

The effect of aqueous extract of *Launaea acanthodes* (Boiss.) O. Kuntze on the serum levels of insulin and blood glucose and histomorphological changes of pancreas in diabetic rats

Sepehri-Moghadam H¹, Rahbarian R², Sadoughi SD^{2*}

1- Department of Agriculture, Payame-Noor University, I. R. Iran.

2- Department of Biology, Payame-Noor University, I. R. Iran.

Received September 17, 2014; Accepted February 19, 2015

Abstract:

Background: Diabetes is a metabolic disorder that appears by hyperglycemia resulting from defects in insulin secretion and pancreatic function. Considering the properties of the *Launaea acanthodes*, this study aimed to examine the effects of this plant on serum level of insulin and blood glucose and histomorphological changes of pancreas in diabetic rats.

Materials and Methods: In this study, 27 male rats were allocated into the equal groups of control, diabetic control and experimental diabetic. The diabetes in diabetic control and experimental diabetic groups was induced using an intraperitoneal injection of alloxan. The experimental diabetic group received the aqueous extract of *L. acanthodes* (300 mg/kg, ip) in alternate days for one month. Sterile distilled water was injected to the animals of control and diabetic control groups. The serum levels of insulin and blood glucose were measured on days 1, 15 and 30. Histological studies were performed to determine the number and diameter of the pancreatic islets.

Results: On days 15 and 30 of the experiment, injection of the *L. acanthodes* extract caused a significant decrease and increase in the serum level of glucose and insulin, respectively compared to the control group ($P < 0.05$). Moreover, the mean number and diameter of pancreatic islets were significantly increased in the diabetic experimental compared to the diabetic control group ($P < 0.05$).

Conclusion: The extract of *L. acanthodes* can increase the serum insulin and the mean number and diameter of pancreatic islets and decrease the blood glucose in diabetic rats.

Keywords: *Launaea acanthodes*, Diabetes, Pancreas, Insulin, Glucose

* Corresponding Author.

Email: Damoon.sadoughi@gmail.com

Tel: 0098 915 302 6313

Fax: 0098 51 3501 3950

Conflict of Interests: No

Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, April, 2015; Vol. 19, No 1, Pages 30-37

Please cite this article as: Sepehri-Moghadam H, Rahbarian R, Sadoughi SD. The effect of aqueous extract of *Launaea acanthodes* (Boiss.) O. Kuntze on the serum level of insulin and blood glucose and histomorphological changes of pancreas in diabetic rats. *Feyz* 2015; 19(1): 30-7.

بررسی اثر عصاره‌ی آبی گیاه چرخه (*Launaea acanthodes* (Boiss.) O. Kuntze) بر سطح سرمی انسولین و گلوکز خون و تغییرات هیستومورفولوژی پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی

حشمت سپهری مقدم^۱، راهله رهباریان^۲، سید دامون صدوقی^{۳*}

خلاصه:

سابقه و هدف: دیابت یک ناهنجاری متابولیکی است که با هیپرگلیسمی ناشی از نقص در ترشح انسولین و اختلال در عملکرد پانکراس نمایان می‌شود. باتوجه به خواص دارویی گیاه چرخه، این پژوهش با هدف بررسی اثرات آن بر سطح سرمی انسولین و گلوکز خون و تغییرات هیستومورفولوژی پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۲۷ سر موش صحرایی نر به گروه‌های مساوی شاهد، شاهد دیابتی و تجربی دیابتی تقسیم شدند. گروه‌های شاهد دیابتی و تجربی دیابتی، با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوسان دیابتی شدند. گروه تجربی دیابتی یک روز در میان و به مدت یک‌ماه، عصاره آبی چرخه را به صورت داخل صفاقی و با غلظت ۳۰۰ mg/kg دریافت نمودند. به گروه‌های شاهد و شاهد دیابتی آب مقطر استریل تزریق شد. سطح سرمی انسولین و گلوکز خون در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ اندازه‌گیری شد. مطالعات بافتی نیز به منظور تعیین تعداد و قطر جزایر لانگرهانس پانکراس انجام شد.

نتایج: در روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش تزریق عصاره‌ی چرخه موجب کاهش معنی‌داری در سطح سرمی گلوکز و افزایش معنی‌داری در سطح سرمی انسولین نسبت به گروه شاهد دیابتی شد ($P < 0.05$). هم‌چنین، میانگین تعداد و قطر جزایر لانگرهانس در گروه تجربی دیابتی نسبت به گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره‌ی گیاه چرخه موجب افزایش انسولین و کاهش گلوکز خون و نیز افزایش میانگین تعداد و قطر جزایر لانگرهانس در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود.

