

## Effects of aqueous extract of *Holothuria arenicola* and low frequency electromagnetic field on serum insulin, glucose and beta-amyloid ( $A\beta_{1-42}$ ) in diabetic rats

Sadoughi SD<sup>1\*</sup>, Chamipa M<sup>2</sup>

1- Ph.D Student in Developmental Biology, Young Researchers and Elite Club, Mashhad Branch, Islamic Azad University, Mashhad, I. R. Iran.

2- Department of Biochemistry, Faculty of Sciences, Payam-e-Noor University, Tehran, I. R. Iran.

Received February 27, 2015; Accepted November 11, 2015

### Abstract:

**Background:** Beta-amyloid is increased in the brain of diabetic patients. Considering different effects of electromagnetic field on biological processes, this study was performed to investigate the concomitant effects of aqueous extract of *Holothuria arenicola* and low frequency electromagnetic field (EMF) on the serum insulin, glucose and amyloid beta level in diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this experimental study, 42 male rats were divided into 7 equal groups: Control and Diabetic control (distilled water); Diabetic 1(100 mg/kg of extract); Diabetic 2 (100 mg/kg of extract + EMF 10 gauss); Diabetic 3 (100 mg/kg of extract + EMF400); Diabetic 4 (EMF10); Diabetic 5 (EMF400). Diabetes was induced by intra-peritoneal injection of Alloxan. Diabetic groups 2, 3, 4 and 5 had daily exposure to the EMF for 60 minutes. The serum levels of insulin, blood glucose and beta-amyloid protein were measured at first, fifteenth and thirtieth days.

**Results:** The serum glucose, insulin and beta-amyloid level for Diabetic samples 1 and 2 at first, fifteenth and thirtieth days were significant compared to the diabetic control. At fifteenth and thirtieth days, glucose and insulin level for Diabetic 3 and 4 samples were significant compared to the Diabetic control ( $P<0.05$ ). The beta-amyloid for Diabetic 4 samples was significant at thirtieth day. At fifteenth and thirtieth days, a significant increase and decrease in glucose, insulin and beta-amyloid was seen, respectively in Diabetic 5 compared to Diabetic control ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** Injecting *Holothuria arenicola* extract to the diabetic rats results in a decrease and increase in glucose, insulin and beta-amyloid, respectively. These effects were augmented with the simultaneous use of 10 gauss electromagnetic field.

**Keywords:** Diabetes, *Holothuria arenicola*, Electromagnetic field, Beta-amyloid, Insulin, Glucose

\* Corresponding Author.

Email: Damoon.sadoughi@gmail.com

Tel: 0098 915 302 6313

Fax: 0098 51 3868 3001

Conflict of Interests: No

\_\_\_\_\_ *Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2016; Vol. 20, No 1, Pages 1-10*

Please cite this article as: Sadoughi SD, Chamipa M. Effects of aqueous extract of *Holothuria arenicola* and low frequency electromagnetic field on serum insulin, glucose and beta-amyloid ( $A\beta_{1-42}$ ) in diabetic rats. *Feyz* 2016; 20(1): 1-10.

# بررسی اثر عصاره آبی خیار دریایی و میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر سطح سرمی انسولین، گلوکز و پروتئین آمیلوئید بتا ( $A\beta_{1-42}$ ) در موش‌های صحرایی دیابتی

سید دامون صدوقی<sup>\*۱</sup>، مژگان چمی<sup>۲</sup>

## خلاصه:

**سابقه و هدف:** آمیلوئید بتا در مغز بیماران دیابتی افزایش می‌یابد. با توجه به اینکه میدان‌های الکترومغناطیس اثرات متفاوتی بر فرایندهای زیستی دارند، این پژوهش با هدف بررسی اثر عصاره خیار دریایی توأم با میدان الکترومغناطیس بر سطح سرمی انسولین، گلوکز و پروتئین آمیلوئید بتا در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** در این مطالعه تجربی ۴۲ سر موش صحرایی نر به ۷ گروه مساوی شاهد سالم و شاهد دیابتی (آب مقطر)، دیابتی ۱ (۱۰۰mg/kg عصاره)، دیابتی ۲ (۱۰۰mg/kg عصاره + EMF ۱۰ گاؤس)، دیابتی ۳ (۱۰۰mg/kg عصاره + EMF ۴۰۰)، دیابتی ۴ (EMF ۱۰)، و دیابتی ۵ (EMF ۴۰۰) تقسیم شدند. موش‌ها با تزریق داخل صفاقی آلوکسان دیابتی شدند. گروه‌های دیابتی ۲ تا ۵ روزانه ۶۰ دقیقه در معرض میدان الکترومغناطیس بودند. در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ سطح سرمی انسولین، گلوکز و پروتئین آمیلوئید بتا اندازه‌گیری شد.

**نتایج:** سطح گلوکز، انسولین و آمیلوئید بتا در نمونه‌های دیابتی ۱ و ۲ در روزهای ۱۵ و ۳۰ در مقایسه با شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری داشت. هم‌چنین، سطح گلوکز و انسولین در نمونه‌های دیابتی ۳ و ۴ در روزهای ۱۵ و ۳۰ در مقایسه با شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری داشت. در نمونه‌های دیابتی ۴ این اختلاف برای آمیلوئید بتا در روز ۳۰ معنی‌دار بود. در روزهای ۱۵ و ۳۰ افزایش معنی‌دار در سطح گلوکز و کاهش معنی‌دار در سطح انسولین و آمیلوئید بتا بین نمونه‌های دیابتی ۵ و شاهد دیابتی مشاهده شد ( $P < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** تزریق عصاره به نمونه‌های دیابتی، سطح سرمی گلوکز را کاهش داده و سطح انسولین و آمیلوئید بتا را افزایش داد. این اثرات در کاربرد هم‌زمان با میدان الکترومغناطیس ۱۰ گاؤس تشدید شد.

**واژگان کلیدی:** دیابت، خیار دریایی، میدان الکترومغناطیس، آمیلوئید بتا، انسولین، گلوکز

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره بیستم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵، صفحات ۱-۱۰

## مقدمه

دیابت وابسته به انسولین شامل گروهی از اختلالات هتروژن است که هیپرگلیسمی و گلوکوزوری از مشخصات آن می‌باشد. در این بیماری اختلال در متابولیسم چربی و پروتئین مشاهده می‌شود و به دلیل کاهش ترشح انسولین و یا عدم حساسیت به اثرات آن متابولیسم کربوهیدرات‌ها غیرطبیعی است [۱]. فقدان حافظه و ادراک از علائم آلزایمر است که در نتیجه تخریب نورونی ایجاد می‌شود [۲]. رسوب و تولید پروتئین آمیلوئید بتا یکی از عوامل اصلی و محرک ایجاد بیماری آلزایمر می‌باشد [۳].

