بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان‌نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و آنتی‌دیابتی و آنتی آپوپتوتیک عصاره متانولی گیاه تلخ بیان(*Sophora alopecuroides*)

مؤلف:

الهام خوشه بست

استاد راهنما:

دکتر ایران پورابولی

استاد مشاور:

دکتر سعید اسماعیلی ماهانی

بهمن ماه ۱۳۹۰

این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط احراز درجه کارشناسی ارشد به

گروه زیست شناسی

دانشکده علوم

دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمیشود.

دانشجو : خانم الهام خوشه بست

استاد راهنما : خانم دکتر ایران پورابولی

استاد مشاور : آقای دکتر سعید اسماعیلی ماهانی

داور ۱ : آقای دکتر سید منصور میرتاج الدینی

داور ۲ : خانم دکتر نیره عسکری

داور ۳ : -

معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی یا نماینده دانشکده : آقای دکتر خراسانی پور

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تقدیم به:

مهربان فرشتگانی که لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آنهاست.

تقدیم به خانواده عزیزم

تقدیر و تشکر

سپاس خدای را که سخنوران، در ستودن او بمانند و شمارندگان، شمردن نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند .و سلام و دورد بر محمد و خاندان پاک او

بدون شک جایگاه و منزلت معلم، اجل از آن است که در مقام قدردانی از زحمات بی شائبه ی او، با زبان قاصر و دست ناتوان، چیزی بنگاریم.
اما 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 سپرده اند، تضمین؛ بر حسب وظیفه و از باب " من لم یشکر المنعم
من المخلوقین لم یشکر اللّه عزّ و جلّ"

ازپدر و مادر عزیزم. ..این دو معلم بزرگوارم که محبت های بی دریغشان که هرگز فروکش نمی کند و در تمام عرصه های زندگی یار و یاوری بی چشم داشت برای من بوده اند؛

از استاد با کمالات و شایسته؛ سرکار خانم دکترپورابولی که در کمال سعه صدر، با حسن خلق و فروتنی، از هیچ کمکی در این عرصه بر من دریغ ننمودند و زحمت راهنمایی این رساله را بر عهده گرفتند؛
از استاد فرزانه و دلسوز ، جناب آقای دکتر اسماعیلی ماهانی که زحمت مشاوره این رساله را متقبل شدند و در طول انجام پژوهش از تجارب ارزنده شان بهره های فراوان بردم؛

و از اساتید فرهیخته و با تقوا سرکار خانم دکتر عسکری و جناب آقای دکتر میرتاج الدینی که زحمت داوری این رساله را متقبل شدند؛ کمال تشکر و قدردانی را دارم ..باشد که این خردترین، بخشی از زحمات آنان را سپاس گوید.

چکیده

دیابت شیرین نوعی اختلال در متابولیسم کربوهیدرات، پروتئین و چربی است که به علت کاهش ترشح انسولین و یا مقاومت به انسولین یا هر دو به وجود می‌آید. شواهد زیادی نقش استرس اکسیداتیو در ایجاد دیابت را نشان می‌دهند. گیاهان عمده‌ترین منبع آنتی‌اکسیدانهای طبیعی هستند لذا در این مطالعه میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و هایپوگلیسمیک حاد عصاره متانولی سه گیاه *Sophora alopecuroides, Acroptilon repens, Ducrosia Assadii* سنجیده شد و اثرات تجویز ۱۴ روزه دوز موثر گیاهی که بیشترین خاصیت آنتی‌اکسیدانی و هایپوگلیسمیک حاد را داشت بر برخی فاکتورهای بیوشیمیایی سرم بررسی شد.

خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های متانولی بصورت *in vitro* با دو روش قدرت احیاکنندگی یون آهن (FRAP) و به دام‌اندازی رادیکال آزاد دی‌فنیل پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) سنجش شد. ضمناً تأثیر عصاره ها با دوزهای ۱۰۰ و ۳۰۰ بر تست تحمل گلوکز (OGTT) در موش‌های نرمال تعیین شد. با تزریق استروپتوزوتوسین با دوز ۶۰ mg/kg, i.p (STZ) در موش‌های صحرایی نر دیابت نوع ۱ القا شد. ۷ روز بعد از تزریق موش‌هایی که قند خون ناشتای آن‌ها بیشتر از ۳۰۰mg/dl بود دیابتی محسوب و به ۳ گروه تقسیم شدند و عصاره با دوز۳۰۰ ، گلایبن کلامید (۶۰۰ µg/kg) و۰/۵ml آب مقطر(حلال عصاره) به روش گاواژ، به مدت ۱۴ روز دریافت نمودند. در پایان ۱۴ روز، بعد از بیهوشی کامل حیوانات خونگیری انجام شد. سپس سرم به منظور اندازه‌گیری فاکتورهای سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین، ALT، AST جدا شد.