واژگان کلیدی: چرخه، دیابت، پانکراس، انسولین، گلوکز

دو ماه‌نامه علمی-پژوهشی فیض، دوره نوزدهم، شماره ۱، فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۴، صفحات ۳۷-۳۰

مقدمه

هرچند که در حال حاضر درمان اصلی و مؤثر برای حالت دیابت قندی استفاده از انسولین و عوامل کاهنده قند خون می‌باشد، ولی این ترکیبات دارای عوارض نامطلوب متعددی هستند [۲]. امروزه مشخص شده است که دیابت موجب افزایش رادیکال‌های آزاد در سطح سیتوپلاسم سلولی می‌شوند. هم‌چنین، شدت آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد به میزان آن‌ها، طول دوره مجاورت و به نوع آن‌ها بستگی دارد [۳]. مهم‌ترین رادیکال‌های آزاد شامل آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و هیدروکسیل است و به‌طور معمول طی متابولیسم اکسیژن تولید می‌گردد. این ترکیبات به‌دلیل داشتن الکترون تک، بسیار واکنش‌پذیرند و تولید مقادیر بیش از حد آن‌ها موجب آسیب به ماکرومولکول‌هایی نظیر DNA و پروتئین‌ها می‌شود [۳]. شواهد دیگر حکایت از نقش استرس اکسیداتیو و به‌دنبال آن تولید رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی دارد. مشخص شده است که هیپرگلیسمی با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species; ROS) منجر به تنش‌های شدید اکسیداتیو در سلول‌ها می‌شود [۴]. امروزه محققان درصددند که با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی تا حدودی از آسیب وارده به سلول‌ها در اثر استرس اکسیداتیو ایجاد شده ناشی

دیابت قندی (وابسته به انسولین) از نظر بالینی یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای برخی اختلالات نظیر نفروپاتی، رتینوپاتی، نوروپاتی و بیماری‌های قلبی عروقی محسوب می‌شود. کاهش ترشح انسولین از سلول‌های بتای پانکراس یا کاهش حساسیت سلول‌های هدف به انسولین و یا هر دو منجر به افزایش گلوکز خون می‌گردد [۱]. در این بیماری سیستمیک، تعداد زیادی از دستگاه‌های بدن درگیر می‌شود و عوارض زودرس و دیررس فراوانی به‌همراه دارد. بر اساس پیش‌بینی‌های به‌عمل آمده، شیوع آن در جامعه انسانی در آینده افزایش خواهد یافت.

^۱ استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران

^۲ استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

^۳ مربی، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ایران

* نشانی نویسنده مسئول:

مشهد، دانشگاه پیام نور، گروه زیست‌شناسی

دوره‌نویس: ۰۵۱ ۳۵۰ ۱۳۹۵۰

تلفن: ۰۹۱۵ ۳۰۲۶۳۱۳

پست الکترونیک: Damoon.sadughi@gmail.com

تاریخ پذیرش نهایی: ۹۳/۱۱/۳۰

تاریخ دریافت: ۹۳/۶/۲۶

از دیابت جلوگیری کنند. مطالعات نشان داده‌اند که آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به کاهش قطعه قطعه شدن DNA در اثر استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت می‌شوند [۵]. کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها، لیکوپن و ویتامین‌های C، A و E از آنتی‌اکسیدانی‌های مهم رژیم غذایی هستند. بتا کاروتن نوعی کاروتنوئید است که منجر به حفظ غشای پلاسمایی در برابر پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد. هم‌چنین، ویتامین E آنتی‌اکسیدان شکننده زنجیره اکسیداسیون می‌باشد و هر سه نوع رادیکال آزاد سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و هیدرو-کسیل را به‌طور مستقیم می‌شکند. و به‌نظر می‌رسد اثرات آن وابسته به سطوح مصرف می‌باشد [۶]. ویتامین C یکی از آنتی-اکسیدان‌های مهم داخل و خارج سلولی است. این ویتامین می‌تواند رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و هیدروکسیل را خنثی کرده، مانع از پراکسیداسیون لیپیدها شده، و DNA را در برابر رادیکال H_2O_2 محافظت نماید. مشخص شده است که مصرف ویتامین‌های C، A و E به‌صورت خوراکی منجر به بهبود سطح پلاسمایی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در بیماران دیابتی می‌شود [۷]. گزارشات زیادی نشان می‌دهند گیاهان دارای ترکیبات آنتی-اکسیدان فراوان از جمله انواع مختلف ویتامین‌ها، کاروتنوئیدها و فنول‌ها (اسیدهای فنلی، فلاونوئیدها و تانن‌ها) می‌باشند. این ترکیبات می‌توانند از طریق کاهش ترکیبات اکسیدان سطح سلولی، موجب کاهش خطرات ناشی از دیابت و تا حدودی کاهش سطح سرمی قند خون شوند [۸]. گیاه چرخه از خانواده Asteraceae با نام علمی *Launaea acanthodes* (Boiss.) O. Kuntze است و به نام‌های چرخان، چرخک یا شکر لوله شناخته می‌شود. چرخه گیاهی است چند ساله، بوته‌ای و بیابانی با شاخک‌های انبوه، ساقه-ای بدون کرک، منشعب و شیرابه‌ای سفید رنگ که در اثر ماندن حالت شیشه‌ای و رنگ زرد پیدا می‌کند. این گیاه با نام بومی مقل و ملک‌ازرق در نقاط خشک و بیابانی ایران از جمله استان‌های مرکزی، نظیر یزد، اصفهان، سمنان، تهران، قم، کرمان و خراسان می‌روید. ساقه این گیاه در بین اهالی مناطق کویری به‌عنوان یک داروی گیاهی مؤثر در درمان بسیاری از بیماری‌ها نظیر صرع، ناراحتی عصبی، دردهای موضعی و مفصلی، اختلالات معده‌ای-روده‌ای، دیابت و کاهش قند خون استفاده می‌شود [۹]. در عصاره این گیاه ترکیباتی از قبیل فلاونوئید، ترپنوئید، ساپونین، آلکالوئید، تانن، پلی‌ساکارید و منوساکاریدهایی نظیر آرابینوز، مانوز و مشتقات گلوکوروئیک اسید نیز شناسایی شده است [۱۰]. از عصاره ساقه گیاه چرخه ترکیبات فلاونوئیدی تخلیص شده است. با توجه به اینکه فلاونوئیدها به‌عنوان آنتی‌اکسیدان قادر به کاهش سطح رادیکال‌های آزاد سلولی هستند، می‌توان از آن‌ها در کاهش