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری تخصصی بیولوژی سلولی تکوین، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

<sup>۲</sup> کارشناسی ارشد بیوشیمی، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

## \* نشانی نویسنده مسئول:

مشهد، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی

تلفن: ۰۹۱۵ ۳۰۲۶۳۱۳ | دوره‌نویس: ۰۵۱ ۳۸۶۸۳۰۰۱

پست الکترونیک: Damoon.sadughi@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۱۸ | تاریخ پذیرش نهایی: ۹۴/۸/۲۰

تشکیل آمیلوئید بتا از طریق پروتئولیز متوالی پروتئین پیش‌ساز آمیلوئید (APP: Amyloid Precursor Protein) اتفاق می‌افتد. معمول‌ترین شکل آمیلوئید بتا  $A\beta_{1-40}$  می‌باشد که به‌طور طبیعی از سلول‌ها ترشح می‌شود و به‌نظر می‌رسد از لحاظ فیزیولوژیکی فعال باشد. گونه دیگر آمیلوئید بتا  $A\beta_{1-42}$  می‌باشد که گرایش بیشتری برای تجمع دارد [۴]. تحقیقات نشان داده‌اند پروتئین‌های  $\text{pirB}$  و  $\text{cofilin}$  گیرنده‌های آمیلوئید بتا هستند و این پروتئین‌ها با اتصال به گیرنده‌ها تجمع پیدا می‌کنند. بیان شده است که دیابت موجب افزایش تجمع پروتئین‌های آمیلوئید بتا در سلول‌های عصبی می‌شود. تجمع پلاک‌های آمیلوئیدی، آبشاری از رویدادهای مرتبط با اختلال نورونی و عصبی، پاسخ‌های التهابی، افزایش فسفوریلاسیون پروتئین تائو (Tau Protein) مرگ سلول‌های عصبی، اختلال در ناقل‌های عصبی و زوال عقل بالینی را آغاز می‌کند [۵]. این پروتئین توانایی تولید رادیکال‌های آزاد از طریق هیدروژن پراکسید و هم‌چنین توانایی تحریک سلول‌های التهابی را دارد. هم‌چنین، پروتئین  $A\beta_{1-42}$  هم در آستروسیت‌ها و هم در نورون‌ها موجب ایجاد گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS: Reactive oxygen species) از طریق NADPH اکسیداز می‌شود [۶]. دیابت در متابولیسم

درد، زخم و بیماری‌های سیستم عصبی به‌عنوان طب جایگزین مورد بررسی قرار گرفته است. همچنین، اثرات میدان‌های الکترومغناطیس بر سیستم‌های بیولوژیک مورد بررسی قرار گرفته است، ولی به‌علت قطعی نبودن نتایج حاصله و مشخص نبودن مکانیسم اثر این میدان‌ها بررسی در این زمینه هنوز ادامه دارد [۱۷]. مطالعات صورت گرفته بر روی غشاء پلاسمایی نشان می‌دهد میدان‌های الکترومغناطیس در شدت‌های بالا با ایجاد تغییرات بیوشیمیایی و بیولوژیکی مانند به خارج منعطف شدن مولکول فسفاتیدیل سرین در غشاء سلول و رهاسازی یون کلسیم درون سلولی می‌تواند باعث شروع آپوپتوز در سلول شود [۱۸]. افزایش القای آسیب‌های کروموزومی و تشکیل میکرونوکلسوس در اریتروسیت‌های پلی‌کروماتیک مغز استخوان موش‌های نر که در معرض شدت‌های بالای میدان الکترومغناطیس قرار داشتند گزارش شده است [۱۹]. بر اساس تحقیقات انجام شده میدان الکترومغناطیس با شدت‌های ۱۰ و ۴۰۰ گاوس اثرات متفاوتی بر روند ترمیم زخم در نمونه‌های دیابتی دارد. شدت‌های پایین تسریع کننده و شدت‌های بالا مهار کننده ترمیم زخم می‌باشند [۲۰]. با توجه به ترکیب‌های مفید موجود در عصاره خیار دریایی و اثرات متفاوت میدان‌های الکترومغناطیس بر سیستم‌های زنده، بر آن شدیم تا به بررسی اثر عصاره آبی خیار دریایی توام با میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر سطح سرمی انسولین، گلوکز و پروتئین آمیلوئید بتا ( $A\beta_{1-42}$ ) در موش‌های صحرایی دیابتی بپردازیم.

### مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی است که به‌عنوان طرح تحقیقاتی باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام شد. تعداد ۴۲ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با سن تقریبی ۱۳-۱۱ هفته و محدوده وزنی ۲۹۰-۲۸۰ گرم از موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی مشهد خریداری شد. حیوانات در دمای محیطی ۲۴-۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۵-۴۰ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد پلی-کربنات شفاف ساخت شرکت رازی راد قرار داشتند و آب به مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای ۵۰۰ میلی‌لیتر در اختیار آن‌ها قرار داده شد و از کنسانتره‌های خوراکی شرکت دانه‌داران توس تغذیه نمودند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات انجام شد. رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. همچنین، در کلیه مراحل قوانین و مقررات

