Archive of SID

تاثیر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن، میزان گلوکز خون و بیان ژن پیرووات کیناز در موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱

امیر بزی‌شاد[۱]، حمیدرضا میری[۲*]، صدیقه اسمعیل‌زاده بهابادی[۳]، محمدرضاحاجی‌نژاد[۴]، فاطمه دهمرده قلعه‌نو[۳]، هادی صبوری[۳]، مجید حسن‌زاده[۲]

۱- کارشناسی ارشد زیست‌شناسی-ژنتیک، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲ -دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه، تربت‌حیدریه، ایران

۳- دانشکده علوم پایه، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۴- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

زمینه و هدف: گیاهان منبع عظیمی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای بهبود کنترل قند خون و جلوگیری از عوارض دراز مدت دیابت هستند. استفاده از گیاهان دارویی اثرات قابل ملاحظه‌ای را در کاهش گلوکز خون در بیماران دیابتی نشان داده است. این مطالعه با هدف بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن، میزان گلوکز خون و بیان ژن پیروات کیناز در موش‌های صحرایی دیابتی انجام شد.

روش‌ها: در این تحقیق ۴۵ سر موش صحرایی نر با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم انتخاب و به‌طور تصادفی در سه گروه شاهد سالم (تعداد=۱۵)، شاهد دیابتی (تعداد=۱۵) و دیابتی تحت تیمار با عصاره ریشه گیاه جغجغه (تعداد=۱۵) تقسیم شدند. دیابت نوع ۱ با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) به موش‌های صحرایی گروه شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه القاء شد. بعد از القای دیابت، گروه دیابتی تحت تیمار روزانه (۳۰۰ mg/kg) عصاره ریشه جغجغه را به صورت گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند. موش‌های گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی نیز در این مدت آب مقطر دریافت کردند. از موش‌های تحت مطالعه در روز قبل از تجویز عصاره و روزهای ۱۵ و ۳۰ بعد از تجویز عصاره خون‌گیری شد و میزان گلوکز خون و بیان ژن پیروات کیناز اندازه‌گیری شد. همچنین توزین موش‌ها در سه بازه زمانی ذکر شده انجام شد. داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS تحلیل آماری شد.

نتایج: میزان بیان ژن در گروه دیابتی تحت تیمار در روز ۱۵ نسبت به شاهد دیابتی افزایش پیدا نمود، اما در پایان روز ۳۰ نسبت به موش‌های گروه شاهد دیابتی کاهش داشت ($p<۰/۰۵$). همچنین وزن موش‌ها در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره ریشه گیاه جغجغه نسبت به دو گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی اختلاف معنی‌داری داشت ($p<۰/۰۵$). به‌علاوه میزان گلوکز خون در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره در روز ۳۰ نسبت به روز ۱۵ کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری: نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که احتمالا تجویز عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه توانسته از طریق تغییر میزان بیان ژن پیرووات کیناز باعث کاهش گلوکز خون شود.

کلمات‌کلیدی: گیاه جغجغه، پیرووات کیناز، دیابت نوع ۱

*آدرس نویسنده مسئول: خراسان رضوی، تربت‌حیدریه، خیابان فردوسی شمالی، خیابان رازی، دانشگاه علوم پزشکی تربت‌حیدریه

آدرس پست الکترونیک: mirih1@thums.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیابت یک بیماری ساده نیست، بلکه سندرم پیچیده‌ای است که بارزترین مشخصه آن افزایش قند خون می‌باشد. بنابراین، بیماران دیابتی هر چند در یک ویژگی مشابه یکدیگرند، اما هم از نظر بالینی و هم از نظر آسیب‌شناسی و ژنتیکی ناهمگون هستند. بیماری دیابت درحال حاضر یکی از پرهزینه‌ترین و سنگین‌ترین بیماری‌های مزمن است و بیماری است که اپیدمی آن در سراسر جهان در حال افزایش می‌باشد. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت دیابت بر حدود ۵ درصد از جمعیت جهان تاثیرگذاراست. عوارض ناشی از دیابت در ۲۵ درصد موارد، نارسایی کلیه و در ۵۰ درصد موارد قطع عضو و نابینایی است (۱).

با توجه به عوارض متعدد و خطرناکی که بیماری قند در افراد دیابتی ایجاد می‌نماید، بررسی راه‌های درمان و پیشگیری از آن لازم است. هر چند هنوز درمان قطعی برای دیابت پیدا نشده است، حتی روش‌های جدیدی مثل پیوند سلول‌های بتا به افراد مبتلا به دیابت نوع ۱ نیز به علت ضرورت مصرف داروی ضد پیوند به صورت مادام العمر و عوارض احتمالی ناشی از آن‌ها، برای اکثر افراد مناسب نمی‌باشند. تجربه چند دهه اخیر نشان داده است که داروهای صناعی با تمام کارایی‌های قابل توجه، اثرات نامطلوب و ناگوار بسیاری به‌همراه دارند و مشخص گردیده که کمتر ماده خالصی وجود دارد که دارای اثرات سوء نباشد (۲). به‌طور مثال کهیر، هیپوگلیسمی، پدیده برگشت یا سوموگی، لیپوتروفی، لیپوهیپرتروفی، خارش، تورم، قرمزی،گرمی در محل تزریق و شوک آنافیلاکسی از عوارض تزریق انسولین می‌باشند. مصرف متفورمین می‌تواند عوارضی نظیر سردرد، سرگیجه، اسهال، تهوع، استفراغ، دردشکمی، هیپوگلیسمی و عفونت دستگاه تنفس فوقانی را در فرد مصرف کننده ایجاد نماید (۳).

