسته به انسولین تزریقی باشد، یعنی دیابت همراه با تخریب شدید سلول‌های بتا باشد ضمن آن که آثار محیطی آن به طور کامل در کوتاه‌مدت ظاهر نمی‌شود، آثار ترمیمی آن با درمان مداوم و طی ۶ ماه هم ظاهر نمی‌شود.<sup>۱۷</sup> زمانی که یک دوز پایه‌ی انسولین به صورت تزریقی و درازمدت (بیش از یک سال) اضافه شده باشد وانادیوم علاوه بر ایجاد آثار بالقوه محیطی آثار ترمیمی خود را بر پانکراس با درمان مداوم ظاهر می‌سازد.<sup>۱</sup> به عبارت دیگر وانادیوم می‌تواند با بالا بردن حساسیت گیرنده‌های انسولین در بافت‌های بدن نسبت به انسولین، آثار پایین آورنده‌ی قند خون را آشکار نموده، در صورت کافی بودن زمان، آثار ترمیمی خود را بر پانکراس نیز اعمال نماید.

با توجه به مطالعه‌های انجام شده، این آزمایش در نظر دارد تا آثار ترمیمی وانادیم بر پانکراس را در دیابت نسبتاً وخیم، غیر وابسته به انسولین تزریقی، بررسی نماید. اگرچه در این بررسی سطح انسولین پلاسما اندازه‌گیری نشده است و حیوانات گروه‌های دیابتی قبل از درمان و گروه V در طول آزمایش بدون نیاز به انسولین تزریقی زنده می‌مانند، می‌توان استنباط کرد که تخریب جزایر لانگرهانس به حدی نبوده که سلول‌های بتای باقیمانده نتوانند حداقلی از سطح انسولین پایه را برای زنده ماندن حیوان ترشح نمایند. شاید به همین دلیل وانادیم توانست طی دو ماه تا حدی آثار پایین آورنده‌ی قند خون را هم در سطح محیطی و هم تا حدی با ترمیم سلول‌های بتای باقیمانده پانکراس اعمال نماید. همان‌طور که آزمایش‌های قند خون نشان می‌دهند (نمودار ۲ و ۱)

**سپاسگزاری:** پژوهشگران از همکاری مسؤولان محترم آزمایشگاه تحقیقاتی گروه‌های آناتومی و فارماکولوژی دانشگاه علوم پزشکی شیراز و همچنین آقای ایزد نوری هاشم‌آبادی و خانم‌ها روح‌انگیز جعفرپور فسایی و مریم مجاهدتی تشکر و قدردانی می‌نمایند. هزینه‌ی مالی این پژوهش از محل طرح شماره‌ی ۲۶۱۶-۸۴ مرکز تحقیقات شیمی دارویی و گیاهی و همچنین معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شیراز تأمین شده است.

