Archive of SID

بررسی اثرات بیولوژیک یک فرآورده‌ی طبیعی تهیه شده از گیاه چغندر قند (*Beta vulgaris* subsp. Cicla) به عنوان مواد زاید جامد کشاورزی در موش‌های دیابتی

محمد ملکوتیان[1]، میلاد مولودی زرگری[2]، محمدحسین اصغری[3]، حسین جعفری منصوریان[1،4،5]*

۱- مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط، گروه مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان، ایران
۲- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، ارومیه، ایران
۳- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساری، ساری، ایران
۴- دانشجوی دکتری مهندسی بهداشت محیط، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
۵- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد همدان، همدان، ایران
* آدرس مکاتبه: کرمان، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دانشکده بهداشت، گروه مهندسی بهداشت محیط، مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط
تلفن: ۳۱۳۲۵۰۷۴ (۰۳۴)، نمابر: ۳۱۳۲۵۱۰۵ (۰۳۴)
پست الکترونیک: h.mansoorian@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۲۸ **تاریخ تصویب:** ۹۵/۱۰/۱

چکیده

مقدمه: دیابت تیپ ۱، یک بیماری مزمن با واسطه‌ی سیستم ایمنی می‌باشد که شیوع آن در دو دهه گذشته به طورچشمگیری افـزایش یافته است.

هدف: هدف از این مطالعه، بررسی تأثیر تجویز خوراکی عصاره‌ی آبی برگ گیاه چغندر قند به عنوان مواد زاید جامد کشاورزی بـر روی سیمای ایمونولوژیک در موش‌های دیابتی شده توسط STZ بود.

روش بررسی: در این مطالعه، تعداد ۲۰ موش نر نژاد خالص C57 BL/6 با محدوده‌ی سنی ۸-۶ هفته در ۴ گـروه ۵ تـایی (گـروه کنترل، دیابتی، درمانی و پیش درمانی) قرار گرفتند. در گروه‌های دوم، سوم و چهارم به کمک پنج تزریـق متـوالی، روزانـه mg/kg STZ ۴۰ دیابت القا شد. قند خون ناشتای موش‌ها به صورت هفتگی ثبت می‌شد. در پایان دوره‌ی مطالعه، موش‌ها آسان کشی شده و پس از برداشت طحال و کشت سلول‌های آن، جهت بررسی میزان تکثیر لنفوسیتی و شدت انفجار تنفسی مورد آزمایش قرار گرفتند.

نتایج: نتایج نشان داد که تجویز عصاره‌ی برگ گیاه چغندر به طور معنی‌داری باعث کاهش قند خون در موش‌های دیـابتی مـی‌شـود (P<۰/۰۵). میزان تکثیر لنفوسیتی در گروه‌های درمانی و پیش درمانی نسبت به گروه دیابتی کاهش معنـی‌داری نشـان داد (P<۰/۰۵). همچنین، تجویز عصاره، به طور معنی‌داری باعث برگرداندن شدت انفجار تنفسی کاهش یافته ناشی از تزریق STZ به میزانی نزدیـک به گروه کنترل در گروه‌های درمانی و پیش درمانی شد (P<۰/۰۵).

نتیجه‌گیری: بر اساس یافته‌های حاصل از مطالعه نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره‌ی برگ گیاه چغنـدر قنـد اثـرات مثبتـی در کـاهش عوارض و تغییرات ایمونولوژیک مدل دیابت خود ایمن در موش دارد.

گل‌واژگان: چغندرقند، استرپتوزوتوسین، دیابتخودایمن، تکثیرلنفوسیتی

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

دیابت تیپ ۱ (Type 1 Diabetes=T1D)، یک بیماری مزمن خودایمن است که با نفوذ سلول‌های ایمنی به جزایر پانکراس و تخریب سلول‌های بتای تولید کننده‌ی انسولین مشخص می‌شود [۱]. شیوع دیابت تیپ ۱ در دو دهه‌ی گذشته به طور چشمگیری در سراسر جهان افزایش داشته است. آخرین مطالعات آماری که در این زمینه به دست آمده نشان می‌دهد که بیش از ۲۳۰ میلیون نفر در سراسر دنیا از این بیماری رنج می‌برند و پیش‌بینی می‌شود که این تعداد در سال ۲۰۲۵ به ۳۷۰ میلیون نفر برسد. گزارش‌های این بیماری در ایران نشان از شیوع ۱/۲ الی ۱۴/۵ درصدی این بیماری دارد [۲]. جهت درمان و یا کنترل بیماری دیابت روش‌های درمانی مختلفی مانند استفاده از داروهای طبیعی به عنوان مداخله‌گرهای کاهش دهنده قند و چربی خون مبتلایان به دیابت مورد بررسی قرار گرفتند. برای مثال، عصاره سیب‌زمینی هندی، گل ختمی چینی، صبر زرد و شوید موجب کاهش میزان کلسترول تام و تری‌گلیسیرید سرم و همچنین بهبود حساسیت انسولینی موش‌های صحرایی نر دیابتی می‌شود [۴، ۳]. در این مطالعه محققین برای اولین بار از عصاره برگ گیاه چغندر قند به عنوان مواد زاید جامد کشاورزی جهت یافتن دارویی ارزان قیمت با اثرات جانبی کم برای درمان و بهبود دیابت خود ایمن استفاده نمودند.

