بسم الله الرحمن الرحيم

مدیریت تحصیلات تکمیلی پردیس خودگردان دانشگاه

دانشکده علوم پایه

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی- ژنتیک مولکولی

تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه (*prosopis farcta*) بر بیان ژن فسفوفروکتوکیناز-۱ در موش های دیابتی (نوع۱)

اساتید راهنما:

دکتر حمیدرضا میری

دکتر صدیقه اسماعیل زاده بهابادی

اساتید مشاور:

دکتر سید کاظم صباغ

مهندس هادی صبوری

نگارش:

مهدیه عارفی شاد

شهریور۹۳

تقدیم به:

ماحصل آموخته هایم راتقدیم می کنم به آنان که مهر آسمانی شان آرام بخش آلام زمینی ام است

به استوارترین تکیه گاهم، دستان پرمهر پدرم

به سبزترین نگاه زندگیم، چشمان مادرم

که هرچه آموختم در مکتب عشق شما آموختم و هرچه بکوشم قطره ای از دریای بی کران مهربانیتان را سپاس نتوانم بگویم. امروز هستی ام به امید شماست و فردا کلید باغ بهشتم رضای شما را آوردی گران سنگ تر از این ارزان نداشتم تا به خاک پایتان نثار کنم، باشد که حاصل تلاشم نسیم گونه غبار خستگیتان را بزداید. بوسه بر دستان پرمهرتان

این هم به برادرها و خواهرم

به همسفران مهربان زندگیم که با هم آغاز کردیم، در کنار هم آموختیم و به امید هم به آینده چشم می دوزیم.

قلبم لبریز از عشق به شماست و خوشبختی تان منتهای آرزویم.

مهدیه عارفی- شهریور ۹۳

خدایا، به من زیستنی عطا کن که در لحظه مرگ، بر بی ثمری لحظه ای که برای زیستن گذشته است، حسرت نخورم و مردنی عطا کن که بر بیهودگی اش، سوگوار نباشم. بگذار تا آن را من، خود انتخاب کنم؛ اما آنچنان که تو دوست داری. چگونه زیستن را تو به من بیاموز، چگونه مردن را خود خواهم دانست.

از آنجایی که تجلیل از معلم، سپاس از انسانی است که هدف و غایت آفرینش را تامین می کند و سلامت امانت هایی را که به دستش سپرده‌اند، تضمین؛ بر حسب وظیفه :

از استاد ارجمندم:

جناب آقای دکترحمید رضا میری با راهنمائی های صمیمانه خویش و تمامی زحماتی که در راستای تحقق این پروژه متحمل شدند کمال تشکر و قدر دانی را دارم.

از خانم دکتر اسماعیل زاده بهابادی که زحمت راهنمایی این پایان نامه را بر عهده گرفتند کمال تشکر را دارم.

با تشکر از آقایان دکتر صباغ و مهندس صبوری که مشاوره این پایان نامه را بعهده داشتند. سرکار خانم ها خواجه، سنچولی، داوودی و مشتاقی دوستان عزیزم که خواهرانه مرا کمک کردند.

از مرضیه جان تشکر می کنم بابت همکاری و راهنمایی هایش.

در انتها از تمام دوستان و عزیزانی که مرا در انجام این مهم همراهی کردند، تشکرمی کنم.

خداوندا به ما توفیق تلاش در شکست، صبر در نومیدی، رفتن بی همراه جهاد بی صلاح کار بی پاداش، ایمان بی ریا، خوبی بی نمود، گستاخی بی خامی، مناعت بی غرور، عشق بی هوس، تنهایی در انبوه جمعیت و دوست داشتن بی آنکه دوست بداند، راعنایت فرما.