آمیلوئید مغزی دخالت دارد؛ تغییرات در هموستازی انسولین و گلوکز ممکن است انسولین مغز و عملکرد گیرنده‌های آن را تحت تاثیر قرار داده و سبب افزایش الیگومریزاسیون آمیلوئید بتا و کلافه-های نوروفیبریلاری ناشی از هایپرفسفریلاسیون پروتئین Tau شود [۸]. تغییرات پروتئین آمیلوئید بتا در مغز و خون نمونه‌های دیابتی انسانی و حیوانی مورد بررسی قرار گرفته و برخی پژوهش‌ها افزایش و برخی عدم تغییر آن را گزارش کرده‌اند. همچنین، با بررسی ۷۰۲ نمونه دیابتی انسانی مشخص شده است سطح پروتئین آمیلوئید بتا در مغز تحت تاثیر افزایش بیش از حد قند خون تغییری نمی‌کند [۹]. نشان داده شده است که هیچ تغییری در سطوح آمیلوئید بتا قشر و هیپوکامپ موش‌های دیابتی شده با استروپتوزوتوسین بعد از ۱۰ روز کمبود انسولینی به‌وجود نمی‌آید [۱۰]. همچنین، هیچ تغییری در سطوح آمیلوئید بتا مغز افراد دیابتی با رژیم غذایی پرچرب مشاهده نشده است [۱۱]. با این‌وجود، اطلاعات نشان می‌دهد که مقاومت انسولینی ناشی از برنامه غذایی، تولید  $A\beta_{1-41}$  و  $A\beta_{1-42}$  را در موش‌های تغییر ژنتیک یافته آرایمری افزایش می‌دهد [۱۲]. مشخص شده است سطح  $A\beta_{1-42}$  مغز (قشر قدامی) موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱ و ۲ به‌طور معنی‌داری افزایش یافته و بالعکس میزان آن در خون کاهش می‌یابد [۱۳]. خیار دریایی ( *Holothuria arenicola*) جانوری در شاخه خارپوستان (Echinodermata) رده خیارسانان (Holothuroidea) بوده و دارای بدنی کشیده است که معمولاً به‌صورت گوستی و نرم می‌باشد. تاکنون تقریباً ۱۴۰۰ گونه زنده از این رده شناسایی شده است. بیشترین تنوع خیارهای دریایی در آب‌های کم‌عمق گرم‌سیری و جزایر مرجانی است. اغلب رسوب‌خوار و برخی نیز معلق‌خوار هستند [۱۴]. از زمان‌های بسیار قدیم چینی‌ها، ژاپنی‌ها و هندی‌ها از خیارهای دریایی استفاده غذایی می‌کردند که نشان دهنده ارزش غذایی بالای آن است. مشخص شده است خیار دریایی دارای تیامین، ریوفلاوین، نیاسین، ویتامین‌های  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$ , A, D و مواد معدنی از جمله کلسیم و منیزیم است. همچنین، دارای خواص بیولوژیک نظیر مهار رگ‌زایی، ضد سرطان، ضد التهاب و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. همچنین، این جانور حاوی ترکیب‌های فعال زیستی نظیر گلیکوزآمینوگلیکان، کندروئیتین سولفات، گلیکوزیدهای تری‌ترپنه، ترکیبات فنولی و اسیدهای چرب می‌باشد [۱۵]. خیار دریایی به‌علت داشتن موکوپلی‌ساکارید و کندروئیتین توانایی تعادل‌سازی پروستاگلاندین‌ها را دارد. همچنین، مشخص شده است ترکیب‌های به‌دست آمده از سیستم گوارشی، غدد جنسی و ماهیچه خیار دریایی دارای اثرات ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی است [۱۶]. در سال‌های اخیر استفاده از میدان‌های الکترومغناطیس در پیشگیری، رفع علائم و درمان بیماری‌هایی نظیر

مزمین می‌باشد، حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان و القاء دیابت تجربی جهت تأیید آن، خون‌گیری از ورید دمی صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco, Korea) اندازه‌گیری شد و قند خون بالای ۳۰۰ mg/dl به‌عنوان شاخص دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد [۲۱]. جهت ایجاد میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت‌های ۱۰ و ۴۰۰ گاؤس از یک سیستم ویژه که دارای بوبین، ۳ رثوستا، خازن و آمپرمتر است، استفاده شد. برای ساخت بوبین، حول یک لوله از جنس PVC مقادیر مشخصی از سیم مسی با استفاده از فرمول محاسبه شدت میدان الکترومغناطیس ( $B = \mu nI$ ) پیچانده شد (B: شدت میدان الکترومغناطیس برحسب تسلا،  $\mu: 4\pi \times 10^{-7}$ ، n: تعداد دور در واحد طول، I: شدت جریان). برای اطمینان از صحت خروجی میدان الکترومغناطیس پس از برقراری جریان در مدار با استفاده از دستگاه گاؤس‌متر (TES-1392, Taiwan) شدت میدان بررسی شد. نمونه‌ها پس از القاء دیابت تجربی به‌مدت ۳۰ روز و روزانه در حدود ۶۰ دقیقه در محفظه بوبین سیستم مولد میدان الکترومغناطیس قرار گرفتند [۲۳]. در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش و به‌دنبال ۱۲ ساعت ناشتایی، ۲ سر موش از هر گروه با اتر بی‌هوش شد. سپس، با برش پوست در ناحیه شکم و قفسه سینه، از طریق باز کردن حفره شکمی، حدود ۵ میلی‌لیتر خون مستقیماً از قلب موش‌ها توسط سرنگ گرفته شد و به لوله آزمایش حاوی EDTA منتقل شد. سپس، نمونه‌های جمع‌آوری شده با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه و به‌مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سرم به‌دست آمده در فریزر -۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و در نهایت جهت بررسی سطح سرمی پروتئین آمیلوئید بتا، انسولین و گلوکز خون به آزمایشگاه تشخیص طبی انتقال داده شد [۲۱]. اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ تحلیل شد. تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها توسط آزمون واریانس یک‌طرفه مورد ارزیابی قرار گرفت. هم‌چنین، جهت مقایسه دوه‌دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی Tukey استفاده شد. معیار استنتاج آماری سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

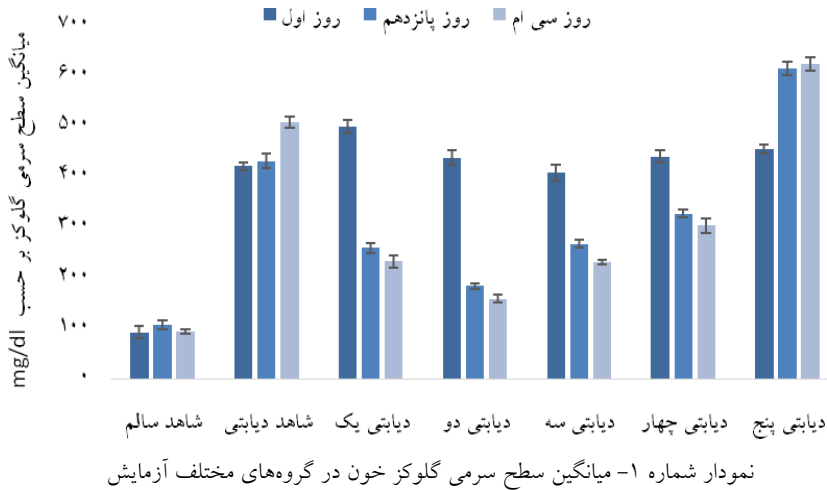
#### نتایج

سطح سرمی گلوکز نمونه‌های شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ در مقایسه با نمونه‌های شاهد سالم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). سطح سرمی گلوکز نمونه‌های گروه دیابتی یک (غلظت ۱۰۰ mg/kg عصاره خیار دریایی)، گروه دیابتی دو (غلظت ۱۰۰ mg/kg عصاره + میدان الکترومغناطیس ۱۰ گاؤس) و گروه دیابتی سه (غلظت ۱۰۰ mg/kg عصاره + میدان

اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است [۲۱]. موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به ۷ گروه (n=۶) شاهد سالم، شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی ۱-۵ تقسیم شدند. گروه‌های شاهد سالم و شاهد دیابتی به‌مدت ۳۰ روز به میزان حجم عصاره تزریقی، آب مقطر استریل را به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. نمونه‌های گروه دیابتی ۱ به‌مدت ۳۰ روز عصاره آبی خیار دریایی را با غلظت ۱۰۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. نمونه‌های گروه دیابتی ۲ به‌مدت ۳۰ روز عصاره آبی خیار دریایی را با غلظت ۱۰۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و روزانه به‌مدت ۶۰ دقیقه در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد ۵۰ هرتز و شدت ۱۰ گاؤس قرار گرفتند. نمونه‌های گروه دیابتی ۳ به‌مدت ۳۰ روز عصاره آبی خیار دریایی را با غلظت ۱۰۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند و روزانه به‌مدت ۶۰ دقیقه در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گاؤس قرار گرفتند. نمونه‌های گروه دیابتی ۴ روزانه به‌مدت ۶۰ دقیقه در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد ۵۰ هرتز و شدت ۱۰ گاؤس قرار گرفتند. نمونه‌های گروه دیابتی ۵ روزانه به‌مدت ۶۰ دقیقه در معرض میدان الکترومغناطیس با بسامد ۵۰ هرتز و شدت ۴۰۰ گاؤس قرار گرفتند. نمونه‌های خیار دریایی با اندازه ۸-۱۲ سانتی‌متر و میانگین وزنی  $53 \pm 6/24$  گرم از سواحل شمالی جزیره قشم در خلیج فارس جمع‌آوری شد و پس از شستشو با آب مقطر در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند. برای تهیه عصاره آبی خیار دریایی ابتدا خیارهای دریایی از مخرج به سمت دهان برش داده شدند و محتویات حفره شکمی آن‌ها خارج گردید. سپس، بافت‌های ماهیچه‌ای به قطعات کوچک برش داده شد. نسبت ۱ میلی-لیتر آب مقطر با ۴ گرم بافت برای مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه همگن‌کننده (Analytik-jena, Germany) قرار داده شد تا بافت همگن شود. سپس، این ترکیب در ظرف استریل ریخته شد و برای مدت یک هفته در تاریکی و در دمای محیط آزمایشگاه روی شیکر قرار گرفت. ترکیب با استفاده از کاغذ واتمن صاف شد. سپس، با استفاده از دستگاه وکیوم تبخیری (Heidolph, Germany) در شرایط خلأ عصاره‌گیری انجام شد و در انتها عصاره در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد به‌منظور حذف کامل حلال قرار داده شد [۲۲]. مدل تجربی دیابت (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی به‌دنبال ۱۶ ساعت ناشتایی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (Sigma-Aldrich, Germany) به میزان ۲۴۰ mg/kg B.W ایجاد شد. هم‌چنین، از بافر سترات به‌عنوان حلال آلوکسان استفاده گردید. تزریق آلوکسان به گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی ۱-۵ صورت گرفت. به‌دلیل اینکه مطالعه بر روی دیابت

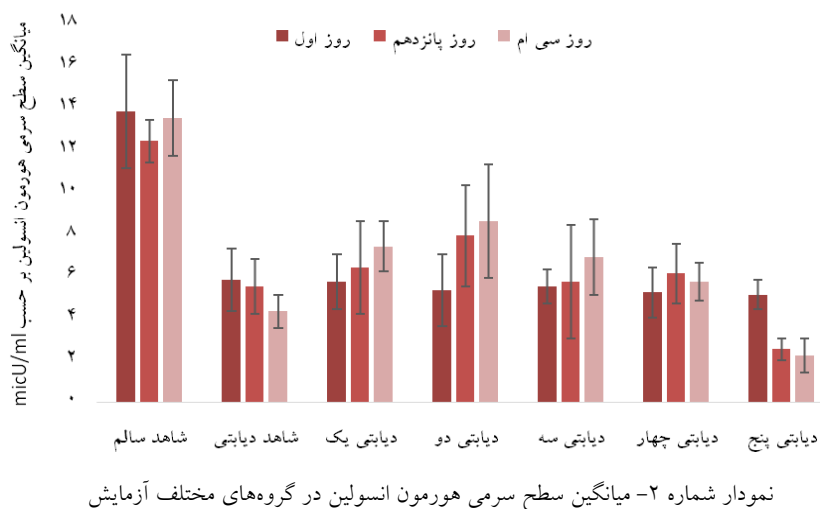
نمونه‌های گروه دیابتی پنج (میدان الکترومغناطیس ۴۰۰ گاؤس) در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ) (نمودار شماره ۱ و جدول شماره ۱).

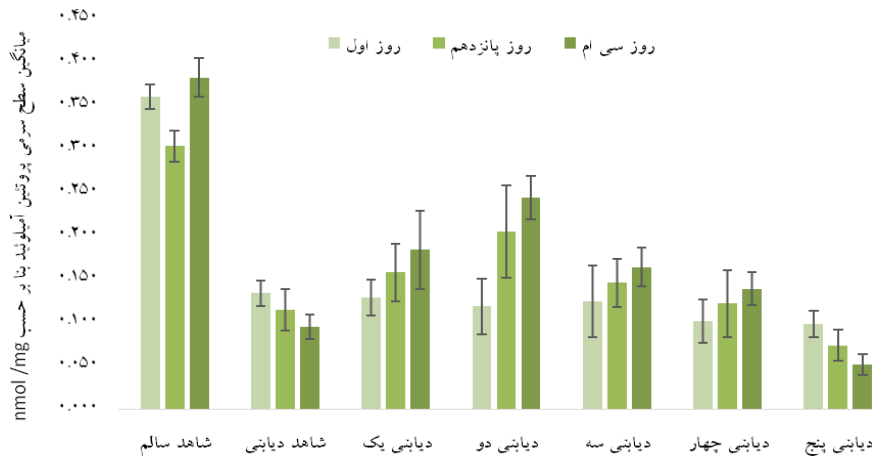
الکترومغناطیس ۴۰۰ گاؤس) در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). بیشترین کاهش در سطح سرمی گلوکز نمونه‌های دیابتی در نتیجه ۳۰ روز تیمار توام عصاره خیار دریایی و میدان الکترومغناطیس ۱۰ گاؤس ایجاد شد. هم‌چنین، سطح سرمی گلوکز



روز ۳۰ افزایش معنی‌داری داشت. بیشترین افزایش در سطح سرمی هورمون انسولین و پروتئین آمیلوئید بتا نمونه‌های دیابتی در نتیجه ۳۰ روز تیمار توام عصاره خیار دریایی و میدان الکترومغناطیس ۱۰ گاؤس ایجاد شد. هم‌چنین، سطح سرمی هورمون انسولین و پروتئین آمیلوئید نمونه‌های گروه دیابتی پنج (میدان الکترومغناطیس ۴۰۰ گاؤس) در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) (نمودارهای شماره ۲ و ۳، جدول شماره ۱).