چغندر قند (*Beta vulgaris* subsp. Cicla) که تحت عنوان Chard نیز شناخته می‌شود، گیاهی از خانواده‌ی Amaranthacea با برگ‌های سبز می‌باشد که به فراوانی در سراسر جهان به مصرف می‌رسد. این گیاه در طب سنتی کشور همسایه‌ی ترکیه به عنوان کاهنده‌ی قند خون مورد استفاده بوده است [۶، ۵]. اثرات هایپوگلایسمیک این گیاه در طی مطالعات تجربی پیشین نیز به اثبات رسیده است [۷]. مهم‌ترین ترکیبات موجود در گیاه چغندر قند betalain ها می‌باشند که betanin به تنهایی ۷۸-۷۵ درصد آنها را به خود اختصاص می‌دهد. این ترکیبات رنگی دارای اثرات درمانی متنوعی از جمله اثرات ضدتوموری، ضدنفخ، اثرات قلبی عروقی، آنتی‌اکسیدانتی و غیره می‌باشند [۸، ۵]. هدف از این مطالعه در این کار تحقیقاتی اثرات تجویز عصاره آبی برگ گیاه چغندر بر روی سیمایایمونولوژیک دیابت تجربی خود ایمن در موش‌های C57 BL/6 مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

حیوانات و گروه بندی

جامعه‌ی مورد مطالعه شامل موش‌های نر نژاد خالص C57BL/6 با محدوده‌ی سنی ۶ تا ۸ هفته (وزن ۲۰- ۱۵ گرم) بودند که از انیستیتو پاستور ایران خریداری شدند و به صورت تصادفی به چهار تقسیم شده و در هر گروه ۵ عدد موش قرار گرفت. گروه A شامل موش‌های سالمی بودند که تحت هیچ تیماری قرار نگرفتند (Control). گروه B شامل موش‌های دیابتی بودند که تنها بیماری دیابت در آنها القاء شده بود. جهت القای دیابت، ۵ تزریق متوالی STZ (Streptozotocin، شرکت Sigma، آلمان) به مدت ۵ روز، روزانه ۴۰ mg/kg [۱۰، ۹] در حجم ۰/۱ میلی‌لیتر بافر سیترات به صورت داخل صفاقی انجام شد (STZ). گروه C شامل موش‌هایی بودند که همزمان با شروع القای بیماری شروع به دریافت عصاره‌ی آبی برگ چغندر قند نمودند (Pre-Treatment). گروه D شامل موش‌هایی بودند که ۲۴ ساعت بعد از دریافت آخرین دوز STZ و تأیید دیابتی شدن آنها، عصاره‌ی آبی برگ گیاه چغندر قند به صورت نامحدود در دسترس آنها قرار گرفت. (Treatment). هر گروه از موش‌ها در قفس‌های مجزا و تمیز در اتاقی با دمای بین ۲۵ - ۲۱ سانتی‌گراد و سیکل شبانه روزی استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با تهویه‌ی مناسب و یک پنجره‌ی بزرگ نورگیر در اتاقی ساکت و مجزا نگهداری می‌شدند و به مقدار نا محدود به آب و غذا دسترسی داشتند و بعد از یک هفته نگهداری جهت تطابق با شرایط محیطی به طور تصادفی در گروه‌های مربوطه قرار داده شدند. تیمارها به مدت چهار هفته از زمان تأیید دیابتی شدن ادامه یافت و در نهایت موش‌ها آسان‌کشی شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

عصاره‌گیری

جهت عصاره‌گیری، بر اساس روش بولکنت (Bolkent) و همکاران (۲۰۰۰) صورت گرفت با این تفاوت که در طی عصاره‌گیری جهت جلوگیری از غیرفعال شدن احتمالی مواد مؤثره‌ی گیاه، جوشانده نشد [۱۱]. جهت عصاره‌گیری، برگ گیاه چغندر قند تهیه و روی یک پارچه تمیز پهن شده، به مدت ۸ روز در سایه خشکانده و سپس به شکل پودر در آورده شد. در مرحله‌ی بعد، ۲۵۰ گرم پودر برگ چغندر قند در ۲ لیتر آب دیونیزه حل شده و در یک ارلن ۲ لیتری نگهداری شد. درب ظرف با چوب پنبه و پارافین محکم بسته شده و به مدت ۵ روز دور از تابش نور خورشید نگهداری شد. در این فاصله محتویات داخل ظرف هر چند ساعت یک بار همزده می‌شد. بعد از گذشت ۵ روز و پس از صاف کردن‌های متعدد، مخلوط حاصل به اتاق روتاری انتقال داده شده و به کمک دستگاه روتاری در محیطی با مکش منفی کاملاً آبگیری شد. این عمل تا زمان رسیدن به قوامی مشابه عسل ادامه داشت. درنهایت، عصاره‌ی آبگیری شده از ظرف برداشت شده و در ظرفی جدا در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در یخچال نگهداری شد [۱۲].