چکیده

دیابت شیرین شایعترین اختلال متابولیکی است. و در حال حاضر ازمهم ترین عوامل مرگ و میر در جوامع انسانی محسوب می‌شود. از آنجایکه در طی سالیان متمادی داروهای طبیعی خصوصاً گیاهان دارویی اساس درمان محسوب می‌شد و در عین حال مواد اولیه موجود در آن ها در صنعت داروسازی مورد استفاده قرارمی‌گیرد، با توجه به خواص آنتی اکسیدانی عصاره میوه گیاه جغجغه (*Prosopis farcta*) و نقش آنتی اکسیدان ها در بهبود دیابت، در مطالعه حاضر تاثیر عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر میزان گلوکز خون و بیان ژن *PFK-1* مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ۴۵ سر موش صحرایی نر به طور تصادفی در سه گروه شاهد سالم، شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار با تجویز عصاره جغجغه تقسیم شدند. با تزریق استرپتوزوتوسین (۶۰ mg/kg) در موش های صحرایی نر (۳۰۰-۱۵۰ گرم) دیابت نوع۱ ایجاد شد. گروه دیابتی تحت تیمار روزانه (۳۰۰ mg/kg) عصاره میوه جغجغه را به صورت گاواژ به مدت ۳۰ روز دریافت نمودند. سپس در روز قبل از تجویز عصاره و روزهای ۱۵ و ۳۰ بعد از تجویز عصاره میزان گلوکز خون اندازه گیری شد و بیان ژن *PFK-1* در بافت کبدی توسط روش Real-Time PCR بررسی گردید. نتایج نشان داد در گروه دیابتی تحت تیمار در روز۱۵ میزان گلوکز خون به طور معنی داری نسبت به گروه شاهد دیابتی کاهش یافت و در روز ۳۰ تفاوت معنی داری بین گروه شاهد دیابتی و دیابتی تحت تیمار مشاهده نشد. بررسی بیان ژن *PFK-1* نیز نشان داد میزان بیان ژن در گروه دیابتی تحت تیمار معنی دار نبود و افزایشی دیده نشد. در نتیجه عصاره تاثیری بر بیان ژن نداشته است. ($P < 0/05$)

واژگان کلیدی: موش صحرایی، دیابت نوع۱، جغجغه (*Prosopis farcta*)، عصاره هیدروالکلی، فسفوفرکتوکیناز-۱.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۲-۱ دیابت شیرین و انواع آن ۴
۱-۲-۲پاتوژنز دیابت نوع۱ ..... ۶
۱-۲-۳ شرایط ایجاد دیابت ۸
۱-۲-۴ نقش سیستم ایمنی بدن در ایجاد دیابت وابسته به انسولین ۸
۱-۲-۶ انسولین ۱۱
۱-۲-۶-۱ تاریخچه انسولین ۱۱
۱-۲-۶-۲ انسولین از سه طریق بر روی مصرف گلوکز اثر می گذارد ۱۲
۱-۲-۶-۳ عوامل محیطی مؤثر در ایجاد دیابت وابسته به انسولین ۱۲
۱-۲-۷ ضوابط تشخیص بیماری قند ۱۳
۱-۲-۸ عوارض ناشی از دیابت ۱۳
۱-۲-۹ - ۱ پیامدهای مزمن دیابت شیرین ۱۵
۱-۳ گیاه جغجغه ۲۱
۱-۳-۱ محل رشد و پراکنش ۲۲
۱-۴ ژن فسفوفروکتوکیناز-۱(PFK_1) ۲۳
۱-۴-۱ ساختار فسفو فرکتو کیناز ۲۵
۱-۵ آشنایی باتکنیک Real time PCR ۲۶
۱-۵-۱ آشکارسازی محصولات بدست آمدهReal time PCR ۲۷
۱-۵-۲ روش های کمی سازی نمونه هاتوسط Real time PCR ۲۹
۱-۵-۳ مزایا و کاربردهای تکنیکReal time PCR ۳۲

فصل دوم: مروری بر مطالعات انجام شده

۲-۱ مروری بر مطالعات انجام شده بر روی دیابت و گیاهان دارویی ۳۴

فصل سوم: مواد و روشها

۳-۱ مواد و روش ها ۴۰
۳-۱-۱ تهیه عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه جغجغه ۴۲
۳-۱-۲ حیوانات آزمایشگاهی ۴۲
۳-۱-۲-۱ نحوه گروه بندی ۴۳
۳-۱-۳ روش القای دیابت تجربی ۴۳
۳-۱-۴ اندازه گیری قند و وزن موش ها ۴۴
۳-۱-۵ مراحل انجام تشریح ۴۵
۳-۱-۶ سایر وسایل ۴۶

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۳-۲ شرح مراحل کارمولکولی به تفصیل ۴۶
۳-۲-۱ طراحی بیو انفورماتیکی پرایمرهای مورد نظر ۴۶
۳-۲-۲ آماده سازی پرایمر ۵۰
۳-۲-۳ استخراج RNA از نمونه های کبد توسط کیت ۵۰
۳-۲-۳-۱ بررسی کمیت و کیفیت RNA استخراج شده ۵۲
۳-۲-۳-۲ طرز تهیه EDTA یک میلی مولار جهت شست و شوی کووت : ۵۳
۳-۲-۴ سنتز cDNA ۵۵
۳-۲-۴-۱ سنتز cDNA توسط کیتThermo SCIENTIFIC ۵۵
۳-۲-۵ واکنش های PCR ۵۷
۳-۲-۵-۱ PCR شیب دمایی ۵۷
۳-۲-۵-۲ PCR معمولی ۶۰
۳-۲-۶ الکترفورز ۶۱
۳-۲-۶-۱-۱ آگارز ۶۲
۳-۲-۶-۱-۲ اتیدیوم بروماید ۶۲
۳-۲-۶-۱-۳ لودینگ بافر ۶۳
۳-۲-۶-۱-۴ شناسگرهای اندازهDNA ۶۳
۳-۲-۶-۲- ۳ روش کار با ژل الکترفورز ۶۳
۳-۲-۷ واکنش Real-Time PCR ۶۵
۳-۲-۸ Threshold و مقدار CT ۶۷
۳-۲-۹ تعیین توالی محصولاتPCR (Direct sequencing) ۶۸
۳-۲-۱۰ آنالیزبیان ژن ۶۸
۳- ۳ تجزیه وتحلیل داده ها ۶۸