بیش از نیمی از افراد مبتلا به دیابت برای درمان بیماری به داروهای شیمیایی دسترسی ندارند و تنها از داروهای گیاهی استفاده می‌کنند (۴). تاکنون بیش از ۱۲۰۰ گونه گیاهی در ۷۲۵ جنس و ۱۸۳ خانواده شناخته شده‌اند که دارای فعالیت ضد دیابتی هستند که بیش از نیمی از آنها به‌طورمرسوم به‌عنوان ضد دیابت مصرف شده‌اند و در حدود ۵۰ درصد نیز از طریق آزمایشگاهی مطالعه شده‌اند (۴، ۵). گیاه جغجغه (کهور) با نام علمی "پروساپیس فراکتا"[1] از خانواده "مموساسیا"[2] جزء مهمترین گیاهان منطقه سیستان و بلوچستان می‌باشد، که بومی نواحی خشک و نیمه‌خشک آمریکا، آسیا و آفریقا بوده و نقش قابل توجهی در نظام زیستی آن مناطق بازی می‌کند. در برخی مناطق از گیاه جغجغه استفاده‌های درمانی می‌شود. این گیاه در معالجه زخم معده، سقط جنین، اسهال خونی، رماتیسم، التهاب حنجره، دردهای قلبی و تنگی نفس به‌کار رفته است. هم‌چنین از گیاه جغجغه به‌عنوان داروی درمان رماتیسم، سرفه، سرماخوردگی، آسم و عقرب‌گزیدگی و حتی برای علاج مارگزیدگی نیز استفاده شده است. ترکیبات موثر موجود در گیاه جغجغه عبارتند از: ۵ – هیدروکسیل تریپتامین (آلکالوئید)، ال–ارابینوز، لکتین، توکسین،کوئرستین (فلاونوئید)، تریپتامین و اپیژنین.گیاه جغجغه دارای خصوصیات ضد اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد آپوپتوزی است. رنجبر حیدری و همکاران در سال ۱۳۹۰ نشان دادند پودر غلاف میوه و عصاره آبی ریشه گیاه جغجغه در التیام زخم های پوستی در موش‌های دیابتی تاثیر دارد. این محققین از نتایج تحقیق خود استدلال نمودند که گیاه جغجغه به‌دلیل دارا بودن آلکالوئیدهای با اثرات آنتی‌اکسیدانی، فلاونوئیدها با اثرات آنتی‌التهابی و تانین‌ها با اثرات تکثیر سلولی و رگزایی در فرآیند ترمیم و بازسازی زخم‌های دیابتی از طریق تسریع التهاب، تکثیر سلولی و نیز هیپوگلیسمی بر ترمیم زخم-های دیابتی موثراست (۶).

آنزیم پیرووات کیناز پروتئینی است تترامر که هر چهار زنجیره آن مشابه هم بوده و بر حسب ژن عامل هر زنجیره از حدود پانصد الی ششصد اسید آمینه تشکیل می‌گردد (۷). این آنزیم سیتوزولی در انسان توسط دو ژن کنترل و ساخته می‌شود. در پستانداران چهار ایزو آنزیم از پیروات کیناز وجود دارد. این ایزو آنزیم‌ها را بر اساس نوع بافتی که در آن به میزان بیش‌تری وجود دارند، نام‌گذاری کرده‌اند، که شامل ایزوآنزیم‌های L[3]، R[4]، M1[5] و M2[6] می‌باشند (۸). این آنزیم یکی از آنزیم‌های کلیدی گلیکولیز بی‌هوازی است که به تنهایی نیمی از ATP تولید شده در این مسیر را فراهم می‌کند. این آنزیم آلوستریک

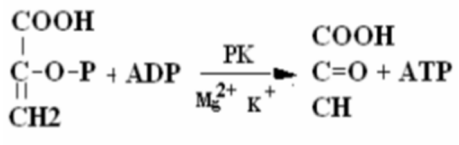
[1] - Prosopis fracta
[2] - Mimosaceae
[3] - Liver
[4] - Red blood cell
[5] - Muscle 1
[6] - Muscle 2

www.SID.ir

Archive of SID

در انواع سلول‌ها و در تمام گونه‌های موجودات زنده یافت می‌شود (۵).

با توجه به اینکه گلبول قرمز فاقد میتوکندری می‌باشد و تأمین انرژی از مسیر اکسیداتیو میسر نبوده لذا مسیر گلیکولیز بیهوازی تنها راه تامین ATP[1] مورد نیاز سلول می‌باشد. آنزیم پیرووات کیناز تبدیل فسفو اینول پیرووات[2] را به پیرووات کاتالیز می‌کند و در این فرآیند به ازاء هر مول از PEP یک مول ATP بوجود می‌آورد.