القای دیابت

قبل از تجویز هر دز STZ، موش‌ها به مدت ۴ ساعت در شرایط ناشتا نگهداری می‌شدند (تمامی گروه‌ها) و همزمان بستر آنها هم جمع‌آوری می‌شد؛ سپس STZ را به صورت داخل صفاقی تا ۵ روز متوالی دریافت می‌کردند [۱۰، ۹].

اندازه‌گیری قند خون ناشتا

به منظور اندازه‌گیری قند خون، بعد از مقید کردن حیوانات از ورید دمی آنها اقدام به خون‌گیری نموده و سپس توسط دستگاه خودکار گلوکومتر (Glucometer Arkray, Japan) میزان قند خون آنها در روزهای ۰ (قبل از تزریق اولین دوز STZ)، ۷، ۱۴، ۲۱ و ۲۸ بررسی شد. (قبل از ارزیابی، تمامی گروه‌ها به مدت ۴ ساعت در حالت ناشتا نگهداری شدند.) قند خون بالای ۲۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر، به عنوان دیابتی در نظر گرفته شد [۱۳].

آسان‌کشی و برداشت طحال

موش‌ها بعد از آخرین اندازه‌گیری قند خون به آزمایشگاه ایمنولوژی انتقال یافته و توسط ترکیب کتامین (۶۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) آسان‌کشی شده و مراحل برداشت طحال با رعایت اصول بهداشتی انجام و بلافاصله به محیط کشت RPMI انتقال یافت [۱۴].

تست تکثیر لنفوسیتی

جهت سنجش تکثیر لنفوسیتی، بافت طحال در ۱۵ میلی‌لیتر محیط کشت RPMI-1640 (شرکت Sigma – آمریکا) حاوی ۱۰ درصد، FBS (شرکت Gibco – آلمان) قطعه قطعه و له شد. بافت حاصل از توری سیمی به قطر ۰/۲ میلی‌متر عبور داده شده و پس از سانتیریفیوژ به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۰۰۰ دور، به منظور حذف RBC ها، بر روی رسوب سلولی به دست آمده ۱۵ میلی‌لیتر بافر لیزکننده افزوده شد. پس از پستشو و سانتریفیوژ، رسوب سلولی در محیط کشت RPMI حاوی ۱۰ درصد FBS به حالت سوسپانسون در آورده شد. پس از شمارش سلول‌ها سوسپانسونی حاوی 1×10^6 cell/ml تهیه شده و ۱۰۰ µl از آن در هر یک از چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه‌ای ته تخت ریخته شد. برای هر نمونه سه تکرار بدون حضور پادگن و سه تکرار در حضور ۵۰ µl از محلول فیتوهماگلوتینین (۱ mg/ml) در نظر گرفته شد. به عنوان بلانک نیز در سه چاهک از محیط RPMI خالی استفاده شد. بعد از ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری در انکوباتور حاوی ۵ درصد CO_2 به هر چاهک ۲۵ µl محلول MTT 5 mg/ml در PBS افزوده شده و به مدت ۴ ساعت دیگر گرمخانه‌گذاری شد. DMSO اضافه شده و سپس شدت رنگ در طول موج ۴۹۰ nm تعیین و ایندکس تحریک بر اساس رابطه زیر محاسبه شد [۱۵].

تست انفجار تنفسی

2×10^6 cell/ml از سلول‌ها در پلیت‌های کشت ۲۴ خانه به مدت دو ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد و ۵ درصد دی‌اکسیدکربن انکوبه شد، سپس خانه‌ها با محیط کشت هنکس

www.SID.ir

Archive of SID

به منظور حذف لنفوسیت‌ها شستشو داده شدند. سلول‌های باقیمانده (مونوسیت/ماکروفاژها) به مدت یک ساعت با مخمر اپسونیزه انکوبه شد. آنگاه ۱۰۰ میکرولیتر محلول زیموزان و NBT (نیترو بلو تترازولیوم) به هریک از خانه‌ها اضافه شد و به مدت یک ساعت دیگر انکوبه شد. در نهایت ۴۰۰ میکرولیتر N-N دی‌متیل فورماید به هر یک از خانه‌ها اضافه شد و و با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. ۲۰۰ میکرولیتر از مایع رویی از هر یک از خانه‌ها را در میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای ریخته و نتیجه با الایزا نگار در طول موج ۵۴۰ nm قرائت شد [۱۵].

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از روش‌های مبتنی بر روش‌های آماری مورد بررسی قرار گرفت. فرض نرمال بودن داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro–Wilk test مورد بررسی قرار گرفت. میانگین داده‌ها در چهار گروه مورد بررسی از نظر وجود اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون One Way ANOVA انجام شد و همچنین با استفاده از آزمون تعقیبی TUKEY مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نتایج قند خون (گلوکومتری)

قند خون موش‌ها بعد از اندازه‌گیری و ثبت شدن در هفته‌های مختلف مورد آنالیز و بررسی قرار گرفت که به طور مشترک در یک نمودار بیان شد.