سطح سرمی هورمون انسولین و پروتئین آمیلوئید بتا نمونه‌های شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ در مقایسه با نمونه‌های شاهد سالم به طور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0.05$ ). سطح سرمی هورمون انسولین و پروتئین آمیلوئید بتا نمونه‌های گروه‌های دیابتی یک و دو در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ در مقایسه با نمونه‌های شاهد دیابتی به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). سطح سرمی هورمون انسولین و پروتئین آمیلوئید بتا در نمونه‌های گروه دیابتی سه در مقایسه با شاهد دیابتی، تنها در





نمودار شماره ۳- میانگین سطح سرمی پروتئین آمیلوئید بتا در گروه‌های مختلف آزمایش

جدول شماره ۱- مقایسه میانگین سطح سرمی گلوکز، هورمون انسولین و پروتئین آمیلوئید بتا در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ به تفکیک گروه

| متغیر                  | روز | شاهد سالم   | شاهد دیابتی | دیابتی ۱ (غلظت ۱۰۰) | دیابتی ۲ (غلظت ۱۰۰+۱۰۰) | دیابتی ۳ (غلظت ۱۰۰+۱۰۰) | دیابتی ۴ (EMF۱۰) | دیابتی ۵ (EMF۴۰۰) |
|------------------------|-----|-------------|-------------|---------------------|-------------------------|-------------------------|------------------|-------------------|
| گلوکز خون (mg/dl)      | ۱   | ۹۳/۵±۱۱/۵   | ۴۲۱±۸/۵     | ۴۹۸/۵±۱۳/۵          | ۴۳۸±۱۴/۵                | ۴۰۷/۵±۱۵/۵              | ۴۴۰/۵±۱۲/۵       | ۴۵۵±۹/۵           |
|                        | ۱۵  | ۱۰۷/۵±۸     | ۴۳۱/۵±۱۴/۵  | ۲۵۹/۵±۱۰/۵          | ۱۸۴/۵±۵/۵               | ۲۶۸±۸/۵                 | ۳۲۷±۷/۵          | ۶۱۴/۵±۱۳          |
|                        | ۳۰  | ۹۴±۴/۵      | ۵۰۸/۵±۱۱    | ۲۳۳/۵±۱۲            | ۱۵۹±۷/۵                 | ۲۳۱/۵±۴                 | ۳۰۴±۱۴/۵         | ۶۲۳/۵±۱۲/۵        |
| انسولین (micU/ml)      | ۱   | ۱۳/۸±۲/۷    | ۵/۸±۱/۵     | ۵/۷±۱/۳             | ۵/۳±۱/۷                 | ۵/۵±۰/۸                 | ۵/۲±۱/۲          | ۵/۱±۰/۷           |
|                        | ۱۵  | ۱۲/۴±۱      | ۵/۵±۱/۳     | ۶/۴±۲/۲             | ۷/۹±۲/۴                 | ۵/۷±۲/۷                 | ۶/۱±۱/۴          | ۲/۵±۰/۵           |
|                        | ۳۰  | ۱۳/۵±۱/۸    | ۴/۳±۰/۸     | ۷/۴±۱/۲             | ۸/۶±۲/۷                 | ۶/۹±۱/۸                 | ۵/۷±۰/۹          | ۲/۲±۰/۸           |
| آمیلوئید بتا (nmol/mg) | ۱   | ۰/۳۵۹±۰/۰۱۴ | ۰/۱۳۳±۰/۰۱۵ | ۰/۱۲۸±۰/۰۲۱         | ۰/۱۱۸±۰/۰۳۲             | ۰/۱۲۴±۰/۰۴۱             | ۰/۱۰۱±۰/۰۲۵      | ۰/۰۹۸±۰/۰۱۵       |
|                        | ۱۵  | ۰/۳۰۲±۰/۰۱۸ | ۰/۱۱۴±۰/۰۲۴ | ۰/۱۵۷±۰/۰۳۳         | ۰/۲۰۴±۰/۰۵۳             | ۰/۱۴۵±۰/۰۲۸             | ۰/۱۲۱±۰/۰۳۸      | ۰/۰۷۳±۰/۰۱۸       |
|                        | ۳۰  | ۰/۳۸۱±۰/۰۲۲ | ۰/۰۹۴±۰/۰۱۴ | ۰/۱۸۳±۰/۰۴۵         | ۰/۲۴۳±۰/۰۲۵             | ۰/۱۶۳±۰/۰۲۲             | ۰/۱۳۸±۰/۰۱۹      | ۰/۰۵۱±۰/۰۱۲       |

(n=۹): داده‌ها به صورت  $\bar{X} \pm SD$  می‌باشند؛ a:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه شاهد سالم. b:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه شاهد دیابتی. c:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه دیابتی ۱. d:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه دیابتی ۲. e:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه دیابتی ۳. f:  $P < 0.05$  در مقایسه با گروه دیابتی ۴.

### بحث

دیابت می‌تواند سبب کنترل شاخص‌های گلیسمی شود [۲۵]. در بیماران مبتلا به دیابت در نتیجه افزایش سطح گلوکز خون و اختلافات متابولیسمی مربوط به آن، حالت استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود. هم‌چنین، تعادل میان آنتی‌اکسیدان‌ها و رادیکال‌های آزاد از بین می‌رود و هیپرگلیسمی از چند مسیر باعث افزایش استرس اکسیداتیو و افزایش تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود [۲۶]. مشخص شده است بسیاری از پروتئین‌ها با تخریب رادیکال‌های آزاد موجب به تعادل رسیدن سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شوند. باتوجه به اینکه خیار دریایی منبعی غنی از انواع مختلف پروتئین‌ها می‌باشد [۲۷]. مهار مسیرهای استرس اکسیداتیو و کاهش قند خون را می‌توان به ترکیبات پروتئینی آن نسبت داد. هم‌چنین، گزارش شده است ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در خیار دریایی از طریق

در پژوهش حاضر اثر عصاره آبی خیار دریایی توام با میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر سطح سرمی گلوکز، انسولین و پروتئین آمیلوئید بتا مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد عصاره خیار دریایی با غلظت ۱۰۰ mg/kg موجب کاهش معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز خون در نمونه‌های دیابتی می‌شود. گزارش شده است خیار دریایی دارای سطح بالایی از ویتامین‌های  $B_1$ ,  $B_2$ ,  $B_3$  و A و D می‌باشد [۱۵]. نشان داده شده است مصرف ویتامین D به مدت ۴ ماه سبب بهبود عملکرد سلول‌های بتای پانکراس، افزایش ترشح انسولین و بهبود سطح سرمی قند خون در بیماران دیابتی می‌شود [۲۴]. هم‌چنین گزارش شده است تجویز ۸ هفته ویتامین D به افراد مبتلا به