پیرووات محصولی است که علاوه بر مسیر گلیکولیز در مسیر ارتباطی متابولیسم چربی‌ها و اسیدهای آمینه نیز قرار داشته و تنظیم آن برای سلول‌ها از نظر متابولیکی اهمیت به‌سزایی دارد.گفته می‌شود پس از کمبود آنزیم G6PD کمبود آنزیم پیرووات کیناز یکی از شایع‌ترین علل کم خونی می‌باشد (۹). کنترل فعالیت آنزیم در سلول‌های یوکاریوتی در سطح آنزیمی انجام می‌شود. هم‌چنین ژن پیرووات کیناز نیز تحت تأثیر عوامل متعدد القایی و یا مهاری، ساخت آنزیم را کنترل می‌نماید. بهمنی و همکارانش در سال ۱۳۸۵ تأثیر استرس اکسیداتیو حاصل از مصرف سیگار را بر فعالیت آنزیم‌های گلیکولیزی هگزوکیناز و پیروات کیناز در اریتروسیت‌های افراد سیگاری بررسی کردند.

با توجه به نتایج به‌دست آمده، مشخص شد که در افراد سیگاری به‌دلیل مصرف سیگار، استرس اکسیداتیو ایجاد شده است و رادیکال‌های آزاد تولید شده باعث آسیب ساختار و کاهش فعالیت آنزیم هگزوکیناز در اریتروسیت‌های این افراد شده است. به‌نظر می‌رسد آنزیم پیروات کیناز دارای ساختار مقاوم‌تری نسبت به آنزیم هگزوکیناز بوده، به همین دلیل فعالیت آن در افراد سیگاری با افراد غیر سیگاری، تفاوت معنی‌داری ندارد (۱۰). تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن بدن، گلوکز خون و میزان بیان ژن پیروات‌کیناز در بافت کبد موش‌های دیابتی انجام شد.

روش‌ها

تهیه عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه: ابتدا ریشه گیاه جغجغه (در تیر ماه سال ۱۳۹۲) از سطح زمین‌های بیابانی توابع شهرستان زابل جمع‌آوری گردید. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه از روش غرقابی استفاده شد. بدین منظور ابتدا ریشه‌ها، در سایه خشک و سپس پودر گردید. حلال مورد استفاده در این روش اتانول ۷۰ درصد بود. ۵۰۰ گرم از پودر به‌دست آمده درون بشر ۵۰۰۰ سی‌سی ریخته شد و به آن الکل اتیلیک ۷۰ درصد اضافه گردید، به گونه‌ای که سطح پودر را بپوشاند. ترکیب حاصل با دستگاه هم زن به مدت ۲۴ ساعت هم زده شد و سپس برای مدت ۴۸ ساعت در فضای تاریکی قرار داده شد. بعد از این مدت، محلول حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و برای اطمینان از خالص بودن عصاره مجدداً با پمپ خلاء صاف گردید و محلول صاف شده به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۴۵ درجه قرار گرفت تا خشک شود. پودر خشک شده در آخرین مرحله توزین و تحت دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس از این ماده خشک جهت تیمار موش‌های صحرایی دیابتی تحت تیمار استفاده شد.

گروه‌بندی: در این تحقیق ۴۵ موش صحرایی نر نژاد ویستار ۲ تا ۳ ماهه با میانگین وزنی ۲۵۰ گرم که از دانشگاه علوم پزشکی مشهد تهیه و در حیوان‌خانه دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل تحت شرایط استاندارد قرار گرفتند، به روش تجربی مورد مطالعه قرار گرفتند. موش‌ها به آب و غذای مخصوص دسترسی داشتند. به‌منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز از زمان استقرار حیوانات به انجام رسید. موش‌ها به‌صورت تصادفی به ۳ گروه ۱۵ تایی تقسیم شدند: گروه ۱ شاهد سالم، گروه ۲ شاهد دیابتی و گروه ۳ دیابتی تحت تیمار با عصاره هیدروالکلی جغجغه.

روش القای دیابت تجربی و تیمار موش‌ها: مدل تجربی دیابت قندی نوع یک (دیابت وابسته به انسولین) در موش صحرایی نر با تزریق درون صفاقی استرپتوزوتوسین ایجاد شد. یک ویال یک گرمی پودر استرپتوزوتوسین از شرکت سازنده سیگما با کد S۰۱۳۰ به سفارش شرکت مهران‌پارس صبا خریداری شد. مقدار خالص استرپتوزوتوسین تزریق شده به هر موش ۶۰ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بود. برای اطمینان از القاء دیابت دو روز بعد از تزریق، میزان گلوکز ناشتای خون اندازه‌گیری شد و در صورتی که سطح گلوکز ناشتای خون آن‌ها بیشتر از ۱۴۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر بود به عنوان موش‌های دیابتی درنظر

[1] - Adenosine triphosphate
[2] - Phosphoinol pirovate

www.SID.ir

Archive of SID

گرفته شدند. در صورت عدم القای دیابت با تزریق اول، عمل تزریق تکرار می‌گردید (۱۱). پس از اطمینان از القای دیابت، موش‌های دیابتی طور تصادفی به دو گروه دیابتی شاهد و دیابتی تحت تیمار تقسیم شدند. به موش‌های دیابتی تحت تیمار به مدت ۳۰ روز مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم عصاره هیدروالکلی ریشه به ازای هر کیلوگرم از وزن بدن از طریق گاواژ خورانده شد. گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی هم در این مدت سرم فیزیولوژی دریافت کردند.