با توجه به نمودار شماره ۱، تغییرات قند خون حاکی از افزایش قابل توجه سطح قند خون در موش‌های دیابتی شده نسبت به موش‌های سالم می‌باشد. تفاوت قند خون در هفته اول پس از تجویز دوز پنجم STZ نسبت به گروه کنترل کاملاً مشهود است. به طوری‌که یک افزایش حداقل ۴/۰۷ برابری در سطح قند خون، نسبت به موش‌های گروه STZ مشاهده می‌شود. تغییرات قند خون کم و بیش تا انتهای مطالعه وجود داشت به طوری‌که در آخر مطالعه سطح قند خون موش‌های گروه دیابتی نسبت به موش‌های گروه کنترل حداقل ۳/۷۸ برابر بود. در موش‌های گروه درمانی (Treatment) سطح قند خون مشابه موش‌های دیابتی شده در هفته اول است ولی به تدریج در هفته دوم میزان قند خون رو به کاهش بوده است. به طوری که تغییرات قند خون در هفته دوم و سوم نسبت به موش‌های گروه STZ شروع به کاهش یافت. این تغییر از هفته سوم به بعد از نظر آماری معنی‌دار بود (P< ۰/۰۵). کاهش قند خون در موش‌های دیابتی شده در موش‌های پیش‌درمانی (Pre-Treatment) از همان هفته اول پس از تجویز STZ کاملاً مشهود بود. با این وجود این موش‌ها نیز نسبت به گروه کنترل افزایش قند حداقل ۳/۳ برابری را نشان می‌دادند. کاهش سطح قند خون در این موش‌ها از همان هفته اول نسبت به گروه STZ کاملاً معنی‌دار بود و در سرتاسر مطالعه نیز همچنان معنی‌دار باقی ماند (P<۰/۰۵). در مجموع می‌توان گفت که گروه پیش درمانی در کاهش قند خون، نسبت به گروه درمانی موفق‌تر بوده است و توانسته در سرتاسر مطالعه اختلاف معنی‌دار خود را با گروه STZ حفظ کند. با این حال بر آیند این دو درمان تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P>۰/۰۵).

نتایج ایمونولوژی

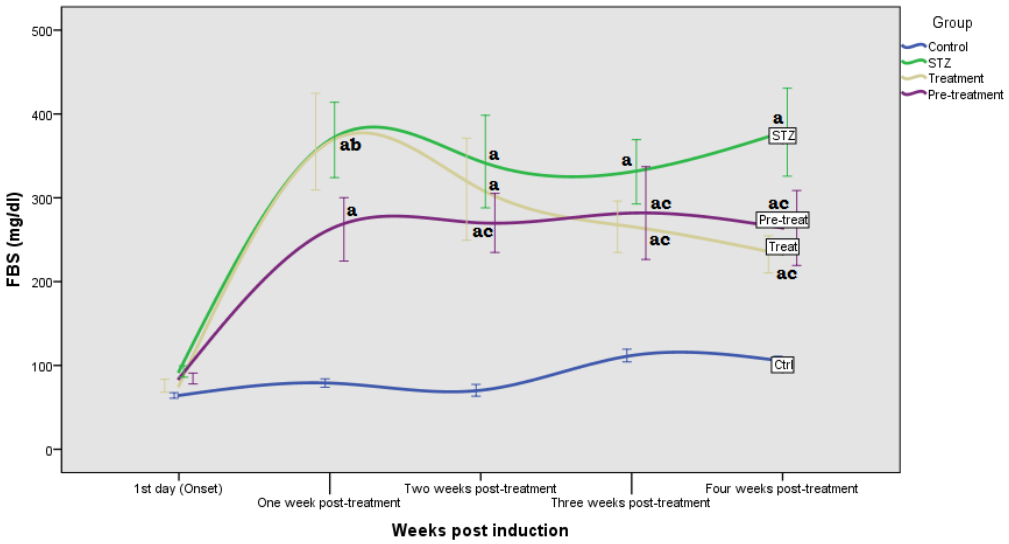
نتایج تست تکثیر لنفوسیتی (MTT) از نظر آماری بررسی شده و در قالب نمودار شماره ۲ ارائه شده است.

نتایج نمودار شماره ۲ حاکی از افزایش معنی‌دار تکثیر لنفوسیت‌های طحال در پاسخ به میتوژن (PHA) در گروه موش‌های دیابتی نسبت به موش‌هایی سالم می‌باشد (P<۰/۰۵). این تکثیر هم در گروه پیش درمانی و هم در گروه درمانی با عصاره‌ی برگ گیاه چغندر قند به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده است (P<۰/۰۵) که نشان دهنده‌ی تأثیر مثبت درمان با عصاره می‌باشد. ظاهراً میزان این اثر در گروه پیش درمانی بیشتر از گروه درمانی بوده است، با این وجود تفاوت بین گروه پیش درمانی و گروه درمانی معنی‌دار نیست (P>۰/۰۵).