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱ جمع آوری نمونه : ۷۰
۴- ۲ بررسی نتایج قند خون موش ها ۷۰
۴-۳ بررسی نتایج وزن مو ش ها ۷۱
۴-۴ مقایسه وزن ارگان های داخلی بدن موش در سه گروه ۷۲
۴-۵ نتایج استخراج RNA ۷۳
۴-۵-۱ نتایج استخراج RNA توسط ژل الکتروفورز ۷۳
۴-۵-۲ نتایج تعیین غلظت و کیفیت RNA توسط اسپکتروفتومتری: ۷۴
۴-۶ نتایج حاصل ازساخت cDNA بر روی ژل آگارز ۷۴
۴-۷ نتایج مربوط به PCR شیب دمایی ۷۶

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

۴-۸ نتایج منحنی استاندارد ۷۷
۴-۸-۱ منحنی استاندارد ژن *TBP* ۷۷
۴ -۸- ۲ منحنی استاندارد ژن PFK_1 ..... ۷۸
۴-۹ نتایج واکنش Real -Time PCR ۷۹
۴-۹-۱ تکثیر ژن PFK_1 و*TBP* ۷۹
۴-۱۰- نتایج آنالیز منحنی ذوب ۷۹
۴-۱۰-۱- منحنی تغییرات ذوب بر حسب دمای ژن ۸۰
۴-۱۰-۲- منحنی ذوب ژن *TBP* وژن PFK_1 ..... ۸۱
۴ -۱۰-۲-۱- آنالیز منحنی ذوب ژن *TBP* و ژن *PFK-1* ۸۱
۴-۱۱- بررسی بیان ژن ۸۲
۴-۱۲- بحث ۸۴
۴-۱۳- پیشنهادات ۸۸

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول شماره ۱-۱ مقایسه دیابت نوع ۱ و ۲ ..... ۷
جدول ۲-۱ آنزیم گلیکولیز سازشگر با محیط در موش صحرایی ۲۶
جدول۱- ۳ تجهیزات و دستگاه ها ۴۱
جدول ۲- ۳ پرایمرهای طراحی شده ۵۰
جدول۳- ۳ مواد مورد نیاز برای تهیه بافر Tris-Hcl ۵۵
جدول ۵- ۳ محلول دوم برای سنتز cDNA ۵۷
جدول ۶- ۳ موادلازم برای PCR ۵۹
جدول ۷- ۳ برنامه PCR شیب دمایی برای تکثیر قطعه حاصل از *TBP* ۵۹
جدول ۸- ۳ برنامه PCR شیب دمایی برای تکثیر قطعه حاصل از *PFK1* ۶۰
جدول۹- ۳ مواد و میزان مورد نیاز برای یک واکنش در Real-Time PCR ۶۶
جدول۱۰- ۳ مراحل، دما و زمان مربوطه در یک واکنش Real- time PCR برای ژن *TBP* ۶۶
جدول۱۱- ۳ مراحل، دما و زمان مربوطه دریک واکنش Real- time PCR برای ژن PFK_1 ..... ۶۷
جدول ۱- ۴ مقایسه وزن ارگان های مختلف در موش ها ۷۳