اندازه‌گیری قند و وزن موش‌ها: کنترل گلوکز خون و وزن موش‌ها درطول ۳۰ روز مطالعه طی سه مرحله انجام شد. بدین صورت که اندازه‌گیری گلوکز با دستگاه گلوکومتر مدل ACCU-CHEK Active و اندازه‌گیری وزن با ترازوی دیجیتال بادقت ۰/۰۰۰۰۱ گرم مدل Sartorius cp225D، ابتدا ۲ روز بعد از تزریق استرپتوزوتوسین و قبل از تجویز عصاره و سپس در روزهای ۱۵ و۳۰ مطالعه انجام شد. برای اندازه‌گیری گلوکز، نمونه خون از انتهای دم موش تهیه شد و میزان گلوکز ناشتای خون آن‌ها سنجیده شد. توزین موش‌ها نیز به‌وسیله ترازوی دیجیتال انجام شد. در مطالعه‌ی حاضر از روش RTqPCR جهت بررسی افزایش بیان ژن پیرووات کیناز و از TATA-Box Protein به‌عنوان ژن مرجع استفاده گردید.

بررسی بیان ژن پیرووات کیناز: استخراج RNA از بافت کبدی کل طبق دستورالعمل کیت RTM-Hybrid Geneall (شرکت پیشگام) انجام گرفت. پس از استخراج RNA، کمیت و کیفیت آن با روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز ژل آگارز مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت سنتز cDNA از کیت Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit (شرکت پیشگام) استفاده شد. توالی پرایمرهای اختصاصی برای بیان ژن PK و هم‌چنین ژن) به‌عنوان استاندارد درونی در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- توالی پرایمرها برای بیان ژنهای PK و TBP

نام ژن	شماره دسترسی	توالی پرایمر
Forward PK	NM -۰۱۳۶۳۱	TGAAGGCGTGAAGAAG TTTGA -3'-5'
Reverse PK	NM -۰۰۱۰۹۹۷۷۹	GCAGCGTCCAATCATC ATCT -3'-5'
Forward TBP	XM -۰۰۸۰۶۷۴۸۳۰۱	GAGCCAAGAGTGAAGA ACA -3'-5'
Reverse TBP	XM -۰۰۸۰۶۷۴۸۳۰۱	TCACATCACAGCTCCCC A -3'-5'

میزان بیان ژن پیروات کیناز با روش Real time PCR: بر اساس روش استاندارد به‌صورت نسبی صورت گرفت. کمیت نسبی به وسیله اندازه گیری افزایش تشعشع فلورسنس در نتیجه اتصال رنگ (Eva Green) با استفاده از دستگاه (RG-3000 Corbett Research) انجام گرفت. میزان بیان ژن PK در نمونه با رقت سازی از نمونه cDNA نرمال برای ژن و رسم منحنی استاندارد به‌دست آمد. میزان نسبی سطوح mRNA ژن به صورت نرمالیزه در برابر TBP بیان گردید.

نتایج

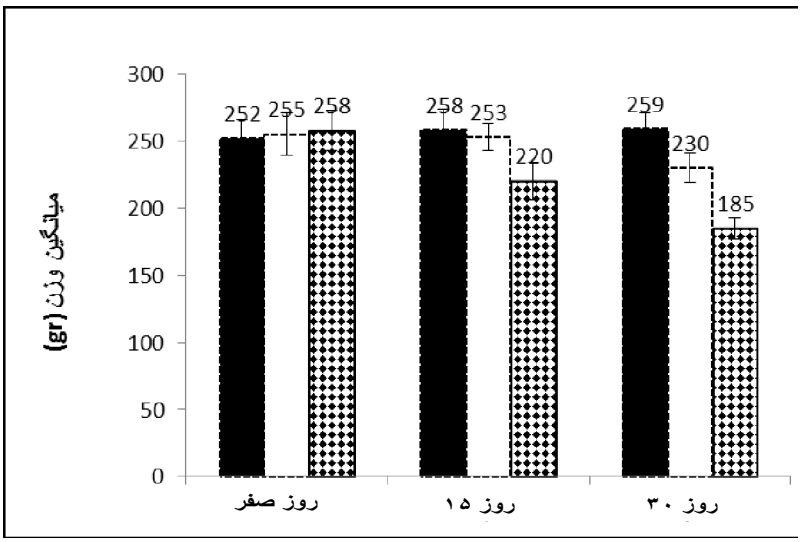
داده‌های به‌دست آمده از تحقیق با روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه[1] و آزمون های دانت تی ۳[2] و ال‌اس‌دی[3] به کمک نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. $p<۰/۰۵$ سطح معنی‌دار درنظر گرفته شد.