نتایج تست انفجار تنفسی (NBT) نیز از نظر آماری بررسی شده و در قالب نمودار شماره ۳ ارائه شده است.

www.SID.ir

Archive of SID



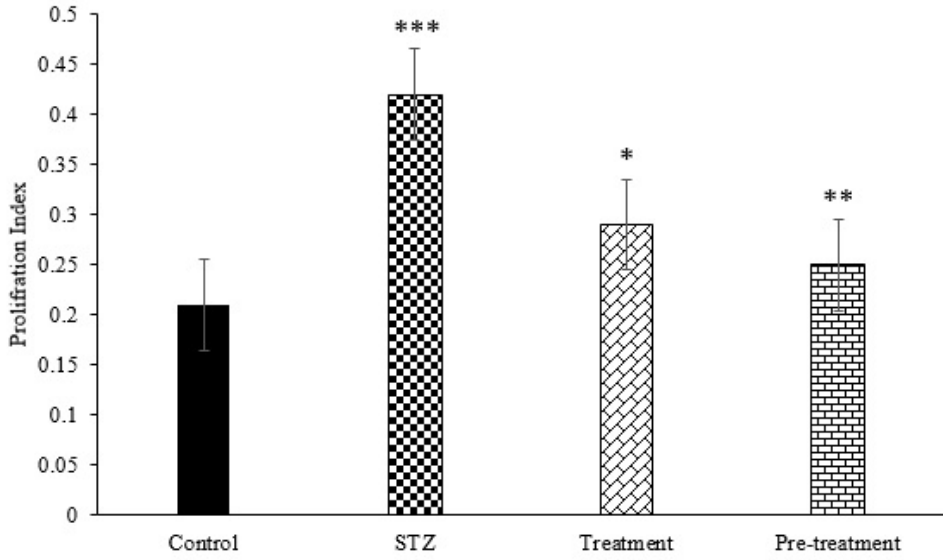
نمودار شماره ۱- بررسی تغییرات هفتگی قند خون پس از القا دیابت (واحد اندازه‌گیری قند خون mg/dl است)

a: نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل (P<۰/۰۵)

b: نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنادار نسبت به موش‌های گروه پیش درمانی (P< ۰/۰۵)

c: نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنادار نسبت به موش‌های گروه دیابتی (P< ۰/۰۵)

Control: گروهی که هیچ ماده‌ای دریافت نکردند، STZ: گروه دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین، Treatment: گروه دریافت کننده عصاره ۲۴ ساعت بعد از دریافت استرپتوزوتوسین، Pretreatment: گروه دریافت‌کننده عصاره به همراه دریافت استرپتوزوتوسین

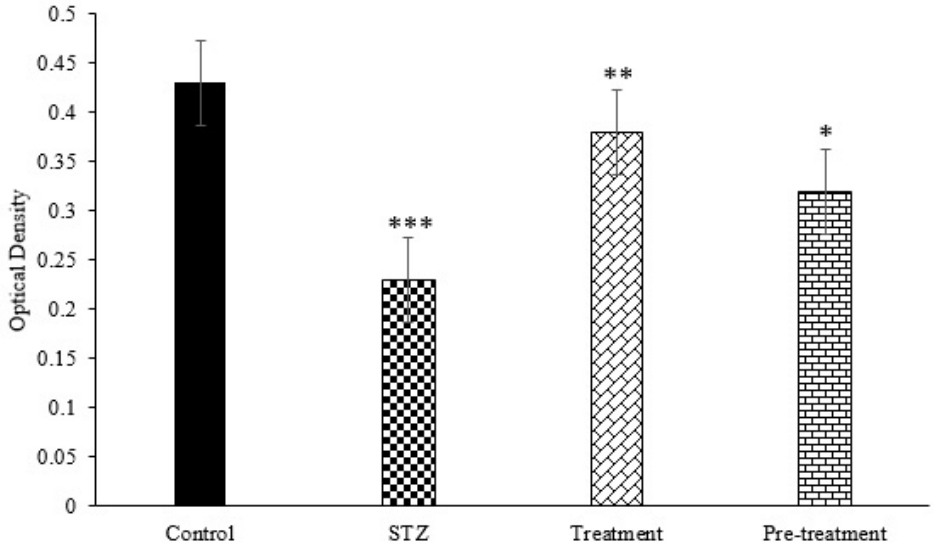


نمودار شماره ۲- نتایج تست تکثیر لنفوسیتی جهت نشان دادن تأثیر عصاره‌ی برگ گیاه چغندر قند در گروه‌های درمانی و پیش درمانی در مقایسه با گروه‌های دیابتی و کنترل. **، * (P<۰/۰۵)

Control: گروهی که هیچ ماده‌ای دریافت نکردند، STZ: گروه دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین، Treatment: گروه دریافت کننده عصاره ۲۴ ساعت بعد از دریافت استرپتوزوتوسین، Pretreatment: گروه دریافت‌کننده عصاره به همراه دریافت استرپتوزوتوسین

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار شماره ۳- نتایج تست انفجار تنفسی جهت نشان دادن تأثیر عصاره‌ی برگ گیاه چغندرقند در گروه‌های درمانی و پیش درمانی در مقایسه با گروه‌های دیابتی و کنترل.، * (P<۰/۰۵)**

Control: گروهی که هیچ ماده‌ای دریافت نکردند، STZ: گروه دیابتی القا شده با استرپتوزوتوسین، Treatment: گروه دریافت‌کننده عصاره ۲۴ ساعت بعد از دریافت استرپتوزوتوسین، Pretreatment: گروه دریافت‌کننده عصاره به همراه دریافت استرپتوزوتوسین

نتایج نشان می‌دهد میزان انفجار تنفسی سلول‌های ذاتی طحال، در گروه دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش داشته است (P<۰/۰۵). درمان با عصاره‌ی برگ گیاه چغندرقند این فعالیت سلول‌های ذاتی را به طور قابل توجهی افزایش داده (P<۰/۰۵) به طوری که میزان آن در گروه درمان به حالت نرمال (گروه کنترل) نزدیک شده و اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل ندارد (P>۰/۰۵). گروه پیش‌درمان نیز اثر مشابه ولی ضعیف‌تری نسبت به گروه درمانی داشته اما این حال نسبت به گروه دیابتی افزایش معنی‌داری دارد (P>۰/۰۵).