اثرات مخرب دیابت و افزایش فعالیت سلول‌های بتای پانکراس استفاده نمود [۱۱]. گونه *Launaea nudicaulis* موجب کاهش قند خون می‌شود. این اثرات به وجود نوعی گلیکوزید به نام بنگالوزید نسبت داده شده است. هم‌چنین، در طب سنتی از گونه *Launaea escensarbor* برای درمان دیابت استفاده می‌شود [۹]. مطالعات گویای اثر عصاره‌ی اتانولی گونه *Launaea aca-nthodes* با غلظت ۱۵۰ mg/kg در کاهش قند خون موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوسین می‌باشد [۱۲]. آلوکسان معمولاً در پژوهش‌های آزمایشگاهی جهت القاء دیابت تجربی استفاده می‌شود. این ترکیب منجر به افزایش کلسیم آزاد سیتوزول سلول‌های بتای پانکراس شده و احتمال می‌رود نقش دیابت‌زایی آن با میزان کلسیم داخل سیتوزول ارتباط داشته باشد [۱۳]. رادیکال-های آزاد اکسیژن باعث فراگماتاسیون DNA گردیده و با وارد شدن آسیب به DNA و تجزیه آنزیم پلی‌آدنوزین دی‌فسفات ریبوز پلیمراز (PARP) به دو جزء ۸۹ و ۲۴ کیلودالتون، سلول نمی‌تواند وارد مسیر ترمیم DNA شده، بنابراین وارد مسیر آپوپتوز می‌شود. از طرف دیگر، افزایش میزان کلسیم سیتوزول می‌تواند با تاثیر بر پتانسیل نفوذپذیری غشاء میتوکندری‌ها و خروج سیتوکروم C منجر به القاء آپوپتوز و تخریب سلول‌های بتای پانکراس در نتیجه کاهش شدید ترشح انسولین و در نهایت افزایش قند خون شود [۱۴]. با توجه به ترکیبات آنتی‌اکسیدانی گیاه چرخه این پژوهش با هدف بررسی اثر عصاره‌ی آبی گیاه چرخه بر سطح سرمی انسولین و گلوکز خون و تغییرات هیستومورفولوژی پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی شده با آلوکسان انجام شد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش یک مطالعه تجربی آزمایشگاهی است که در آزمایشگاه تحقیقاتی جانوری گروه کشاورزی و زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور در سال ۱۳۹۳ انجام شد.

جمع‌آوری گیاه چرخه

اندام هوایی گیاه چرخه در حد فاصل جاده مشهد به نیشابور در موقیت جغرافیایی ۳۵ تا ۳۶ درجه طول شمالی و ۵۸ تا ۵۹ درجه عرض شمالی به مساحت حدود ۷ هکتار جمع‌آوری شد. حداقل و حداکثر ارتفاع مناطق به‌ترتیب ۱۲۵۸ و ۱۴۸۲ متر از سطح دریا می‌باشد. نمونه‌های گیاهی پس از جمع‌آوری در بخش هرباریوم دانشکده علوم دانشگاه پیام نور مرکز مشهد شناسایی و تائید شد.

تهیه عصاره آبی گیاه چرخه

عصاره‌گیری به روش سوکسله انجام گرفت. بدین-صورت که ۵۰ گرم پودر خشک شده اندام هوایی گیاه چرخه با ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر توسط گرم‌کن برقی به مدت ۱۰ ساعت جوشانده شد. سپس، با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام استخراج شد. پس از حذف حلال و خشک کردن عصاره، با غلظت ۳۰۰ mg/kg به حیوان تزریق شد. قبل از تزریق محلول تهیه شده از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده و استریل شد [۱۵].

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نژاد Wistar با سن تقریبی ۱۵-۱۴ هفته و با وزن تقریبی 16 ± 148 گرم استفاده شد. حیوانات در دمای تقریبی ۲۵-۲۳ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۴۰-۳۵ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد قرار داشتند و آب به مقدار کافی توسط بطری شیشه‌ای در اختیار آن‌ها قرار داده شد و از کنسنتره‌های خوراکی استاندارد تغذیه نمودند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به انجام رسید [۱۵]. 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 اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت شده است.