نتایج در کاربرد توام میدان الکترومغناطیس در شدت ۱۰ گاؤس تشدید شد. هم‌چنین، میدان الکترومغناطیس در شدت ۴۰۰ گاؤس موجب کاهش شدید سطح سرمی آمیلوئید بتا در نمونه‌های دیابتی گردید. مطالعات انجام شده روی سطح سرمی پروتئین آمیلوئید بتا در بیماران دیابتی نتایج متناقضی را نشان می‌دهد؛ برخی از پژوهش‌ها کاهش، برخی دیگر افزایش و برخی دیگر عدم تغییر پروتئین آمیلوئید بتا بیماران دیابتی را نسبت به افراد سالم گزارش کرده‌اند. در راستای نتایج پژوهش حاضر گزارش شده است هنگامی که سطوح تام آمیلوئید بتا مغز افزایش می‌یابد (نشان‌دهنده افزایش تولید پلاک‌های آمیلوئیدی)، سطح سرمی و مایع مغزی نخاعی آن به‌صورت هم‌زمان کاهش می‌یابد. بیان احتمالی برای چنین الگوی معکوسی در سطوح آمیلوئید بتای مغز و سرم خون (کاهش در پلاسما و افزایش در مغز)، شامل مکانیسم‌های پاکسازی و فعالیت آنزیم‌های تخریب‌کننده آمیلوئید بتا می‌باشد که با ابتلا به دیابت کاهش می‌یابند و در نتیجه به تجمع آن در مغز منتج می‌شوند [۳۶،۳۵]. بنابراین، یافته تحقیق حاضر با سایر تحقیقات صورت گرفته در این زمینه هم‌سو می‌باشد. از طرف دیگر، پروتئین آمیلوئید بتا نیز به‌طور فعال از خون به سمت مغز توسط گیرنده فرآورده نهایی گلیکاسیون پیشرفته (Receptor for advanced glycation end-products: RAGE) و از مغز به سمت خون توسط پروتئین مرتبط با گیرنده لیپوپروتئینی (Low-density lipoprotein receptor related protein: LRP) و نیز گلیکو-پروتئین P- (P-glycoprotein: P-gp) منتقل می‌شود، اما در سد خونی مغزی نمونه‌های دیابتی RAGE تنظیم مثبت و LRP و P-gp تنظیم منفی می‌شوند. این موضوع می‌تواند منجر به کاهش پاکسازی و انتقال به خارج از مغز پروتئین آمیلوئید بتا توسط LRP و P-gp و افزایش انتقال پروتئین آمیلوئید بتا به درون مغز توسط RAGE شود که در نتیجه افزایش بیشتر رسوب پروتئین آمیلوئید بتا در مغز و کاهش آن در پلاسما را در پی خواهد داشت [۳۸،۳۷]. با توجه به این سازوکار، به‌نظر می‌رسد که عصاره خیار دریایی به‌دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و نقش این ترکیبات در کاهش عوارض دیابت توانسته است این الگو را در سد خونی مغزی معکوس نموده و در نتیجه منجر به افزایش پاکسازی آمیلوئید بتا از مغز به سمت خون و کاهش انتشار این پروتئین از خون به سمت مغز شود. بنابراین می‌توان گفت که بیشترین افزایش پلاسمایی آمیلوئید بتا در نمونه‌های دیابتی تیمار شده با عصاره خیار دریایی توام با میدان الکترومغناطیس با شدت ۱۰ گاؤس احتمالاً ناشی از کاهش تجمع و افزایش پاکسازی این پروتئین در مغز می‌باشد. نقص در پاسخ به انسولین مقدمه‌گسترش

افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گلوکاتیون، سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و کاهش پراکسیداسیون لیپیدی با مهار شرایط استرس اکسیداتیو منجر به افزایش تقسیمات سلولی، افزایش قدرت ترمیم و در نهایت منجر به بهبود عوارض ناشی از دیابت می‌شود [۲۸]. تجویز پلی‌ساکاریدهای جداسازی شده از خیار دریایی به نمونه‌های دیابتی موجب افزایش معنی‌داری در سطح سرمی HDL-C و کاهش معنی‌داری در کلسترول تام، تری‌گلیسرید، LDL-C و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود [۲۹]. افزایش ترشح انسولین در بیماران دیابتی نوع یک، رابطه مستقیم با فرایند ترمیم و هیپرتروفی سلول‌های بتای پانکراس دارد. لذا، ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره خیار دریایی احتمالاً از طریق کاهش دادن سطح محصولات نهایی گلیکوزیلاسیون می‌تواند موجب کاهش استرس اکسیداتیو و کاهش رادیکال‌های آزاد سطح سلول‌های بتا شده و به آن اجازه ترمیم دهند. هم‌چنین، احتمالاً می‌تواند موجب هیپرتروفی سلول‌های بتای باقی مانده شده و سطح سرمی انسولین را در نمونه‌های دیابتی افزایش دهد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر میدان الکترومغناطیس در شدت ۱۰ گاؤس موجب کاهش و در شدت ۴۰۰ گاؤس موجب افزایش شدید سطح سرمی قند خون در نمونه‌های دیابتی شد. بر اساس برخی گزارشات منتشر شده میدان‌های الکترومغناطیسی در شدت‌های بالا موجب کاهش وزن و افزایش قند خون موش‌های آزمایشگاهی می‌شود [۳۰]. سایر تحقیقات نشان داده‌اند میدان الکترومغناطیس ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ تسلا به‌مدت یک ساعت در روز باعث افزایش گلوکز و کاهش انسولین خون موش آزمایشگاهی می‌شود [۳۱]. نشان داده شده است که مواجهه طولانی‌مدت با میدان الکترومغناطیس با شدت‌های پایین سبب تغییر بسیاری از پارامترهای متابولیسمی موش صحرائی نظیر کاهش گلوکز و اسیدهای چرب می‌شود [۳۲]. در مطالعه‌ای کوچک‌های هندی را در معرض میدان الکترومغناطیس با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت میدان ۰/۰۱۳ و ۰/۲۰۷ میکروتسلا روزانه به‌مدت ۲ تا ۴ ساعت قرار دادند که نتیجه آن کاهش معنی‌دار میزان گلوکز خون بود [۳۳]. مطالعه‌ای اثر شدت‌های بالای میدان الکترو-مغناطیس ۵۰ هرتز بر روی مقدار هورمون ACTH، گلوکز، لاکتات و پیرووات را در موش‌های تحت استرس مورد بررسی قرار داد. مشاهده شد میزان ACTH و به‌ویژه گلوکز افزایش می‌یابد [۳۴]. مطالعه حاضر برای اولین بار تاثیر عصاره خیار دریایی توام با میدان الکترومغناطیس با بسامد پایین بر سطح سرمی پروتئین آمیلوئید بتا را روی نمونه‌های دیابتی مورد بررسی قرار داده است. بر اساس نتایج به‌دست آمده تجویز داخل صفاقی عصاره خیار دریایی موجب افزایش سطح سرمی آمیلوئید بتا می‌شود. این