بحث

تاکنون مدل‌های حیوانی متنوعی برای مطالعه‌ی دیابت مورد استفاده قرار گرفته است. از جمله‌ی آنها می‌توان به موش‌های NOD، BALB/cByJ و C57/BL6 [۱۶]، اشاره کرد. همچنین موش‌های تغییر یافته‌ی ژنتیکی نیز که استعداد بیشتری برای ابتلا به دیابت دارند، بدین‌منظور مورد استفاده قرار گرفته اند [۱۷]. با این وجود، روند بیماری در این مدل‌ها به طور کامل مشابه آنچه که در انسان رخ می‌دهد، نمی‌باشد [۹]. این واقعیت باعث شده است که برای ایجاد مدل‌های مشابه‌تر با مدل دیابت تیپ ۱ انسانی تلاش‌هایی صورت بگیرد که از جمله‌ی آن دیابت خود ایمن القا شده بوسیله‌ی سیکلوفسفامید و یا تجویز متعدد دوزهای پایین استرپتوزوتوسین می‌باشد. سیکلوفسفامید با مهار سلول‌های T تنظیمی و افزایش واکنش سیستم ایمنی علیه سلول‌های بتای پانکراس و استرپتوزوتوسین با اثر مستقیم روی سلول‌های پانکراس، باعث آسیب دیدن آنها و واکنش‌پذیری لنفوسیت‌ها علیه آن می‌شود [۱۸]. در مطالعه‌ی حاضر، از موش‌های نژاد خالص C57/BL6 استفاده شد که علت این انتخاب، استعداد ذاتی این موش‌ها به دیابت خود ایمن می‌باشد [۱۹]. به منظور القای دیابت تیپ یک، مشابه آنچه که در مطالعات گذشته به عنوان مدل‌های پیش کلینیکی دیابت خود ایمن در نظر گرفته شده است [۱۸، ۱۰]، از تجویز متعدد دوز پایین استرپتوزوتوسین (۴۰ mg/kg) استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه‌ی نتایج قند خون و هیستوپاتولوژیک بین گروه‌های STZ و کنترل، به طور هماهنگ با مطالعات قبلی تأییدکننده‌ی اثرگذاری استرپتوزوتوسین و القای موفق دیابت در این مطالعه بود. در نتیجه‌ی تفسیر قند خون می‌توان گفت که در مجموع گروه پیش‌درمانی در کاهش قند خون، نسبت به گروه درمانی موفق‌تر بوده است و توانسته در سرتاسر مطالعه اختلاف معنی‌دار خود را با گروه STZ حفظ کند. با این حال بر آیند این دو درمان تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (P> ۰/۰۵). در مطالعه‌ای، Bolkent و همکاران نیز در سال ۲۰۰۰، اثرات هایپو گلایسمیک مشابهی را برای این گیاه در موش صحرایی نشان دادند. مکانیسم پیشنهاد داده شده در این مطالعه، بهبود وضعیت سلول‌های جزایر لانگرهانس تخریب شده و در نتیجه ترشح بهبود یافته‌ی انسولین در موش‌های تیمار شده با عصاره‌ی گیاه چغندر بود [۱۱]. یک مطالعه‌ی اخیراً صورت گرفته در سال ۲۰۱۵، دخالت استیل کولین را در ایجاد اثرات هایپوگلاسمیک این گیاه نشان داد. مکانیسم پیشنهادی دیگر، افزایش انتقال‌دهنده‌های گلوکز در عضلات اسکلتی و افزایش سنتز کلیگوژن می‌باشد [۲۰]. نتایج مطالعه‌ی حاضر نیز با نتایج مطالعات قبلی هماهنگ بوده و نشان می‌دهد که استفاده از عصاره‌ی این گیاه به صورت پیش درمانی مؤثرتر خواهد بود. افزایش مشاهده شده در تکثیر لنفوسیتی طحال در گروه موش‌های دیابتی نسبت به موش‌هایی سالم، نمایانگر افزایش تعداد لنفوسیت‌های خود واکنش‌گر در گروه موش‌های دیابتی شده (مبتلا به دیابت خودایمن) نسبت به گروه کنترل می‌باشد.