طراحی آزمایش و گروه‌بندی

تعداد ۲۷ سر موش صحرایی نر به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۹ تایی شامل گروه شاهد سالم، گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره تقسیم شدند. نمونه‌های گروه شاهد سالم به مدت یک‌ماه به‌صورت یک‌روز درمیان به‌روش داخل صفاقی آب مقطر استریل دریافت نمودند؛ این عمل به‌منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. گروه شاهد دیابتی نیز پس از ایجاد دیابت تجربی به مدت یک‌ماه به‌صورت یک‌روز درمیان به‌روش داخل صفاقی آب مقطر استریل دریافت نمودند. گروه دیابتی تحت تیمار پس از ایجاد دیابت تجربی به مدت یک‌ماه به‌صورت یک‌روز درمیان عصاره آبی گیاه چرخه را با غلظت ۳۰۰ mg/kg به‌صورت داخل صفاقی دریافت نمودند.

روش ایجاد هیپرگلیسمی تجربی

مدل تجربی دیابت (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی با یک‌بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (Sigma-Aldrich, Germany) به میزان ۱۲۰ mg/kg B.W ایجاد شد. همچنین، از آب مقطر استریل به‌عنوان حلال آلوکسان استفاده شد. تزریق آلوکسان به گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره صورت گرفت. با این روش، ۷۲ ساعت بعد از تزریق، دیابت تجربی در نمونه‌ها ایجاد شد که جهت تأیید آن به‌صورت ناشتا خون‌گیری از ورید دمی صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco, Korea) اندازه‌گیری شد. قند خون بالای ۳۰۰ mg/dl به‌عنوان شاخص دیابتی شدن در نظر گرفته شد. دیابتی شدن و ایجاد قند خون بالای ۳۰۰ mg/dl در موش‌های صحرایی روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد و پس از آن تمام تزریقات به مدت یک‌ماه به‌صورت یک‌روز در میان صورت گرفت. سطح سرمی انسولین و گلوکز خون تمامی نمونه‌ها به-صورت ناشتا در اولین، پانزدهمین و سی‌امین روز پس از ایجاد دیابت تجربی اندازه‌گیری شد [۱۵].

بررسی هیستولوژی پانکراس

بعد از خون‌گیری، موش‌های صحرایی توسط دی‌اتیل اتر (MERCK, Germany) بیهوش شده و پس از شکافتن سطح شکمی، بخشی از بافت پانکراس آن‌ها خارج گردید و با محلول سرم فیزیولوژی شستشو داده شد. سپس، جهت فیکس شدن، در فرمالدئید ۱۰ درصد (MERCK, Germany) قرار داده شد. پس از انجام مراحل پردازش بافتی، مقاطع بافتی با ضخامت ۵ میکرون تهیه شده و به‌روش هماتوکسیلین ائوزین رنگ آمیزی شد. برای اندازه‌گیری قطر جزایر لانگرهانس با استفاده از میکروسکوپ نوری (Olympus CX21FS1, Japan) با بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر، ۱۰ جزیره به‌طور تصادفی انتخاب شد و پس از تعیین نمودن قطر کوچک و بزرگ هر جزیره بر حسب میکرومتر، قطر میانگین هر جزیره محاسبه شده و سپس قطر متوسط جزایر در هر گروه مشخص شد. برای اندازه‌گیری تعداد جزایر لانگرهانس از هر ۵ لام تهیه شده، ۴ سطح به‌طور تصادفی توسط میکروسکوپ نوری انتخاب شد و با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ برابر شمارش انجام گردید. سپس، از تعداد جزایر هر گروه میانگین به‌دست آمد [۱۶].

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزار آماری SPSS ویرایش ۲۰ تحلیل گردید. تحلیل داده‌ها بر اساس آنالیز واریانس

ناپارامتری Kruskal Wallis انجام شد و جهت مقایسه دو به دو گروه‌ها از آزمون تعقیبی Duncan استفاده شد. معیار استنتاج آماری $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

براساس نتایج به‌دست آمده، سطح سرمی گلوکز خون نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش نسبت به سطح سرمی گلوکز خون نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه سطح گلوکز خون در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ بین گروه‌های شاهد دیابتی و شاهد سالم به‌ترتیب ۰/۰۲۱، ۰/۰۱۴ و ۰/۰۰۹ می‌باشد. سطح سرمی گلوکز خون نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ نسبت به سطح سرمی گلوکز خون نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه سطح گلوکز خون در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ بین گروه دیابتی تیمار شده با عصاره گیاه چرخه و گروه شاهد دیابتی به‌ترتیب ۰/۰۲۱، ۰/۰۱۴ می‌باشد. سطح سرمی گلوکز خون نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در روز ۱ نسبت به سطح سرمی گلوکز

خون نمونه‌های گروه شاهد دیابتی کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($P = 0/184$) (جدول شماره ۱). بر اساس نتایج به‌دست آمده، سطح سرمی انسولین خون نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در هریک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش نسبت به سطح سرمی انسولین خون نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه سطح انسولین خون در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ بین گروه‌های شاهد دیابتی و شاهد سالم به‌ترتیب ۰/۰۱۱، ۰/۰۲۵ و ۰/۰۴۹ می‌باشد. سطح سرمی انسولین خون نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ نسبت به سطح سرمی انسولین خون نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه سطح انسولین خون در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ بین گروه دیابتی تیمار شده با عصاره گیاه چرخه و گروه شاهد دیابتی به‌ترتیب ۰/۰۱۸، ۰/۰۰۶ و ۰/۰۰۶ می‌باشد. سطح سرمی انسولین خون نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در روز ۱ نسبت به سطح سرمی انسولین خون نمونه‌های گروه شاهد دیابتی افزایش یافت، ولی این افزایش معنی‌دار نبود ($P = 0/203$) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- میانگین سطح سرمی گلوکز و انسولین خون در روزهای مختلف پس از ایجاد دیابت در گروه‌های مورد بررسی