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱گیاه جغجغه ۲۱
شکل۲-۱ مدل شماتیک از فعالیت آنزیم PFK_1 و مدولاسیون ساختار الیگومری ۲۴
شکل۳-۱ مدل شماتیک از تترامر بودن PFK1 ..... ۲۵
شکل ۱- ۳ اندازه گیری قند و وزن موش ها ۴۴
شکل ۲- ۳ نحوه گاواژ دادن عصاره ۴۴
شکل ۳- ۳ تشریح موش ها ۴۵
شکل۴- ۳ توالی ژن PFK_1 ..... ۴۹
شکل ۵- ۳ دستگاه اسپکتروفتومتری(ScanDrop – analytic jena) ۵۳
شکل ۶- ۳ دستگاه PCR (Eppendorf –mastercyc gradient) ۶۱
شکل۷- ۳ دستگاه الکتروفورز وعکس ژل ۶۴
شکل ۸- ۳ دستگاه Real-Time PCR ۶۵
شکل ۱- ۴ اثر مصرف عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر گلوکز ناشتای موش های صحرایی ۷۱
شکل ۲- ۴ اثر مصرف عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه بر وزن موش های صحرایی. ۷۲
شکل ۳- ۴ نتایج استخراج RNAکل در سه گروه ۷۴
شکل ۴- ۴ تکثیر قطعه (۱۹۰ bp) مربوط به ژن *PFK* $_1$. ۷۵
شکل ۵- ۴ تکثیر قطعه (126 bp) مربوط به ژن *TBP*. چاهک های گروه شاهد سالم(۱)، چاهک های گروه شاهد دیابتی (۲) و چاهک های گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره (۳) ۷۵
شکل۶- ۴ نتایج شیب دمایی PCR برای ژن PFK_1 ..... ۷۶
شکل ۷- ۴ نتایج شیب دمایی PCR برای ژن *TBP* ۷۶
شکل۹-۴ منحنی استاندارد ژن PFK_1 ..... ۷۸
شکل۱۰-۴ منحنی تکثیر ژن *TBP* و*PFK1*. ۷۹
شکل۱۱-۴ تغییرات فلورسانت بر حسب دما برای ژن PFK_1, *TBP* ۸۰
شکل ۱۲- ۴ منحنی ذوب ژن *TBP* و*PFK-1* ۸۱
منحنی ذوب ژن *TBP* و*PFK-1* ۸۱

فصل اول:

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

توسعه ی شهرنشینی و زندگی در جهان صنعتی ما را هر چه بیشتر با افـزایش شـیوع بیمـاری های غیر واگیر مثل دیابت، سکته مغزی و دیگر عوامل خطر سـاز رو بـه رو کـرده اسـت (فرخنـده کلات و همکاران، ۱۳۸۷). بیماری همه گیر دیابت با سرعت هر چه تمام تر در حـال رشـد اسـت. طبق آمار جهانی تعداد افراد مبتلا به دیابت در جهان حدود ۳۴۶ میلیون نفـر مـی باشـد بـه ایـن ترتیب سن ابتلا به دیابت در ایران حداقل ۱۰ تا ۱۵ سال پایین تر از سن شایع در جهـان اسـت و در حال حاضر بیش از ۵/۵ میلیون نفر از جمعیت ایـران دارای بیمـاری دیابـت مـی باشـند، آمـار بیماران دیابتی ایران تا ۲۰ سال آینده دو برابر می شود. حدود ۷۵ درصد از افراد مبتلا به دیابت به خاطر بیماری قلبی جان خود را از دست می دهند (دادبخش، ۱۳۷۷). بوعلی سینا پزشک معـروف ایرانی در نوشته های خود این بیماری را مطرح و مزه شیرین ادرار مبتلایان به آن را متـذکر شـده است. در سال ۱۸۳۳ پلیگوت ماده ی شیرین موجود در ادرار بیماران را گلوکز نامید. دیابت شیرین همراه با افزایش فشارخون، چربی خون، چاقی، کاهش تحریک های فیزیکـی و ... نقـش مهمـی در تشدید بیماری های سیستم عصبی مرکزی داشته است و در حال حاضر از مهم ترین عوامل مـرگ و میر در جوامع انسانی محسوب می شود (فرخنده کلات، وهمکاران، ۱۳۸۷). دیابت جزء بیمـاری های پرهزینه بوده و در بسیاری از کشورها علت اصلی سه دسته از عـوارض کـوری، قطـع عضـو و نارسایی مزمن کلیه در سنین ۲۰-۷۰ سالگی محسوب می شـود (اسـکات، ۱۳۷۲). میـزان درصـد شیوع بیماری برای مردان حدود ۴/۷ و برای زنان ۴/۱ گزارش شده است (رجبیان، ۱۳۷۰) البتـه گزارش شده که بعد از سن ۴۵ سالگی احتمال بروز دیابت در زنان دو برابر می شـود (خیـاط زاده، ۱۳۸۶). در دوران جنینی اگر مادر مبتلا به دیابت باشد سندرم دیابتیک به وجود می آید که درآن