بررسی نتایج وزن موش‌های مورد مطالعه: در بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن حیوانات دیابتی مشخص شد. میانگین وزنی گروه دیابتی تحت تیمار عصاره با دو گروه دیگر در شروع مطالعه اختلاف معنی‌دار آماری نداشت. ولی در روز ۱۵ و ۳۰ مطالعه وزن موش‌های گروه دیابتی تحت تیمار نسبت به دو گروه دیگر با کاهش وزنی مواجه شده‌اند که در سطح معنی‌داری بود. بررسی نتایج توزین نشان داد که این کاهش از روز اول تا روز ۳۰ ادامه داشته است. به‌طوری که در روز ۱۵ نسبت به روز قبل از تجویز عصاره وزن موش‌ها با ۱۷/۹ درصد کاهش به۱۱±۲۲۰ گرم رسیدند و در روز ۳۰ نسبت به روز ۱۵ ، با ۱۸/۲ درصد کاهش وزن به ۸±۱۸۰ گرم رسیدند (شکل۱).

[1] - ANOVA
[2] - Dunnett
[3] - LSD

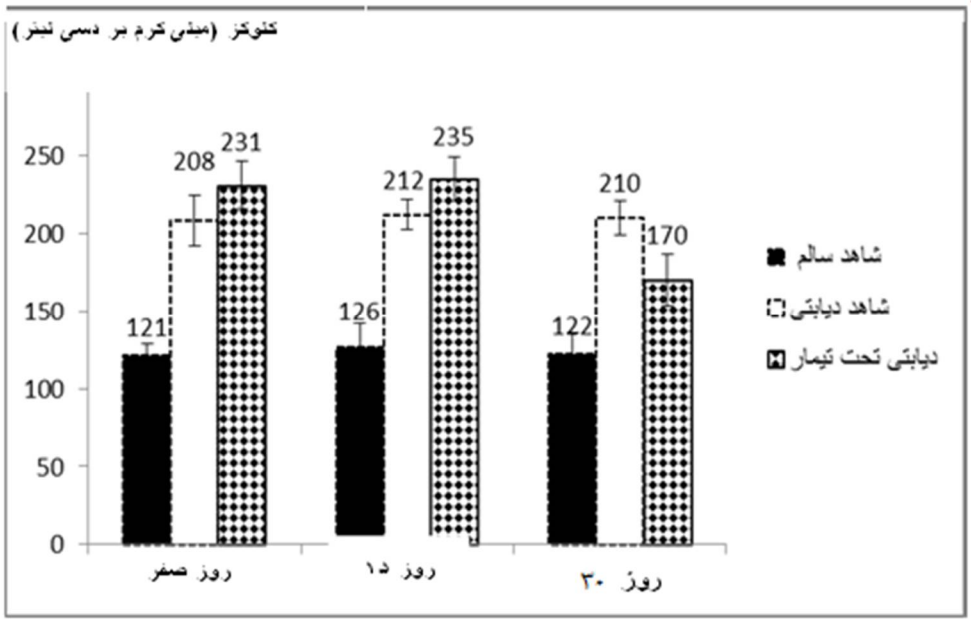
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- تاثیر مصرف عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن موش‌های صحرایی تحت مطالعه در ابتدای مطالعه، روز ۱۵ و روز ۳۰. موش‌های گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی عصاره ریشه گیاه جغجغه را دریافت نکردند و فقط غذای معمولی دریافت داشتند (وزن بدن موش‌ها به صورت انحراف معیار ± میانگین گزارش شده است).

بررسی نتایج تاثیر تجویز عصاره ریشه گیاه جغجغه بر گلوکز ناشتای سرم موش‌های مورد مطالعه: مقدار گلوکز ناشتای خون موش‌های سالم در ابتدای مطالعه، روز ۱۵ و روز ۳۰ به ترتیب برابر با ۸±۱۲۱ و ۱۶±۱۲۶ و ۱۵ ±۱۲۲ (میلی‌گرم/ دسی‌لیتر) بود. مقدار گلوکز خون موش‌های دیابتی بدون تیمار در بازه‌های زمانی مذکور به‌ترتیب برابر با ۱۱±۲۰۸ و ۹±۲۱۲ و ۱۴±۲۱۰ (میلی‌گرم/ دسی لیتر) بود و در موش‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره ریشه گیاه جغجغه برابر با ۱۴±۲۳۱ و ۱۱±۲۳۵ و ۱۷±۱۷۰ (میلی‌گرم/ دسی لیتر) بود. بررسی نتایج نشان داد که مقدار گلوکز خون موش‌های دیابتی در روز ۳۰ با ابتدای مطالعه و ۱۵سالم اختلاف معنی‌داری داشت ($p<0/05$). نتایج نشان داد که اختلاف غلظت گلوکز خون در موش‌های گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره در روز ۱۵، نسبت به روز قبل از تجویزعصاره از نظر آماری در سطح معنی‌داری نبود ($p>0/05$) . هم‌چنین در موش های دیابتی بدون تیمار اختلاف معنی‌داری بین میزان گلوکز خون در ابتدای مطالعه با روزهای ۱۵ و ۳۰ یافت نشد ($p>0/05$) و اختلاف میزان گلوکز در روزهای ۱۵ و ۳۰ هم معنی‌دار نبود ($p>0/05$) (شکل ۲).