گروه‌ها	متغیر		سطح سرمی گلوکز خون (mg/dl)		سطح سرمی انسولین خون (micIU/ml)	
	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام
شاهد سالم	۷۸±۶/۵۰	۸۸±۱۰/۳۳	۹۳±۸/۲۵	۱۳/۷۰±۳/۱۹	۱۲/۷۹±۴/۱۱	۱۲/۱۳±۲/۸۱
شاهد دیابتی	۴۰۴±۱۹/۶۶	۴۶۵±۱۸	۵۰۶±۱۵/۵۰	۵۵±۰/۱۱	۴۶±۰/۱۹	۳۵±۰/۲۳
دیابتی (غلظت ۳۰۰ mg/kg چرخه)	۳۸۱±۷/۲۵	۲۲۲±۱۴	۱۸۴±۱۱/۳۳	۷۱±۰/۱۲	۴۱±۰/۷۸	۵۴±۱/۳۹

داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشد. a: $P < 0/05$ در مقایسه با گروه شاهد سالم، b: در مقایسه با گروه شاهد دیابتی.

بر اساس نتایج به دست آمده، میانگین قطر جزایر لانگرهانس نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در هریک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش نسبت به میانگین قطر جزایر لانگرهانس نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه میانگین قطر جزایر لانگرهانس در هریک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ بین گروه‌های شاهد دیابتی و شاهد سالم به‌ترتیب ۰/۰۰۴، ۰/۰۲۲ و ۰/۰۱۷ می‌باشد. میانگین قطر جزایر لانگرهانس نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ نسبت به میانگین قطر جزایر لانگرهانس نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه میانگین قطر جزایر لانگرهانس در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ بین گروه دیابتی تیمار شده با عصاره گیاه چرخه و گروه شاهد دیابتی

به‌ترتیب ۰/۰۱۹، ۰/۰۰۷ می‌باشد. میانگین قطر جزایر لانگرهانس نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در روز ۱ نسبت به میانگین قطر جزایر لانگرهانس نمونه‌های گروه شاهد دیابتی کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($P = 0/081$) (شکل شماره ۱) (جدول شماره ۲). براساس نتایج به‌دست آمده، میانگین تعداد سلول‌های بتا در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در هریک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش نسبت به میانگین تعداد سلول‌های بتا در نمونه‌های گروه شاهد سالم به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه میانگین تعداد سلول‌های بتا در هریک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ بین گروه‌های شاهد دیابتی و شاهد سالم به‌ترتیب ۰/۰۱۲، ۰/۰۰۲ و ۰/۰۰۷ می‌باشد. میانگین تعداد سلول‌های بتا در نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه

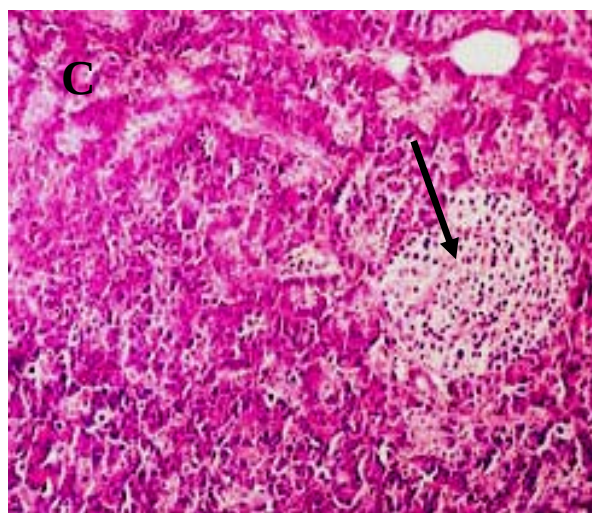
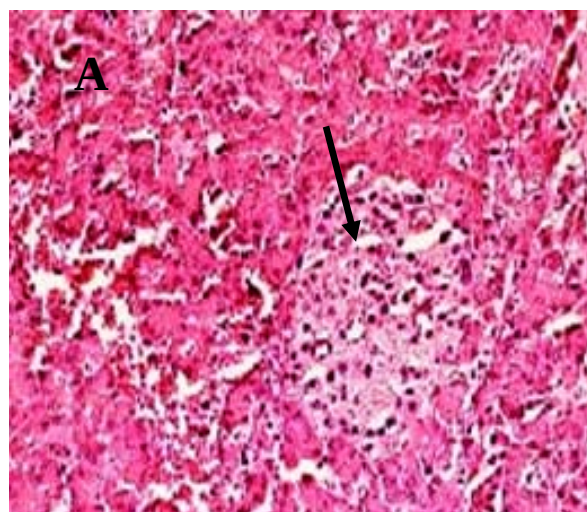
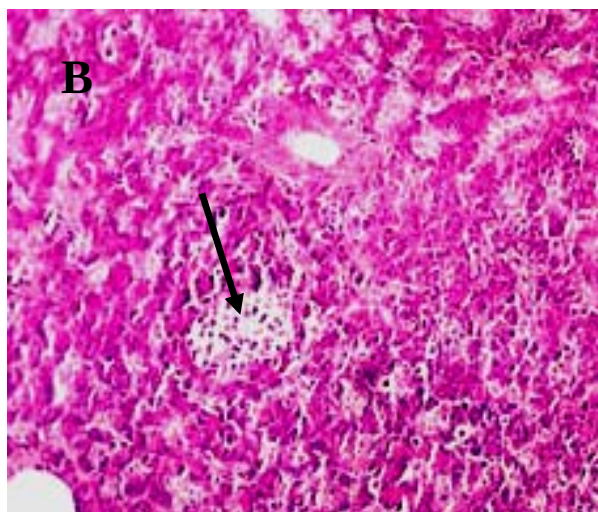
می‌باشد. میانگین تعداد سلول‌های بتا در نمونه‌های گروه دیابتی تیمار شده با عصاره آبی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در روز ۱ نسبت به میانگین تعداد سلول‌های بتا در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود ($P=0/109$) (جدول شماره ۲).

چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ نسبت به میانگین تعداد سلول‌های بتا در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. عدد P به‌دست آمده از مقایسه میانگین تعداد سلول‌های بتا در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ بین گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه چرخه و گروه شاهد دیابتی به‌ترتیب ۰/۰۲۳ و ۰/۰۱۳

گروه‌ها	متغیر		میانگین قطر جزایر لانگرهانس (میکرون)		میانگین تعداد جزایر لانگرهانس	
	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام	روز اول	روز پانزدهم	روز سی‌ام
شاهد سالم	۲/۳۸±۰/۱۱	۱/۶۳±۰/۲۱	۱/۵۸±۰/۰۹	۴۸±۵/۵۰	۵۳±۶/۳۳	۵۰±۸/۲۵
شاهد دیابتی	^a ۰/۸۳±۰/۰۵	^a ۰/۶۰±۰/۰۹	^a ۰/۵۱±۰/۱۲	^a ۲۱±۶/۳۳	^a ۱۷±۲/۲۵	^a ۱۵±۵/۶۶
دیابتی (غلظت ۳۰۰mg/kg چرخه)	^a ۰/۷۲±۰/۱۴	^{ab} ۱/۰۹±۰/۲۱	^{ab} ۱/۱۵±۰/۱۶	^a ۱۹±۸/۵۰	^{ab} ۳۱±۴/۶۶	^{ab} ۳۵±۶/۵۰

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار می‌باشد. a: $P<0/05$ در مقایسه با گروه شاهد سالم، b: در مقایسه با گروه شاهد دیابتی.

شکل شماره ۱- فتومیکروگراف از مقطع عرضی بافت پانکراس. (A) گروه شاهد سالم (قطر جزایر لانگرهانس طبیعی می‌باشد). (B) گروه شاهد دیابتی (قطر جزایر لانگرهانس نسبت به گروه شاهد سالم کاهش یافته است). (C) گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ mg/kg (قطر جزایر لانگرهانس نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش یافته است).



(رنگ آمیزی هماتوکسیلین اتوزین، بزرگ‌نمایی ۴۰۰ برابر، فلش نشان‌دهنده جزایر لانگرهانس می‌باشد.)