رشد جنین به طور غیر طبیعی زیاد می شود و احتمال بروز ناهنجاری های جنینی افزایش می یابد (پریور، ۱۳۸۱). از آنجایی که درمان آن بطور قطع هنوز شناخته نشده است، باید با شناخت به موقع آن در بیماران، نسبت به مراقبت های لازم و جلوگیری از عوارض و پیامدهای آن اقدام کرد (اسکات، ۱۳۷۲). دیابت شیرین شامل گروهی از اختلالات متابولیک است که با هیپرگلیسمی خود را نشان می دهد، عواملی که در این امر دخالت دارند عبارتند از: کاهش ترشح انسولین، کاهش مصرف گلوکز توسط سلول ها و افزایش تولید گلوکز (Gansson *et al*.,2002). عوارض ناشی از دیابت در ۲۵ درصد موارد نارسایی کلیه و در ۵۰ درصد قطع عضو و نابینایی است. در حالت طبیعی سطح گلوکز خون به وسیله ی انسولین (هورمون تولید شده توسط لوزالمعده) کنترل می شود، این هورمون سطح گلوکز خون را کاهش می دهد، یعنی در حالت طبیعی بالا رفتن گلوکز خون(پس از خوردن غذا) مساوی است با افزایش تولید انسولین و پایین آمدن گلوکز خون مساوی است با کاهش تولید انسولین، تا سطح گلوکز خون را به حالت طبیعی در آورد، پس در بیماران مبتلا به دیابت فقدان انسولین یا تولید ناکافی آن باعث هیپرگلیسمی می شود (بدایت، ۱۳۸۴). دیابت به عنوان یک بیماری آندوکرینی مهم تلقی می شود که در آن تنظیم متابولیسم کربوهیدرات ها بهم می خورد. این تغییرات سبب افزایش ساخت رادیکال های آزاد و آلدی ال اکسیداز می شود. وجود آنتی اکسیدان هایی مثل ویتامین ها، فلاونویدها در جیره غذایی می تواند اثرات حفاظتی در این بیماران دیابتی داشته باشد. طب گیاهی در سرتاسر دنیا برای محدوده ای از افراد مبتلا به دیابت کاربرد دارد. مطالعه گیاهان دارویی کلید طبیعی را برای باز کردن مشکلات درمانی این بیماری ارایه می نماید(عیدی، ۱۳۸۵)

ضرورت انجام تحقیق

دیابت شیرین شایع ترین اختلال متابولیکی است. و همچنین یکی از شایع ترین و پیچیده ترین مشکلات جوامع امروزی است که مشکلات اقتصادی اجتماعی فراوانی ایجاد نموده است

داروهای شیمیایی که در درما ن دیابت استفاده می‌شوند دارای عوارض نـامطلوب زیـادی هسـتند. نگرانی بیماران از عوارض داروهای شیمیایی منجر به عدم پذیرش رژیم دارویی و استفاده نادرسـت از این داروها و در نتیجه اختلال در کنترل دقیق بیماری می‌شود. بنابراین امروزه تلاش برای یافتن داروهای گیاهی ضد دیابت که مقرون به صرفه تر بوده و احتما لاً عوارض جانبی کمتری هم دارند؛ افزایش یافته است. از آنجایی که هیچ گونه تحقیقی از تاثیر عصـاره میـوه گیـاه جغجغـه بـر بیـان ژن PFK_1 گزارش نشده است انجام این تحقیق ضروری به نظر می رسد.

فرضیات به شرح زیر می باشد:

عصاره هیدروالکلی میوه گیاه جغجغه ژن فسـفوفرکتوکیناز-۱ را در مـوش‌هـای دیـابتی نـوع۱ افزایش می دهد.

عصاره هیدرو الکلی میوه گیاه جغجغه گلوکز خون موش‌های دیابتی راکاهش می دهد.

۲-۱ کلیات تحقیق

۱-۲-۱ دیابت شیرین و انواع آن

مطالعات پاتولوژیکی نشان می دهد که دیابت به دو نوع۱ و ۲ تقسیم می شود، بیمار مبتلا به دیابت نوع۱ برای زنده ماندن به انسولین متکی است به همین دلیل به آن دیابت وابسته به انسولین گفته می شود(سپکتور، ۱۳۶۳). دیابت نوع۱ هم به دو دسته نوع A,B تقسیم می شود، دیابت نوع۱ وابسته به انسولین است و با علامت اختصاری IDDM[1] نشان داده می شود که به آن دیابت شیرین نوجوانی هم می گویند، در دیابت نوع IA لوزالمعده دچار تخریب (اتوایمیون) خود ایمنی سلول های بتا می شود و مقدار انسولین کاهش می یابد، اما در افراد مبتلا به دیابت نوع IB نشانی از تخریب سلول های بتا لوزالمعده نمی بینیم ولی با مکانیسم های ناشناخته ای کاهش