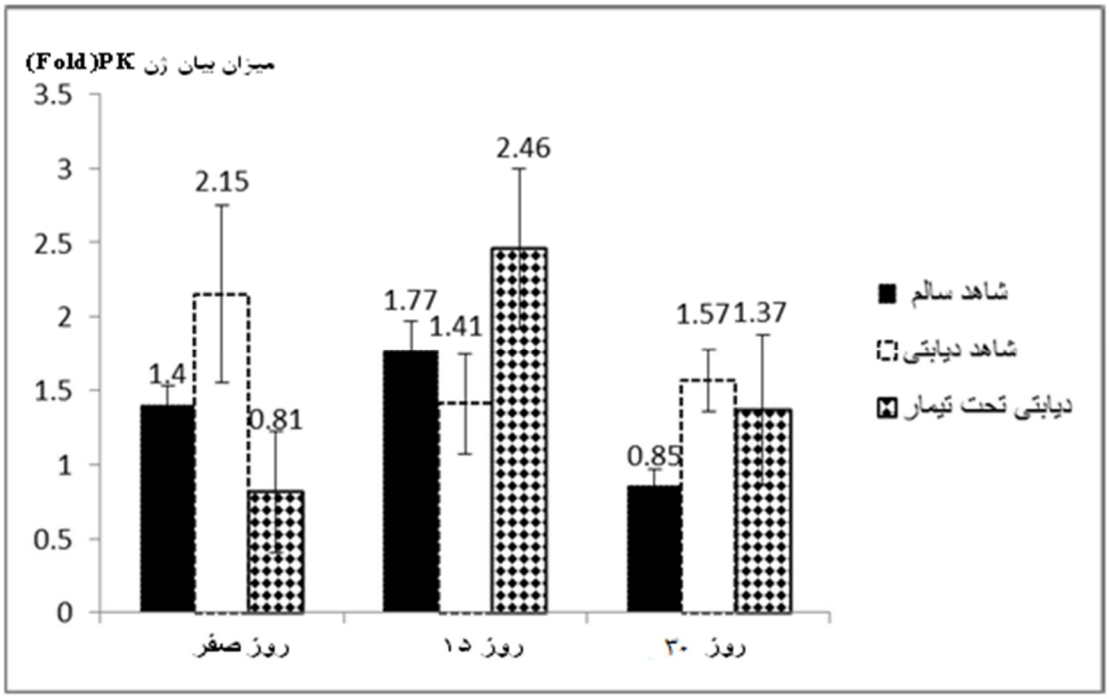


شکل ۲- اثر مصرف عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر میزان گلوکز ناشتای سرم موش‌های صحرایی. در سه گروه، شاهد سالم، شاهد دیابتی، و دیابتی تحت تیمار با عصاره ریشه گیاه جغجغه در سه مقطع زمانی قبل از تجویز عصاره، روزهای ۱۵ و ۳۰.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج بررسی بیان ژن پیرووات کیناز : میزان بیان ژن پیرووات کیناز در گروه شاهد سالم در سه مقطع زمانی روز قبل از تجویز عصاره، روزهای ۱۵ و ۳۰ به ترتیب۰/۱۳± ۱/۴۰، ۰/۶ ±۱/۷۷ و ۰/۴۱ ±۰/۸۵. به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن در این سه مقطع زمانی مشاهده نشد (مقادیر در سطح معنی‌دار بیان نشده بود. میزان بیان ژن پیرووات کیناز در گروه شاهد دیابتی در سه مقطع زمانی روز قبل عصاره، روزهای ۱۵ و ۳۰ به‌ترتیب۰/۵۴± ۲/۱۵، ۰/۳۴±۱/۴۱ و ۰/۲ ±۱/۵۷ به‌دست آمد که در این گروه هم اختلاف معنی‌داری در میزان بیان ژن مشاهده نشد ($p> ۰/۰۵$). میزان بیان ژن پیرووات کیناز در گروه تحت درمان با عصاره در سه مقطع زمانی روز قبل عصاره، روزهای ۱۵ و ۳۰ به ترتیب ۰/۸۱ ±۰/۸۱ ،۰/۲۱± ۲/۴۶ و ۰/۵۱ ±۱/۳۷ به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری در این گروه هم در سه مقطع زمانی مذکور وجود نداشت ($p> ۰/۰۵$). هم‌چنین میزان بیان ژن پیروات کیناز در گروه شاهد دیابتی نسبت به گروه شاهد سالم دارای افزایش بود اما این افزایش از نظر آماری در حد معنی‌داری بیان نشد ($p> ۰/۰۵$). ولی در گروه تحت درمان با عصاره میزان بیان ژن در روز ۱۵ نسبت به دو گروه دیگر به بیشترین مقدار خود رسید و پس از آن تا روز ۳۰ سیر نزولی داشت اما میزان تغییر مشاهده شده در بیان ژن در این گروه اختلاف معنی‌داری با موش‌های گروه شاهد سالم و شاهد دیابتی نداشت ($p> ۰/۰۵$) (شکل ۳).