بحث

یافته‌های به‌دست آمده از پژوهش حاضر نشان داد آلوکسان تزریق شده به گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره‌ی آبی گیاه چرخه به‌دلیل دارابودن اثرات سایتو-توکسیک روی سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس موجب القای هیپرگلیسمی (دیابت نوع اول) در موش‌های صحرایی شده است. براساس گزارش‌های موجود آلوکسان نقش تخریبی خود را بر روی سلول‌های بتا از طریق مهار آنزیم گلوکوکیناز (GK) اعمال می‌کند. با مهار آنزیم GK و به‌همراه آن کاهش بیان ژن‌های مولد آنزیم فوق و آنزیم Glucose Transporter-2 (Glut2) در سلول‌های بتا رادیکال‌های آزاد تولید شده و موجب القای آپوپتوز می‌شود. رادیکال‌های آزاد باعث افزایش پتانسیل نفوذپذیری غشای میتوکندری‌ها گردیده و از این طریق خروج سیتوکروم C و آبشار کاسپازی فعال می‌شود که حاصل آن القای آپوپتوز در سلول‌های بتای پانکراس می‌باشد [۱۷]. مسیر دیگری که در توجیه القای آپوپتوز در سلول‌های بتای پانکراس به‌دنبال تجویز آلوکسان نقش دارد، فعال شدن مسیر استرس‌های اکسیداتیو می‌باشد که محصول نهائی آن تولید بیش از حد رادیکال‌های آزاد می‌باشد. افزایش میزان رادیکال‌های آزاد داخل سلولی باعث افزایش پتانسیل نفوذ-پذیری غشای میتوکندری‌ها و خروج سیتوکروم C می‌شود که در راه‌اندازی مسیرهای آپوپتوز سلولی نقش تعیین‌کننده‌ای دارد [۱۸]. باتوجه به یافته‌های پژوهش حاضر سطح سرمی انسولین و گلوکز خون در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی آبی گیاه چرخه با غلظت 300 mg/kg در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ پس از ایجاد دیابت تجربی نسبت به گروه شاهد دیابتی به‌ترتیب به‌طور معنی-داری افزایش و کاهش یافت. براساس تحقیقات انجام شده عصاره هیدروالکلی گیاه چرخه می‌تواند موجب کاهش سطح سرمی قند خون در اثر افزایش سطح سرمی انسولین گردد، هم‌چنین مشخص شده است این اثرات ناشی از هیپرتروفی سلول‌های بتای باقی‌مانده در پانکراس و در نتیجه افزایش ترشح انسولین است [۱۲]. این اثرات عصاره را می‌توان به حضور آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند فلاونوئید و ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنوئیدی نسبت داد [۹]. در مطالعه دیگری مشخص شده است که فلاونوئیدها دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی بوده و می‌توانند موجب کاهش قند خون شوند [۱۹]. به‌نظر می‌رسد که عصاره‌ی گیاه چرخه به‌دلیل داشتن ترکیبات فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند علاوه بر اصلاح نسبی اختلالات متابولیکی ناشی از افزایش گلوکز خون، با جبران نقایص عملکردی پانکراس و افزایش ترشح انسولین، موجب کاهش سطح سرمی گلوکز خون شود. باتوجه به نتایج این پژوهش

سطح سرمی انسولین و گلوکز خون در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی آبی گیاه چرخه با غلظت 300 mg/kg در روز ۳۰ نسبت به روز ۱۵ به‌ترتیب به‌طور معنی‌داری افزایش و کاهش یافت. با توجه به نتایج پژوهش‌های انجام شده می‌توان چنین استنتاج کرد اثرات ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بر سلول‌ها با غلظت آن‌ها رابطه مستقیم دارد [۲۰]. گزارش شده است عصاره گیاه چرخه، احتمالاً به‌دلیل محتوای فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی می‌تواند منجر به کاهش سطح سرمی گلوکز خون شده و از افزایش پیش‌رونده سطوح آنزیم‌های کبدی جلوگیری کند [۲۱]. مشخص شده است تجویز عصاره گیاه چرخه علاوه بر اصلاح نسبی اختلالات متابولیکی ناشی از هیپرگلیسمی و کاهش سطح سرمی گلوکز خون، می‌تواند با جبران نقایص عملکردی کلیه از دفع آلبومین ادرار جلوگیری نماید [۹]. یافته‌های مورفولوژیکی پانکراس نشان می‌دهد میانگین تعداد و قطر جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی آبی گیاه چرخه با غلظت 300 mg/kg در هریک از روزهای ۱۵ و ۳۰ نسبت به گروه شاهد دیابتی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بر اساس تحقیقات انجام شده صمغ گیاه چرخه منبع غنی از آنتی‌اکسیدان می‌باشد [۲۲]. هم‌چنین، ترکیبات آنتی‌اکسیدان با مهار شرایط استرس اکسیداتیو منجر به افزایش تقسیمات و افزایش قدرت ترمیم سلولی می‌شوند [۲۳]. از آنجایی‌که افزایش ترشح انسولین رابطه مستقیم با فرایند ترمیم جزایر لانگرهانس پانکراس دارد، لذا بهبود در قطر و تعداد جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی تیمار شده با عصاره‌ی آبی گیاه چرخه را می‌توان به ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره‌ی گیاه چرخه نسبت داد. در این پژوهش اثر عصاره‌ی آبی گیاه چرخه بر سطح سرمی انسولین، گلوکز خون و بازسازی جزایر پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی بررسی شد، اما این مطلب که کدام ترکیب موجود در عصاره این اثرات را دارد، مشخص نیست. پیشنهاد می‌شود در تحقیقات بعدی ترکیبات گیاه چرخه که در بهبود عوارض دیابت قندی مؤثر است، مورد بررسی قرار گیرد.

نتیجه‌گیری

تجویز عصاره‌ی آبی گیاه چرخه با غلظت 300 mg/kg به موش‌های صحرایی دیابتی می‌تواند از طریق افزایش در تعداد و حجم جزایر لانگرهانس که احتمالاً در نتیجه هیپرتروفی و هیپر-پلازی سلول‌های بتا است، موجب افزایش ترشح انسولین شود. در نتیجه می‌توان گفت عصاره‌ی آبی گیاه چرخه با غلظت 300 mg/kg دارای اثرات هیپوگلیسمیک در نمونه‌های دیابتی می‌باشد.

را از همکاری گروه کشاورزی و زیست‌شناسی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد در انجام این پروژه ابراز می‌نمایند.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تشکر و قدردانی خود

References:

[1] Cantarovich D, Perrone V. Pancreas Transplant as Treatment to Arrest Renal Function Decline in Patients with Type 1 Diabetes and Proteinuria. *Semin Nephrol* 2012; 32(5): 432-6.