خوشبختانه نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده کردن از عصاره‌ی آبی برگ گیاه چغندر قند، میزان تکثیر این لنفوسیت‌ها را به طور معنی‌داری کاهش داده است به طوری که از نظر آماری بین گروه دریافت کننده‌ی عصاره به صورت پیش‌درمانی و گروه STZ، اختلاف معنی‌داری وجود دارد. با همه‌ی این تفاسیر به نظر نمی‌رسد که گیاه استفاده شده در این مطالعه اثرات ایمونوساپرسیو شدید و نامطلوبی داشته باشد زیرا در گروه دریافت کننده‌ی عصاره، همچنان پاسخ لنفوسیتی نسبت به گروه کنترل بیشتر می‌باشد. یکی از اثراتی که دیابت بر فرد دیابتی تحمیل می‌کند، کاهش فعالیت سیستم ایمنی ذاتی می‌باشد [۲۱]. بنابراین، این افراد در معرض ابتلا به عفونت‌های چرک زای بیشتری قرار دارند. نتایج حاصل از این تحقیق نشانگر کاهش شدید و معنی‌دار شدت انفجار تنفسی در جمعیت سلول‌های فاگوسیت‌کننده‌ی طحال در گروه موش‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل می‌باشد. خوشبختانه عصاره‌ی آبی برگ گیاه چغندرقند تا حدودی در اصلاح این نقیصه کارآمد بوده است به طوری که چه در گروه پیش‌درمانی و چه در گروه درمان، سطح انفجار تنفسی نسبت به گروه موش‌های دیابتی، به طور قابل توجهی افزایش یافته است. این در حالی است که نسبت به گروه کنترل همچنان در وضعیت پایین‌تری قرار دارد که این حقیقت، نتایج حاصل را مطلوب‌تر می‌سازد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ توسط مارتینز (Martinez) و همکاران صورت گرفت، نشان داده شد که بتالایین موجود در گیاه چغندرقند باعث کاهش سایتوکاین‌هایی نظر TNF-α و IL-1β و همچنین بکارگیری لنفوسیت‌ها در نواحی ملتهب شده و از این طریق اثر ضدالتهابی خود را برجای می‌گذارد. مطالعه‌ی اشاره شده بیان می‌دارد که این ماده می‌تواند در بیماری‌هایی که التهاب در پاتوژنز آنها نقش دارد، نقش مؤثری ایفا کند [۲۲]. یافته‌های این مطالعه هماهنگ با نتایج مطالعه‌ی حاضر در کاهش فعالیت سلول‌های لنفوسیتی می‌باشد. با توجه به اثر کاهنده‌ی این ماده بر روی سایتوکاین‌های التهابی TNF-α و IL-1β که در فراخوانی لوکوسیتی به نواحی التهابی دخالت دارند، اثرات مثبت آن در کاهش عوارض دیابت تجربی خود ایمن تا حدی قابل توجیه می‌باشد.

نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر تلاش شد تا تأثیر تجویز خوراکی عصاره‌ی آبی برگ گیاه چغندر قند (*Beta vulgaris* subsp. Cicla) به عنوان مواد زاید جامد کشاورزی بر روی سیمای ایمونولوژیک در موش های دیابتی شده توسط STZ مورد بررسی قرار گیرد. نتایج نشان داد که تجویز عصاره‌ی برگ گیاه چغندر به طور معنی‌داری باعث کاهش قند خون در موش‌های دیابتی شده و گیاه استفاده شده اثرات ایمونوساپرسیو نامطلوبی ندارد. بر اساس یافته‌های حاصل از این پژوهش نتیجه‌گیری می‌شود که عصاره‌ی برگ گیاه چغندر قند اثرات

www.SID.ir

Archive of SID

مثبتی در کاهش عوارض و تغییرات ایمونولوژیک مدل دیابت خود ایمن در موش دارد. به نظر می‌رسد این اثرات ناشی از مکانیسم‌های ایمونومادولاتوری این عصاره هستند و همزمان اثرات متفاوتی بر روی بازوهای مختلف سیستم ایمنی دارد که در مجموع به نفع بهبودی علایم و پاتوژنز دیابت می‌باشد. با این حال، جهت به دست آوردن مکانیسم‌های اثر دقیق این گیاه و مواد اصلی مؤثر در این رابطه، مطالعات دقیق‌تر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی (۹۴/۴۷۹) مصوب مرکز تحقیقات مهندسی بهداشت محیط دانشگاه علوم پزشکی کرمان بوده که با حمایت مالی معاونت تحقیقات و فن‌آوری این دانشگاه به انجام رسیده است.

منابع

1. Pane JA, Webster NL and Coulson BS. Rotavirus activates lymphocytes from non-obese diabetic mice by triggering toll-like receptor 7 signaling and interferon production in plasmacytoid dendritic cells. *PLoS Pathog* 2014; 10 (3): e1003998.

2. Rostambeigy P, Ghaemi SZ, Shirazi FM Hashemi N. The Effects of Nutrition Education and Insulin Injection Training on Glycemic Control in Iranian Patients with Type 1 Diabetes. *Advances in Bioresearch* 2014; 5 (2): 143-147.

3. Gheibi N, Parvizi M, Jahani Hashemi H. The effect of cinnamon on glucose concentration of diabetic rats in presence or absence of insulin. *The Journal of Qazvin University of Medical Sciences* 2005; 9 (3): 3-8.