شکل۳ – تغییرات بیان ژن پیروات کیناز در سه گروه شاهد سالم، شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار در سه مقطع زمانی قبل از تجویز عصاره، روز ۱۵ و ۳۰ بعد از تجویز عصاره

بحث

این پژوهش به منظور بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی ریشه گیاه جغجغه بر روی وزن بدن، گلوکز ناشتای خون و میزان بیان ژن پیروات کیناز در موش‌های صحرایی در سه گروه شاهد سالم، شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار با عصاره ریشه صورت گرفت. مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی با مکانیزم‌های متفاوتی مانند: افزایش ترشح انسولین، فعال کردن مسیر کاتابولیسم گلوکز، مهار یا غیر فعال کردن مسیر گلوکونئوژنز، هدایت گلوکز به داخل سلول، جذب گلوکز آزاد و ممانعت از اتصال آن به پروتئین‌ها و ممانعت از جذب گلوکز از روده، قند خون را کاهش می‌دهند (۱۱).

گیاه جغجغه یکی از گیاهان دارویی است که اثرات ضد دیابتی، ضد التهابی و التیام بخشی این گیاه در برخی تحقیقات گزارش شده است. از طرفی پیروات‌کیناز یک آنزیم گلیکولیتیک است که به آهستگی کاتالیز می‌شود و در حضور فسفوانول‌پیرووات (PEP) منجر به فسفوریلاسیون آدنوزین دی فسفات (ADP) و آدنوزین‌تری‌فسفات (ATP) می‌شود. ایزوفرم M2 پیروات-کیناز (PKM2) یک تنظیم‌کننده کلیدی سوخت و ساز و واسطه گلیکولیتیک است و توانایی تغییر متابولیسم گلوکز را

www.SID.ir

Archive of SID

دارد (۱۲،۱۳). به‌علاوه نقش PKM2 در رونویسی ژن و توانایی آن به عنوان پروتئین‌کیناز نیز حائز اهمیت است (۱۲). آنالیز بیان ژن می‌تواند در فراهم کردن اطلاعاتی در زمینه‌ی عوامل موثر در پیش‌آگهی بیماری مفید واقع شود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد در ۱۵ روز اول میزان بیان ژن پیرووات کیناز در موش‌های گروه دیابتی تحت درمان با عصاره ریشه جغجغه نسبت به دو گروه دیگر افزایش داشته اما این افزایش از نظر آماری در سطح معنی‌داری نبوده است، هم چنین با توجه به کاهش بیان ژن از روز ۱۵ تا روز ۳۰ به‌نظر می‌رسد که اثر تجویز عصاره کوتاه مدت بوده و موش‌ها بعد از مدتی با شرایط جدید سازگار شده‌اند که سازگاری سریع احتمالا از طریق سازگاری در فرآیند سوخت و ساز ایجاد شده است. بررسی اثر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر وزن حیوانات دیابتی مشخص نمود که کاهش وزن مشاهده شده مستمر بوده و وزن موش-های این گروه در پایان مطالعه نسبت به دو گروه دیگر اختلاف معنی‌داری دارد.

همچنین در این مطالعه تاثیر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه بر سطح گلوکز خون موش‌های دیابتی بررسی شد. بر اساس نتایج به‌دست آمده ، تا روز ۱۵ مصرف عصاره، اختلاف آماری معنی‌داری در گلوکز ناشتای سرم در گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره ریشه گیاه جغجغه نسبت به گروه شاهد دیابتی مشاهده نشد اما در پایان روز ۳۰ مطالعه سطح گلوکز خون گروه تحت تیمار با عصاره نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش چشمگیری یافت که این کاهش از نظر آماری در سطح معنی-داری بود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که مواد مؤثر موجود در گیاهان دارویی، از طریق مکانیزم‌های متفاوتی قادر به کاهش قند خون هستند. محققین نشان داده‌اند که تریگونلین یک ترکیب آلکالوئیدی است که دارای نقش هورمونی در گیاهان می‌باشد. این آلکالوئید دارای خواص دارویی مهمی نظیر اثرات ضد سرطان، ضد میگرن، پایین‌آورندگی چربی خون و ضد دیابت می‌باشد. مطالعه دیگری در محیط کشت گیاه جغجغه نشان داده است که مقداری تریگونلین در بخش‌های هوایی و همچنین در ریشه این گیاه وجود دارد (۱۱). بر اساس نتایج مطالعات پیشگفت می‌توان احتمال داد که کاهش گلوکز خون مشاهده شده در این مطالعه ناشی از وجود این ماده در عصاره ریشه گیاه جغجغه باشد. بنابراین با توجه به نتایج تاثیرگذار عصاره ریشه این گیاه در کاهش وزن موش‌های دیابتی نسبت به موش‌های دو گروه دیگر و کاهش میزان گلوکز خون موش-های دیابتی تحت تیمار نسبت به گرو شاهد دیابتی، می‌توان گفت عصاره ریشه گیاه جغجغه دارای اثرات ضددیابتی می‌باشد که این کار را احتمالا از طریق تغییر سوخت و ساز سلولی انجام می‌دهد. اگر چه لازم است با به‌کارگیری غلظت‌های دیگر این عصاره و هم چنین تغییرات مدت زمان مطالعه نقش دقیق‌تر این گیاه را در کاهش وزن و گلوکز خون بررسی نمود.