[1] In Dependent Diabestes mellitus

انسولین را نشان می دهند (متزو، ۱۳۷۰؛ سبحانیان، ۱۳۸۴). در خون اکثر بیماران مبتلا به دیابت نوع۱ آنتی بادی های غیر طبیعی دیده می شود. آنتی بادی ها پروتئین های خون هستند که قسمتی از سیستم ایمنی بدن را تشکیل می دهند. در بیماری های اتوایمیون مثل دیابت نوع۱، سیستم ایمنی اشتباهاً آنتی بادی و سلول های التهابی را می سازد که علیه بافت های بدن خود بیماران عمل می کنند شاید تمایل به ظهور آنتی بادی های غیر طبیعی در دیابت نوع۱ تا اندازه ای ژنتیکی باشد (سپکتورف، ۱۳۶۳). اگر چه جزئیات کاملاً معلوم نیست ولی ممکن است تشکیل متابولیت های نیتریک اکسید و یا آپوپتوز در این مورد نقش داشته باشند (Gansson *et al.*, 1998). قرار گرفتن در معرض بعضی عفونت های ویروسی(ویروس های اوریون و کوکساکی)، سایر توکسین های محیطی و بیماری هایی مثل سرخجه شاید باعث تحریک پاسخ آنتی بادیهای غیر طبیعی شود و به این وسیله سلول های سازنده ی انسولین در لوزالمعده آسیب می بینند، این آنتی بادی ها در اکثر بیماران قابل اندازه گیری است و احتمال دارد در تعیین افرادی که در معرض خطر ظهور دیابت نوع۱ قرار دارند، کمک نماید (سبحانیان، ۱۳۸۴). دیابت نوع۱ اصولاً در افراد جوان و لاغر که معمولاً قبل از سن ۳۰ سالگی قرار دارند رخ می دهد چون در این سنین آمادگی برای ابتلا به اسیدوستوز وجود دارد (بدایت، ۱۳۸۴). گاهی هم این تخریب در هر سنی رخ می دهد. تخمین زده شده است که ۵ تا ۱۰ درصد افرادی که بعد از سن ۳۰ سالگی دچار دیابت می شوند مبتلا به نوع IA هستند، اصولاً دیابت نوع۲ با افزایش سن ایجاد می شود، البته گاهی در اطفال و نوجوانان چاق هم دیده می شود (سبحانیان، ۱۳۸۴). اما اگر در بیماران بالاتر از ۳۰ سال دیده شود در آن صورت به آن دیابت اوتوایمیون بزرگسالی می گویند که شکل کند و پیشرونده دیابت نوع۱ است (بدایت، ۱۳۸۴). از کل بیماران مبتلا به دیابت فقط ۱۰ درصد دیابت نوع۱ دارند و ۹۰ درصد دیگر مبتلا به دیابت نوع۲ هستند (گایتون، ۱۳۷۲). دیابت نوع۲ شامل اختلالاتی است که معمولاً با درجات متفاوتی از مقاومت به انسولین، اختلال در ترشح انسولین و یا افزایش در تولید گلوکز خون مشخص می شود (بدایت، ۱۳۸۴ و سبحانیان، ۱۳۸۴). بیماران مبتلا به

دیابت نوع۲ به اسیدوستوز مقاوم ند (سبحانیان، ۱۳۸۴). مادامی که یک عامل ژنتیکی قوی برای ظهور دیابت نوع۲ وجود داشته باشد، سایر عوامل خطرساز که مهمترین آن ها چاقی است، وجود دارند (سبحانیان، ۱۳۸۴؛ Widnessg., 1990). ارتباط مستقیمی بین چاقی و خطر ظهور دیابت نوع۲ وجود دارد و این در کودکان و بزرگسالان نیز صدق می کند (سپکتور، ۱۳۶۳). در رابطه با سن، اطلاعات نشان می دهدکه به ازای هر دهه پس از ۴۰ سالگی، صرف نظر از وزن، افزایش وقوع دیابت وجود دارد شیوع دیابت در افراد ۶۵ تا ۷۰ ساله تقریباً نادر است (گایتون، ۱۳۷۲).