4. Yousefipoor P, Tadibi V, Behpoor N, Parnow A and Delbari ERashidi S. The Effect of 8-week Aerobic and Concurrent (aerobic- resistance) Exercise Training on Serum IL-6 Levels and Insulin Resistance in Type 2 Diabetic Patients. *The Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Sciences* 2013; 21 (5): 619-31.

5. El Gamal AA, AlSaid MS, Raish M, Al-Sohaibani M, Al-Massarani S M, Ahmad A, et al. Beetroot (*Beta vulgaris* L.) extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity associated oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rodent model. *Mediators of Inflammation* 2014; 2014: 1-12.

6. Garetto S, Trovato AE, Lleo A, Sala F, Martini E, Betz A G, et al. Peak inflammation in atherosclerosis, primary biliary cirrhosis and autoimmune arthritis is counter-intuitively associated with regulatory T cell enrichment. *Immunobiology* 2015; 220 (8): 1025-9.

7. Bolkent S, Yanardag R, Tabakoglu-Oguz A and Ozsoy-Sacan O. Effects of chard (*Beta vulgaris* L. var. Cicla) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: a morphological and biochemical study. *J. Ethnopharmacol.* 2000; 73 (1-2): 251-9.

8. Janiszewska E. Microencapsulated beetroot juice as a potential source of betalain. *Powder Technology* 2014; 264: 190 - 6.

9. Wei L, Lu Y, He S, Jin X, Zeng L, Zhang S, et al. Induction of diabetes with signs of autoimmunity in primates by the injection of multiple-low-dose streptozotocin. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2011; 412 (2): 373-8.

10. Amirshahrokhi K, Dehpour A, Hadjati J, Sotoudeh M and Ghazi-Khansari M. Methadone ameliorates multiple-low-dose streptozotocin-induced type 1 diabetes in mice. *Toxicology and Applied Pharmacol.* 2008; 232 (1): 119-24.

www.SID.ir

Archive of SID

11. Bolkent Ş, Yanardağ R, Tabakoğlu-Oğuz A and Özsoy-Saçan Ö. Effects of chard (Beta vulgaris L. var. cicla) extract on pancreatic B cells in streptozotocin-diabetic rats: a morphological and biochemical study. *Journal of Ethnopharmacol.* 2000; 73 (1): 251 - 9.

12. Putnoky S and Caunii AButnariu M. Study on the stability and antioxidant effect of the Allium ursinum watery extract. *Chem. Cent. J.* 2013; 7 (1): 21.

13. Kumar PS, Bhaumik A and Chopra MKN. D. Evaluation of Anti diabeticactivity of Ethanolic Extract of Beet Root (EEBT-Beta vulgaris) against Streptozocin induced diabetic Rats. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics* 2016; 4 (37): 1-6.

14. Traslavina R P, King E J, Loar A S, Riedel E R, Garvey M S, Ricart-Arbona R, et al. Euthanasia by CO2 inhalation affects potassium levels in mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science* 2010; 49 (3): 316-22.

15. Abtahi Froushani SM and Esmaili Gourvarchin Galeh H. New insight into the immunomodulatory mechanisms of Tretinoin in NMRI mice. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences* 2014; 17 (9): 632-7.

16. Rubinstein M, Genaro AM and Wald MR. Differential effect of hyperglycaemia on the immune response in an experimental model of diabetes in BALB/cByJ and C57Bl/6J mice: participation of oxidative stress. *Clinical & Experimental Immunology* 2013; 171 (3): 319-29.

17. Abari E, Kociok N, Hartmann U, Semkova I, Paulsson M, Lo A, et al. Alterations in basement membrane immunoreactivity of the diabetic retina in threediabetic mouse models. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology* 2013; 251 (3): 763-75.

18. Stošić-Grujičić S and Cvjetićanin TStojanović I. Retinoids differentially regulate the progression of autoimmune diabetes in three preclinical models in mice. *Molecular Immunol.* 2009; 47 (1): 79-86.

19. Zenobi A and Gandolfi FBrevini TAL. Role of oxygen tension and genetic background during the epigenetic conversion of mouse fibroblasts into insulin secreting cells. *International Journal of Health, Animal Science and Food Safety* 2015; 2: (1s).

20. Kabir AU, Samad MB, Ahmed A, Jahan MR, Akhter F, Tasnim J, et al. Aqueous fraction of Beta vulgaris ameliorates hyperglycemia in diabetic mice due to enhanced glucose stimulated insulin secretion, mediated by acetylcholine and GLP-1, and elevated glucose uptake via increased membrane bound GLUT4 transporters. *PloS One* 2015; 10 (2): e0116546.

21. Geerlings SE and Hoepelman AI. Immune dysfunction in patients with diabetes mellitus (DM). *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 1999; 26 (3-4): 259 - 65.

22. Martinez RM, Longhi-Balbinot DT, Zarpelon AC, Staurengo-Ferrari L, Baracat MM, Georgetti S R, et al. Anti-inflammatory activity of betalain-rich dye of Beta vulgaris: effect on edema, leukocyte recruitment, superoxide anion and cytokine production. *Archives of Pharmacal Research* 2015; 38 (4): 494-504.

www.SID.ir