## References

- Dehghani GA, Sotoodeh M, Omrani GR. Trophic effects of vanadium on beta-cells of STZ-induced insulin dependent diabetic rats& evidence for long term relief of diabetes mellitus. *Indian J Med Ser* 1999; 110: 70-5.
- Dehghani GA, Atapour N, Sotoodeh M, Omrani GR. Trophic effects of vanadyl sulphate on pancreatic beta cells of chronic partially streptozotocin-induced diabetic rats. *Iranian J of Med Sci* 1994; 9: 22-7.
- Verma S, Cam MC, McNeill JH. Nutritional factors that can favorably influence the glucose/insulin system: vanadium. *J Am Coll Nutr* 1998; 17:11-8.
- Cam MC, Rodriguse B, McNeill JH. Distinct lowering and beta cell protective effects of vanadium and food restriction in streptozotocin-diabetes. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 546-54.
- Pederson RA, Ramanadham S, Buchan AM, McNeill JH. Long-term effects of vanadyl treatment on streptozocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* 1990; 38: 1390-5.
- Dehghani GA, Ahmadi S, Omrani GR. Effects of vanadyl sulphate on glucose homeostasis in severe diabetes induced by streptozotocin in rats. *Indian J Med Res* 1997; 106: 481-5.
- Dehghani GA, Atapour N, Sotoodeh M, Omrani GR. The influence of vanadyl sulphate on islet cells, blood glucose, and insulin of normal and STZ-induced diabetics rats. *Iranian J of Med Sci* 1992; 17: 167-72.
- Ramachandran B, Ravi K, Narayanan V, Kandaswamy M, Subramanian S. Protective effect of macrocyclic binuclear oxovanadium complex on oxidative stress in pancreas of streptozotocin induced diabetic rats. *Chem Biol Interact* 2004; 149: 9-21.
- Cadene A, Gross R, Poucheret P, Mongold JJ, Masiello P, Roye M, et al. Vanadyl sulphate differently influences insulin response to glucose in isolated pancreas of normal rats after in vivo or in vitro exposure. *Eur J Pharmacol* 1996; 318: 145-51.
- Conconi MT, DeCarlo E, Vigolo S, Grandi C, Bandoli G, Sicolo N, et al. Effects of some vanadyl coordination compounds on the in vitro insulin release from rat pancreatic islets. *Horm Metab Res* 2003; 35: 402-6.
- De Tata V, Bergamini E, Bombara M, Lupi R, Novelli M, Masiello P. Effects of low-dose VOSO(4) on age-related changes in glucose homeostasis in rats. *Eur J Pharmacol* 2000; 398: 169-75.
- Willsky GR, Goldfine AB, Kostyniak PJ, McNeill JH, Yang LQ, Khan HR, et al. Effect of vanadium(IV) compounds in the treatment of diabetes: in vivo and in vitro studies with vanadyl sulfate and bis(maltolato)oxovanadium(IV). *J Inorg Biochem* 2001; 85: 33-42.
- Reul BA, Amin SS, Buchet JP, Ongemba LN, Crans DC, Brichard SM. Effects of vanadium complexes with organic ligands on glucose metabolism: a comparison study in diabetic rats. *Br J Pharmacol* 1999; 126: 467-77.
- Bolkent S, Bolkent S, Yanardag R, Tunali S. Protective effect of vanadyl sulfate on the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 70: 103-9.
- Shafir E, Spielman S, Nachliel I, Khamaisi M, Bar-On H, Ziv E. Treatment of diabetes with vanadium salts: general overview and amelioration of nutritionally induced diabetes in the *Psammomys obesus* gerbil. *Diabetes Metab Res Rev* 2001; 17: 55-66.
- Marzban L, John H, McNeill JH. Insulin-Like action of vanadium: Potential as a therapeutic agent. *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 2003; 16: 253-267.
- Ramanadham S, Brownsey RW, Cros GH, Mongold JJ, McNeill JH. Sustained prevention of myocardial and metabolic abnormalities in diabetic rats following withdrawal from oral vanadyl treatment. *Metabolism* 1989; 38: 1022-8.



## Original Article

# Vanadyl Sulphate and its Regenerative and Trophic Effects on Beta Cells of Pancreas of STZ-Induced Diabetic Mellitus Rats

Mohammadi M<sup>1</sup>, Mesbah F<sup>2</sup>, Dehghani GA<sup>1,3</sup>

1) Departments of Physiology, 2) Department of Anatomy, School of Medicine and 3) Medicinal & Natural Products Chemistry Research Center, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I.R.Iran

e-mail:dehghang@sums.ac.ir

### Abstract

**Introduction:** Vanadyl sulfate (vanadium) has insulin like activity and trophic effects on the pancreatic beta cells of experimental-induced partial diabetic mellitus rats. In this study we investigated the trophic and regenerative effects of vanadium on pancreatic beta cells in conjunction with its insulin like actions in moderate diabetic rats. **Materials and Methods:** Moderate diabetic hyperglycemia was induced by IV injection of 40 mg/kg streptozotocin (STZ). Diabetic animals with blood glucose levels (BG) of 500-600 mg/dl were randomly divided into three groups and treated as follows: group I (n=9), remained untreated (diabetic) whereas normoglycemia was induced in group II by daily IP injection of NPH insulin (n=11); and group III (n=10) used fluid containing 1mg/ml vanadium. Blood samples were taken at specified times during the two months of treatment by nicking the tip of the tail to measure BG. Finally the rats were deeply anesthetized and sacrificed for histological evaluation of their pancreas. **Results:** BG remained high in group I (552±7mg/dl), whereas group II were euglycemic and in group III, vanadium reduced BG level to 320±33mg/dl. Comparison of histological slides obtained from the pancreases of the three groups, with the exception of group III, revealed small and scarce islets of the pancreas, whereas, in group III, vanadium increased the size and the number of these islets looking like of normal rats. **Conclusion:** Amelioration of hyperglycemia in conjunction with increases in the size and the number of beta cells of group III seems to indicate that vanadium has regenerative and trophic effects on degenerated beta cells of moderate diabetic rats, and therefore, seems to cure diabetes by improving the activity beta cells of diabetic rats when degeneration of beta cells was not complete.

**Keywords:** Vanadium, Pancreas, Beta cell, Diabetic mellitus, Blood glucose, Rat