[2] Stephens E. Insulin Therapy in Type 1 Diabetes. *Med Clin of North America* 2015; 99(1): 145-56.

[3] Rochette L, Zeller M, Cottin Y, Vergely C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1840(9): 2709-29.

[4] Lazalde-Ramos BP, Zamora-Perez AL, Sosa-Macías M, Guerrero-Velázquez C, Moises Zúñiga-González GM. DNA and Oxidative Damages Decrease After Ingestion of Folic Acid in Patients with Type 2 Diabetes. *Arch Med Res* 2012; 43(6): 476-81.

[5] Qiu C, Hevner K, Abetew DA, Enquobahrie D, Williams MA. Oxidative DNA damage in early pregnancy and risk of gestational diabetes mellitus: A pilot study. *Clin Biochem* 2011; 44(10-11): 804-8.

[6] Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Nesamony Gnanadhas E, Lakshminarasaiiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta* 2014; 436: 332-47.

[7] McCance DR, Holmes VA, Maresh MJ, Patterson CC, Walker JD, Pearson DW, et al. Vitamins C and E for prevention of pre-eclampsia in women with type 1 diabetes (DAPIT): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2010; 376(9737): 259-66.

[8] Mohan S, Nandhakumar L. Role of various flavonoids: Hypotheses on novel approach to treat diabetes. *J Med Hypotheses Ideas* 2014; 8(1): 1-6.

[9] Hajinejad boshroue R, Behnam rassouli M, Tehranipour M, Gheybi F, Hajinejad S, Elahi moghadam Z. The Effects of Hydro-alcoholic Extract of *Launaea acanthodes* on the Blood, Urine Albumin and Bilirubin Levels in Male Hyperglycemic Wistar Rat. *Iran J Endocrinol Metabolism* 2013; 15(2): 190-6.

[10] Piazza L, Bertini S, Milany J. Extraction and structural characterization of the polysaccharide fraction of *Launaea acanthodes* gum. *Carbohydrate Polymers* 2010; 79(2): 449-54.

[11] Karimidokht shahrbabaki A, Oryan SH, Parivar K. Anticonvulsant activity of ethanolic extract and aqueous fraction of *Launaea acanthodes* gum in comparison with diazepam in mice. *J Qazvin Univ Med* 2009; 13(1): 14-20. [in Persian]

[12] Behnam-Rassouli M, Ghayour N, Ghayour MB, Ejtehadi MM. Investigating the effects of hydroalcoholic extract of *Launaea acanthodes* on the serum levels of glucose, insulin, lipids and

lipoproteins in streptozotocin induced type I diabetic rats. *Arak Univ Med Sci J* 2011; 14: 48-56. [in Persian]

[13] Hui H, Dotta F, Di Mario U, Perfetti R. Role of caspase in the regulation of apoptotic pancreatic islet beta-cells death. *J Cell Physiol* 2004; 200(2): 177-200.

[14] im Walde SS, Dohle C, Schott-Ohly P, Gleichmann H. Molecular target structures in alloxan-induced diabetes in mice. *Life Sci* 2001; 71(14): 1681-94.

[15] 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]

[16] Mohammadi J, Mirzaei A, Delaviz H, Mohammadi B. Effects of hydroalcoholic extract of *Capparis spinosa* on histomorphological changes of pancreas in diabetic rats model. *J Birjand Univ Med Sci* 2012; 19(3): 235-44. [in Persian]

[17] Santos GJ, Oliveira CAM, Boschero AC, Rezende LF. CNTF protects MIN6 cells against apoptosis induced by alloxan and IL-1 β through downregulation of the AMPK pathway. *Cell Signal* 2011; 23(10): 1669-76.

[18] Oryan A, Hashemnia M, Hamidi A, Mohammadalipour A. Effects of hydro-ethanol extract of *Citrullus colocynthis* on blood glucose levels and pathology of organs in alloxan-induced diabetic rats. *Asian Pacific J Tropical Dis* 2014; 4(2): 125-30.

[19] Lukačinová A, Mojžiš J, Beňačka R, Keller J, Maguth T, Kurila P, et al. Preventive effects of flavonoids on alloxan-induced diabetes mellitus in rats. *Acta Vet Brno* 2008; 77: 175-82.

[20] Hur SJ, Lee SY, Kim Y, Choi I, Kim GB. Effect of fermentation on the antioxidant activity in plant-based foods. *Food Chem* 2014; 160: 346-56.

[21] Jalali M, Behnam Rassouli M, Tehranipour M, Ghayour N, Khayatizadeh J, Jannati H. Study of the effects of hyperglycemia and *Launaea acanthodes* extract administration on disorders of liver function in rats. *Physiol Pharmacol* 2012; 15(4): 562-71.

[22] Bitam F, Ciavatta ML, Manzo E, Dibi A, Gavagnin M. hemical characterisation of the terpenoid constituents of the Algerian plant *Launaea arborescens*. *Phytochemistry* 2008; 69(17): 2984-92.

[23] Rajendran P, Nandakumar N, Rengarajan T, Palaniswami R, Gnanadhas EN, Lakshminarasaiiah U, et al. Antioxidants and human diseases. *Clin Chim Acta* 2014; 436: 332-47.