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که احتمالا تجویز عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه جغجغه توانسته از طریق تغییر میزان بیان ژن پیرووات کیناز باعث کاهش گلوکز خون شود.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1- Ogden CL, Carroll MD, Kit BK, Flegal KM. Prevalence of childhood and adult obesity in the united states, 2011-2012. JAMA. 2014;311(8):806-14.

2- Rossner S. Obesity: the disease of the twenty-first century. Int J Obes. 2002; 26 (S4):S2.

3- Seidell JC. 4 Worldwide Prevalence of Obesity in Adults. Handbook Of Obesity: Epidemology, Etiology, And Physiopathology. 2014;1:47.

4- Mohtasham Amiri Z, Maddah M. Prevalence of overweight and obesity among female medical students in Guilan-2003. IJEM. 2006;8(2):157-62. [In persian]

5- Mostafavi H, Dabagh Manesh M, Zare N. Prevalence of obesity and over weight in adolescents and adult population in Shiraz. IJEM. 2005;7(1):57-66. [In persian]

6- Haslam DW, James WPT. Obesity. The Lancet. 2005;366(9492):1197-209.

7- Must A, Spadano J, Coakley EH, Field AE, Colditz G, Dietz WH. The disease burden associated with overweight and obesity. JAMA. 1999;282(16):1523-9.

8- WHO. Physical status: The use of and interpretation of anthropometry, Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization; 1995.

9- Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults, 1999-2010. JAMA. 2012; 307(5):491-7.

10- Esteghamati A, Etemad K, Koohpayehzadeh J, Abbasi M, Meysamie A, Noshad S, et al. Trends in the prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in association with obesity in Iran: 2005-2011. Diabetes Res Clin Pract. 2014;103(2):319-27.

11- Barzin M, Hosseinpanah F, Arzhan S, Azizi F. Trends of obesity and abdominal obesity in Tehranian adults (1999-2008). Pajoohandeh Journal. 2011;16(5):212-8. [In persian]

12- Janghorbani M, Amini M, Willett WC, Gouya MM, Delavari A, Alikhani S, et al. First nationwide survey of prevalence of overweight, underweight, and abdominal obesity in Iranian adults. Obesity. 2007;15(11):2797-808.

13- Najmabadi SH, Nojomi M, Moradi Lakeh M. Composition of daily dietary fat intake in university students' diet. Hakim Res J. 2008;11(2):47-53. [In persian]

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of hydro-alcoholic extract of Prosopis farcta on weight, blood glucose and gene expression of Pyruvate Kinase in Diabetic Rats (Type1)

Amir Bazi Shad [1], Hamid RezaMiri*[2], Sedighe Esmaeilzadeh Bahabadi[3], Mohammad Rrza Hajinezhad[4], Fatemeh Dahmardeh Ghale- no [3], Hadi Sabori[5] ,Majid Hassanzadeh[2]

1- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran
2- Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Torbat Heydariyeh, Iran
3- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran
4- Department of basic veterinary science, Faculty of veterinary medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
5- Department of Statistics, Faculty of Basic Sciences, University of Zabol, Zabol, Iran

***Corresponding Address: Torbat Heydariyeh University of Medical Sciences, Razi St., North Ferdosi Ave., Torbat Heydariyeh, Khorasan Razavi, Iran. Email: mirih1@thums.ac.ir**

Abstract

Background & Aim: Plants are useful natural sources of antioxidants for improving blood glucose control and preventing long-term complications of diabetes. The use of medicinal plants in the treatment of diabetes has shown significant impacts in reducing blood glucose in diabetic patients. The aim of the present study was to evaluate the effect of hydro – alcoholic extract of Prosopis farcta root on blood glucose, body weight and gene expression of pyruvate kinase (PK) in diabetic rats.

Methods: 45 male wistar rats (average 250 gr) were randomly divided into three groups equally: healthy controls and diabetic controls and diabetic treated with the hydro-alcoholic extract of Prosopis farcta root. Type 1 diabetes was induced by i.p injection of streptozotocin (60 mg / kg BW). Rats were weighted at day 0, 15 and at the end of the study. Diabetic rats treated daily with 300 (mg/kg) for 30 days. Healthy control and diabetic control groups received distilled water during this time. Blood glucose and PK gene expression were measured on the 0, 15 and 30th days after feeding hydroalcoholic root extract of P. farcta. The data were analyzed by one-way ANOVA followed by LSD, and Dunnet T3 post-hoc test ($P < 0.05$).

Results: PK gene expression analysis showed its expression increased in treated rats compared to the control diabetes group on the 15th day of study but this declined on the 30th day ($p<0.05$). Also administration of P. farcta to diabetic rats resulted in a significant increase in body weight and a marked hypoglycemic effect was also seen in them ($p<0.05$).

Conclusion: According to achieved data of this study, it is suggested that a treatment of diabetic rats with hydro alcoholic root extract of Prosopis farcta could possibly reduce blood glucose by increasing the expression of PK.

Keywords: *Prosopis farcta*, Pyruvate kinase; Type 1 Diabetes

www.SID.ir