تغییر در نفوذپذیری آن معرفی می‌کنند [۱۷]. بنابراین، می‌توان گفت شدت ۴۰۰ گاؤس میدان الکترومغناطیس از یک طرف با تخریب سلول‌های بتای باقی مانده منجر به کاهش شدید انسولین شده و از طرف دیگر با تغییر نفوذپذیری و ساختمان غشای سلولی در ناحیه سد خونی مغزی منجر به کاهش پاکسازی و کاهش انتقال به خارج از مغز پروتئین آمیلوئید بتا شده است. با این حال، به دلیل تازگی موضوع، مطالعات بیشتری در مورد تأثیر عصاره خیار دریایی و ترکیبات آن توام با میدان‌های الکترومغناطیس با بسامد پایین بر سطوح مغزی و پلاسمایی پروتئین آمیلوئید بتا نمونه‌های سالم و دیابتی و نیز مکانسیم‌های درگیر در تغییرات این شاخص باید انجام شود.

#### نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج به دست آمده تجویز عصاره خیار دریایی موجب بهبود سطح سرمی انسولین، گلوکز و افزایش سطح سرمی پروتئین آمیلوئید بتا در نمونه‌های دیابتی می‌شود. همچنین، این اثرات در کاربرد توام آن با میدان الکترومغناطیس ۱۰ گاؤس تشدید می‌شود. میدان الکترومغناطیس ۴۰۰ گاؤس موجب کاهش شدید انسولین، پروتئین آمیلوئید بتا و افزایش گلوکز در مقایسه با شاهد دیابتی می‌شود.

#### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان مقاله از باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان دانشگاه آزاد اسلامی، به ویژه هیات تحریریه مجله وزین علمی دانشگاه علوم پزشکی کاشان (فیض) و نیز داوران محترم مقاله که نقطه نظرهای آنها نقش ارزشمندی در ارتقاء کیفیت مقاله داشته است، سپاسگزاری و قدردانی می‌نمایند.

#### References:

- [1] Pop-Busuil R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22(4): 257-73.
- [2] Querfurth HW, LaFerla FM. Alzheimer's disease. *N Engl J Med* 2010; 362(4): 329-44.
- [3] Sisodia SS, Price DL. Role of the beta-amyloid protein in Alzheimer's disease. *FASEB J* 1995; 9(5): 366-70.
- [4] Funder VH. Alzheimer's disease: A general introduction and pathomechanism. *J Alzheimers Dis* 2010; 22 Suppl 3: 5-19.
- [5] Morley JE, Farr SA. The role of amyloid-beta in the regulation of memory. *Biochem Pharmacol* 2014; 88(4): 479-85.
- [6] Abbasowa L, Heegaard NH. A systematic review of amyloid- $\beta$  peptides as putative mediators

of the association between affective disorders and Alzheimer's disease. *J Affect Disord* 2014; 168: 167-83.

به انسولین باشد. کاهش پاسخ به انسولین با افزایش سطوح پروتئین آمیلوئید بتا مرتبط است. به عبارت دیگر، سطوح پروتئین آمیلوئید بتا در مغز موش‌های دیابتی به طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. هم-چنین مشخص شده است که آنزیم تجزیه کننده انسولین ( Insulin degrading enzyme: IDE) می‌تواند پروتئین آمیلوئید بتا را تجزیه کند. کمبود انسولین و مقاومت انسولینی ممکن است به کاهش بیان IDE کمک کرده و افزایش سطوح پروتئین آمیلوئید بتا را در مغز در پی خواهد داشت و در نتیجه موجب کاهش سطح پلاسمایی آمیلوئید بتا شود [۳۹]. در نتیجه یافته‌های تحقیق حاضر با نتایج تحقیقاتی که افزایش سطوح آمیلوئید بتا را در پلاسمای خون گزارش کرده‌اند هم‌سو می‌باشد. همچنین، افزایش سطح پلاسمایی پروتئین آمیلوئید بتا در نتیجه تزریق عصاره خیار دریایی توام با میدان الکترومغناطیس ۱۰ گاؤس را می‌توان با توجه به مطالب فوق تفسیر نمود. در این پژوهش مشخص شد میدان الکترومغناطیس با شدت ۱۰ و ۴۰۰ گاؤس اثرات متفاوتی روی سطح سرمی پروتئین آمیلوئید بتا دارد. شدت ۱۰ گاؤس منجر به افزایش و شدت ۴۰۰ گاؤس موجب کاهش شدید در سطح پلاسمایی پروتئین آمیلوئید بتا شد. همچنین، مشخص شد اثراتی که این تشعشعات می‌توانند اعمال کنند با مدت قرارگیری در معرض آنها رابطه کاملاً مستقیم دارد. تاکنون گزارشی مبنی بر اثرات میدان‌های الکترومغناطیس بر سطح سرمی پروتئین آمیلوئید مشاهده نشده است. میدان‌های الکترومغناطیس در شدت‌های بالا، غلظت رادیکال‌های آزاد درون سلولی را افزایش می‌دهند و به طور غیرمستقیم سبب آسیب DNA و در نهایت موجب تخریب سلول‌ها می‌شوند. همچنین، برخی محققین تأثیر میدان‌های الکترومغناطیس در شدت‌های بالا را به-جای تخریب DNA، تأثیر بر ساختار آنزیم‌های غشاء سلولی و

- of the association between affective disorders and Alzheimer's disease. *J Affect Disord* 2014; 168: 167-83.
- [7] Shelat PhB, Chalimoniuk M, Wang JH, Strosznajder JB, Lee JC, Albert Y, et al. Amyloid beta peptide and NMDA induce ROS from NADPH oxidase and AA release from cytosolic phospholipase A2 in cortical neurons. *J Neurochem* 2008; 106(1): 45-55.
- [8] Gasparini L, Xu H. Potential roles of insulin and IGF-1 in Alzheimer's disease. *Trends Neurosci* 2003; 26(8): 404-6.
- [9] Alafuzoff I, Aho L, Helisalms S, Mannerman A, Soininen H. Betaamyloid deposition in brains of subjects with diabetes. *Neuropathol Appl Neurobiol* 2007; 35(1): 60-8.