۲-۲-۱پاتوژنز دیابت نوع۱

دیابت نوع۱[1] در اثر عوامل ژنتیکی، محیطی و ایمونولوژیکی ایجاد می شود و موجب از بین رفتن سلول های بتای پانکراس می شود. در افراد مستعد از نظر ژنتیکی حجم سلول های بتا که در هنگام تولد طبیعی بود بعدها کاهش می یابد و این شاید به علت خود ایمنی، ورود عوامل عفونی یا عوامل محیطی باشد که موجب از بین رفتن این سلول ها در طول زمان شده است. مطالعات ثابت کرده که وقایع مربوط به عدم تحمل گلوکز در دیابت با افزایش نیاز به انسولین همراه است، حتی اگر این حالت در زمان بلوغ یا هنگام ایجاد عفونت باشد(سبحانیان، ۱۳۸۴). اختلالات عروقی و عصبی که همیشه در دیابت وجود دارند، معمولاً ۲۰ سال بعد از زمان تشخیص ظاهر می شوند، میزان مرگ و میر در این نوع دیابت بیشتر از دیابت نوع دو است (گایتون، ۱۳۷۲). بیماری IDDM مخصوص سفید پوستان است و در سیاه پوستان دیده نمی شود، در این بیماری به علت افزایش متابولیسم چربی و تجمع اسیدهای مثل استواستیک اسید و بتا هیدروکسی بوتیریک اسید در بدن و بروز کتوزیس، در نهایت دچار اغمای دیابتی می شود(Browoodg *et al*., 1995).

[1]Diabetes mellitus

در جدول شماره ۱-۱ دیابت نوع ۱ و ۲ مقایسه شده اند (بدایت، ۱۳۸۴)

جدول شماره ۱-۱ مقایسه دیابت نوع ۱ و ۲

انواع	دیابت نوع۱	دیابت نوع۲
سن آغاز بیماری	کمتر از ۳۰ سال	معمولاً بیشتر از ۴۰ سال
کتواسیدوز	شایع است	غیر معمول
وزن	چاق نیستند	معمولاً چاقند
ترشح انسولین آندوژن	نقصان زیاد	کاهش اندک
پاسخ به انسولین	وجود دارد	همیشه وجود ندارد
پادتن ضد سلولهای بتا	شایع است	وجود ندارد
همراهی با بیماریهای خود ایمنی دیگر	شایع است	رابطه ندارد
درمان با انسولین	همیشه ضروری است	معمولاً لازم نیست

امروزه باید در تقسیم بندی دیابت نسبت به گذشته تجدید نظر کنیم چون این تقسیم بندی از دو نظر با گذشته متفاوت است:

۱- می دانیم که تعداد زیادی از بیماران برای کنترل قند خون خود نیاز به انسولین دارند پس کاربرد دیابت وابسته یا غیر وابسته معقول به نظر نمی رسد.

۲- با مطالعات فراوانی که صورت گرفته مشخص شده که در طبقه بندی جدید، سن بیمار یک فاکتور اصلی نیست. از علت های دیگر دیابت می تواند نقص های ژنتیکی اختصاصی باشد که در ترشح یا عمل انسولین وجود دارد و یا ناهنجاری هایی که متابولیکی اند و در ترشح انسولین اختلال ایجاد می کنند یا ناهنجاری هایی که در میتوکندری ها ایجاد می شود و در سلول ها قدرت تحمل گلوکز کاهش داشته باشد، حتی گاهی جهش در گیرنده های انسولین اتفاق می افتد

که مقاومت بدن را به انسولین افزایش می دهد. اگر پانکراس دچار بیماری اگزوکرین شود و جزایر لانگرهانس خراب شود، دیابت ایجاد می شود و گاهی هم هورمون هایی بر ضد انسولین عمل می کنند و باعث بیماری هایی مثل آکرومگالی و کوشینگ می شود که به نوبه ی خود باعث ایجاد دیابت شیرین می شود(سبحانیان، ۱۳۸۴).

۱-۲-۳ شرایط ایجاد دیابت

۱- صدمه رسیدن به سلول های لوزالمعده در اثر التهاب مزمن، سرطان، عفونت یا برداشتن قسمتی از غده و یا تمام آن.

۲- افزایش ترشح مزمن هورمون رشد از غده هیپوفیز و کورتیزول از بخش قشری غده فوق کلیه.

۳- عوارض ژنتیکی شامل اختلال در متابولیسم، سندرم مقاومت به انسولین و اختلالات ارثی عضلانی یا عصبی.

۴- غیرطبیعی شدن گیرنده های انسولین(گایتون، ۱۳۷۲).

۱-۲-۴ نقش سیستم ایمنی بدن در ایجاد دیابت وابسته به انسولین

مطالعات زیادی نشان داده اند که دیابت وابسته به انسولین یک بیماری خود ایمنی است و به وسیله ی سیستم ایمنی بدن ایجاد می شود:

الف- لنفوسیت طحال موش های دیابتیک که به وسیله Concanavalin A فعال می شود، در موش های سالم هم دیابت ایجاد می کنند.

ب- واکنش آنتی بادی ها با سلول های بتا جزایر لانگرهانس در ۶۰ تا ۹۰ در صد افراد دیابتی دیده می شود ولی در گروه کنترل حدود ۰/۵ درصد است.