- [10] Planel E, Tatebayashi Y, Miyasaka T, Liu L, Wang L, Herman M, et al. Insulin dysfunction induces in vivo tau hyperphosphorylation through distinct mechanisms. *J Neurosci* 2007; 27(50): 13635-48.
- [11] Moroz N, Tong M, Longato L, Xu H, de la Monte SM. Limited Alzheimer-type neurodegeneration in experimental obesity and type 2 diabetes mellitus. *J Alzheimers Dis* 2008; 15(1): 29-44.
- [12] Ho L, Qin W, Pompl PN, Xiang Z, Wang J, Zhao Z, et al. Diet-induced insulin resistance promotes amyloidosis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease. *FASEB J* 2004; 18(7): 902-4.
- [13] Li ZG, Zhang W, Sima AA. Alzheimer-like changes in rat models of spontaneous diabetes. *Diabetes* 2007; 56(7): 1817-24.
- [14] Wen J, Hu C, Fan S. Chemical composition and nutritional quality of Sea cucumber. *J Sci Food Agric* 2010; 90(14): 2469-74.
- [15] Bordbar S, Anwar F, Saari N. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Foods. *Marine Drugs* 2011; 9(10): 1761-805.
- [16] Sugawara T, Zaima N, Yamamoto A, Sakai S, Noguchi R, Hirata T. Isolation of sphingoid bases of sea cucumber cerebroside and their cytotoxicity against human colon cancer cells. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70(12): 2906-12.
- [17] Baharara J, Zahedifar Z. The effect of low-frequency electromagnetic fields on some biological activities of animals. *Arak Med Univ J* 2012; 15(66): 80-93. [in Persian]
- [18] White JA, Blackmore PF, Schoenbach KH, Beebe SJ. Stimulation of capacitive calcium entry in HL-60 cells by nanosecond pulsed electric fields. *J Biol Chem* 2004; 279(22): 22964-72.
- [19] Baharara J, Haddad F, Ashraf AR, Moghaddam S, Abbaspour R. The Antioxidant Effect of Vitamin C on Decreasing the Induced Chromosomal Damages by Low-Frequency Electromagnetic Field on Bone Marrow Erythrocytes of Male Balb/C Mouse. *JCT* 2012; 3(1): 65-72. [in Persian]
- [20] Sadooghi SD. Investigating the Effects of Low Frequency Electromagnetic Field on Wound Healing in Diabetic Rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(3): 207-22. [in Persian]
- [21] Rahbarian R, Sadooghi SD. Investigating the effects of aqueous extract of *asafoetida* resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. *J Shahrekord Univ Med Sci* 2014; 16(3): 16-21. [in Persian]
- [22] Baharara J, Amini E, Namvar F, Soltani M. The Effect of Persian Gulf Sea Cucumber Alcoholic Extract on Osteogenic and Adipogenic Differentiation of Rat Mesenchymal Stem Cells. *JCT* 2014; 5(3): 273-80. [in Persian]
- [23] Sadoughi D, Zafar Balanzhad S, Baharara J, Nezhad Shahrokh Abadi K. Investigating the Synergic Effects of Ethanolic Extract of *Allium sativum* L and Electromagnetic Field with Low Frequency on Angiogenesis in Chick Chorioallantoic Membrane (In Vivo). *JSSU* 2013; 21(4): 493-504. [in Persian]
- [24] Tai K, Need AG, Horowitz M, Chapman LM. Vitamin D, glucose, insulin, and insulin sensitivity. *Nutrition* 2008; 24(3): 279-85.
- [25] Baziari N, Djafarian K, Shadman Z, Qorbani M, Khoshniat Nikoo M, Razi F. Effect of vitamin d supplementation on improving vitamin d levels and insulin resistance in vitamin D insufficient or deficient type2 diabetics. *Iran J Diabetes Metab* 2014; 13(5): 425-33.
- [26] Lamb RE, Goldstein BJ. Modulating an oxidative inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance and vascular function. *Int J Clin Pract* 2008; 62(7): 1087-95.
- [27] Xue Z, Li H, Wang X, Li X, Liu Y, Sun J, et al. A review of the immune molecules in the sea cucumber. *Fish Shellfish Immun* 2015; 44(1): 1-11.
- [28] Mamelona J, Pelletier E, Girard-Lalancette K, Legault J, Karboune S, Kermasha S. Quantification of phenolic contents and antioxidant capacity of Atlantic sea cucumber, *Cucumaria frondosa*. *Food Chemistry* 2007; 104(3): 1040-7.
- [29] Liu X, Sun Z, Zhang M, Meng X, Xia X, Yuan W, et al. Antioxidant and antihyperlipidemic activities of polysaccharides from sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Carbohydrate Polymers* 2012; 90(4): 1664-70.
- [30] Elferchichi M, Mercier J, Coisy-Quivy M, Metz L, Lajoix AD, Gross R, et al. Effects of Exposure to a 128-mT Static Magnetic Field on Glucose and Lipid Metabolism in Serum and Skeletal Muscle of Rats. *Arch Med Res* 2010; 41(5): 309-14.
- [31] Groczynska E, Wegrzynowicz R. Glucose homeostasis in rats exposed to magnetic field. *Investigative Radiol* 1991; 26(12): 1095-0.
- [32] Gerardi G, De Ninno A, Prosdociami M, Ferrari V, Barbaro F, Mazzariol S, et al. Effect of electromagnetic fields of low frequency and low intensity on rat metabolism. *Biomagn Res Technol* 2008; 1(6): 3-7.
- [33] Zare S, Hayatgeibi H, Alivandi S. Effect of whole-body Magnetic Field on changes of Glucose and cortisol Hormone in Guinea Pigs. *Am J Biochem Biotechnol* 2005; 1(4): 217-9.
- [34] Harakawa S, Takahashi I, Doge F, Martin DE. Effect of a 50 HZ electric field on plasma ACTH, glucose, lactate, and pyruvate levels in stressed rats. *Bioelectromagnetics* 2004; 25(5): 346-51.
- [35] Jolivald CG, Lee CA, Beiswenger KK, Smith JL, Orlov M, Torrance MA, et al. Defective insulin signaling pathway and increased glycogen synthase kinase-3 activity in the brain of diabetic mice:

parallels with alzheimer's disease and correction by insulin. *J Neurosci Res* 2008; 86(15): 3265-74.

[36] Jolivald CG, Hurford R, Lee CA, Dumaop W, Rockenstein E, Masliah E. Type1 diabetes exaggerates features of Alzheimer's disease in APP transgenic mice. *Exp Neurol* 2010; 223(2): 422-31.

[37] Liu Y, Liu H, Yang J, Liu X, Lu S, Wen T, et al. Increased amyloid  $\beta$  -peptide (1-40) level in brain of streptozotocin-Induced diabetic rats.

*Neuroscience* 2008; 153(3): 796-802.

[38] Liu LP, Hong H, Liao JM, Wang TS, Wu J, Chen SS, et al. Upregulation of RAGE at the blood-brain barrier in streptozotocin-induced diabetic mice. *Synapse* 2009; 63(8): 636-42.

[39] Jolivald CG, Hurford R, Lee CA, Dumaop W, Rockenstein E, Masliah E. Type 1 diabetes exaggerates features of Alzheimer's disease in APP transgenic mice. *Exp Neurol* 2010; 223(2): 422-31.