ج- برداشتن جزء کوچکی از تیموس یا تزریق آنتی بادی (ANTi-RT6) و یا با تجویز سیکلو هگزامید به موش های صحرایی مقاوم در برابر دیابت، دیابتی می شوند، ظاهراً فاکتور RT6+ لنفوسیت های T را حذف می کند در افراد دیابتی، لنفوسیت ها روی قسمتی از جزایر لانگرهانس که محتوی سلول های بتا هستند جمع می شوند، پس احتمالاً انهدام سلول های ترشح کننده ی انسولین به شکل اختصاصی انجام می شود و سلول های آلفا و دلتا و پلی پپتید پانکراسی در دیابت ایجاد شده با آلوکسان و استرپتوزوتوسین(STZ[1]) آسیب نمی بینند.

۵-۲-۱ بعضی از مواد دیابت زا

STZ از آنتی بیوتیک های ضد سرطان است با تجویز این دارو در سرطان کبد و جزایر لانگرهانس سلول ها نکروزه شده و دیابت دائمی ایجاد می شود (Acar, 2007). پنتامیدین و مشتقات آلوکسان و ویتامین E با دوز بالا دیابت ایجاد می کنند. دهیدرواسکوربیک اسید ترشح انسولین از سلول های بتا را کاهش می دهد، سلوماتوتروپین با اولین تجویز تخریب سلول های بتا را زیاد می کند و با دگرانولاسیون این سلول ها، ترشح انسولین را زیاد می کند، در پی آن میتوز زیاد شده و سلول ها تکثیر می شوند، تکرار تزریق آن باعث واکوئوله شدن، فیبروز و هپانیلینه شدن غیر قابل برگشت بافت لانگرهانس شده و دیابت ایجاد می شود (Chulshin et al., 1997). سایر هورمون هایی که گلوکونئوژنز را تحریک می کنند با ایجاد هیپرگلیسمی دیابت پایدار ایجاد می کنند که به آن متا دیابت می گویند، مثل: متا دیابت هیپوفیزیال و متا دیابت آدرنال(Tesdale and gean-gacgues, 1988).

[1] Streptozotocin

۱-۵-۲-۱ استرپتوزوتوسین(STZ)

یک ماده ضد سرطان و ضد میکروب است و متعلق به گروه Nitrosureas ها می باشد که به تنهایی یا همراه با سایر ترکیبات ضد سرطانی مخصوصاً در درمان انسیولینوما استفاده می شود. این دارو به شدت در کبد و کلیه ها متابولیزه می شود و به شکل متابولیت ها از طریق ادرار دفع می شود، مقدار کمی هم تغییر یافته و داخل ادرار ترشح می شود، STZ از سد خونی مغز عبور نمی کند اما متابولیت های آن در CSF یافت شده است. تحقیقات نشان داده شاید STZ بر متابولیسم گلوکز اثر داشته باشد اما اثرات دیابت زایی آن به اثبات رسیده است، احتمال دارد با آزاد شدن انسولین و آسیب سلول ها هیپرگلیسمی رخ می دهد و شاید هم STZ داخل بافت یا ترشح خارج عروقی باعث نکروز یا زخم موضعی شود (Keep et al., 1998).

۲-۵-۲-۱ مکانیسم دیابت زایی STZ

مکانیسم دیابت زایی STZ بحث برانگیز باقی مانده است Okamoto فرضیه ای را مطرح نموده که STZ بعد از اینکه وارد سلول ها می شود تجزیه شده و یون های کربونیوم تولید می کند که DNA را در موقعیت های مختلف آلکیله می کند و چون آسیب های وارده به DNA قابل اصلاح نیست باعث مرگ سلول یا بیان غیر طبیعی ژن می شود که این می تواند آغازگر یک واکنش اتوایمیون باشد. برای جداکردن قسمت های آلکیله در DNA و تصحیح آن آنزیم های درون هسته به نام ADP ریبوز سنتتاز فعال می شود، این آنزیم از DNA به عنوان سوبسترا استفاده می کند. kamoto معتقد بود این آنزیم در سلول های بتا به قدری فعال می شود که DNA به مقدار زیادی کاهش می یابد و عمل سلولی متوقف می شود و موجب مرگ می شود، بنابراین این مطالعات نشان داده که فعال شدن آنزیم ADP ریبوزسنتاز نقش اصلی در مکانیسم عمل STZ ندارد و شاید فاکتورهای دیگر در این امر دخیلند. با تزریق STZ سلول های بتا پانکراس گرانوله می شوند، بدون اینکه نکروزه شوند، بعد از ۴ روز که از تزریق STZ گذشت تکثیر کند می شود، برای ایجاد سلول