نتایج بدست آمده از تست تحمل گلوکز نشان داد که در گروه دریافت کننده دوز ۱۰۰mg/kg و ۳۰۰mg/kg عصاره *S. alopecuriodes* و دوز۳۰۰ mg/kg عصاره *A. repens*، سطح سرمی گلوکز در لحظه ۱۲۰ در مقایسه با گروه نرمال، کاهش معنی داری نشان داده است. IC_{50} عصاره متانولی گیاه *S. alopecuroides* در روش DPPH و FRAP در مقایسه با BHA (شاهد مثبت) با IC_{50} ۱/۱۵mg/ml و۰/۰۶۲mg/ml، به ترتیب ۲/۸۴۶mg/ml و۰/۲۸ mg/ml و برای عصاره *D. Assadii* ۴/۴۵mg/ml و ۰/۶ و برای عصاره *A. repens* ۶/۹ mg/ml و۲ mg/ml بود. میانگین سطح سرمی گلوکز، کلسترول، تری‌گلیسرید، کراتینین ، AST و ALT در گروه دریافت‌کننده دوز ۳۰۰mg/kg عصاره به مدت ۱۴ روز نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت.

عصاره متانولی گیاه *S. alopecuroides* دارای اثرات هیپولیپیدمیک و هیپوگلیسمیک می‌باشد. بخشی از اثرات هایپوگلیسمیک عصاره احتمالاً به واسطه ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه می‌باشد.

واژه های کلیدی: *Sophora alopecuroides*، آنتی‌اکسیدان، دیابت ملیتوس

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: کلیات و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱معرفی بیماری دیابت ملیتوس و انواع آن.....۲
۱-۱-۱ دیابت نوع یک.....۳
۱-۱-۲ دیابت نوع یک و نیم.....۷
۱-۱-۳-دیابت نوع دو.....۷
۱-۲- روش‌های تشخیص دیابت.....۹
۱-۳- عوارض دیابت.....۱۱
۱-۴- نقش پروتئین ها ی کاسپاز در آپوپتوز سلول بتا.....۱۴
۱-۵-ایجاد پانکراس در دوران جنینی.....۱۶
۱-۶-بیوسنتز انسولین در سلول های بتا.....۱۷
۱-۷-معرفی انواع داروهای شیمیایی در درمان دیابت ملیتوس.....۱۸
۱-۷-۱-مهارکننده های ۱و۳ آلفا گلوکوزیداز.....۱۸
۱-۷-۲-بی گوانیدها.....۱۹
۱-۷-۳-سولفونیل اوره ها.....۱۹
۱-۷-۴- Thiazolidinediones.....۱۹
۱-۷-۵-مهار کننده های دی پپتیدیل پپتیداز.....۲۰

۱-۷-۶-انسولین ۲۰
۱-۸- داروهای گیاهی در درمان دیابت ملیتوس ۲۱
۱-۹-ویژگی های کلی گیاهان خانواده *Leguminosae* ۲۱
۱-۱۰-ویژگی‌های کلی گونه‌های *Sophora* موجود در ایران..... ۲۱
۱-۱۱- ترکیبات و خواص دارویی گونه‌های *Sophora*..... ۲۲
۱-۱۲-ترکیبات و خواص کلی گیاه*Ducrosia Assadii Alava* (Apiaceae) ۲۳
۱-۱۳-ترکیبات و خواص گیاه *Acroptilon repens* (Compositae) ۲۳
فصل دوم:مواد و روش‌ها
۲-۱- وسایل مورد استفاده ۲۶
۲-۲- مواد مورد استفاده..... ۲۷
۲-۳- روش تهیه عصاره های گیاهی..... ۲۸
۲-۴- بررسی اثر آنتی اکسیدانی عصاره های گیاهی به صورت *in vitro* ۲۸
۲-۴-۱روش FRAP..... ۲۸
۲-۴-۲روش DPPH ۲۹
۲-۵- تعیین گروه‌های مورد مطالعه ۳۰
۲-۶- حیوانات مورد مطالعه..... ۳۰
۲-۷- روش انجام تست تحمل گلوکز..... ۳۱
۲-۸- روش القا ء دیابت..... ۳۱
۲-۹- تیمار حیوان های دیابتی با عصاره تلخه بیان ۳۱

۲-۱۰ جمع آوری سرم حیوان ها ۳۱

۲-۱۱- روش تجزیه و تحلیل داده‌ها ۳۲

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره متانولی *S. alopecuriodes* بر روی رادیکال DPPH ۳۴

۳-۲- نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف از عصاره *S. alopecuriodes* با استفاده از روش FRAP ۳۵

۳-۳- نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری غلظت‌های مختلف عصاره متانولی *D. Assadii* بر روی رادیکال DPPH ۳۶

۳-۴- نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف از عصاره *D. Assadii* با استفاده از روش FRAP ۳۷

۳-۵- نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف از عصاره *Acroptilon repens* بر روی رادیکال DPPH ۳۸

۳-۶- نتایج حاصل از بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف از عصاره *Acroptilon repens* با استفاده از روش FRAP ۳۹

۳-۷- مقایسه مقادیر IC_{50} بدست آمده برای عصاره های سه گیاه مورد مطالعه و BHA با دو روش FRAP و DPPH ۴۰

۳-۸- اثر تجویز خوراکی مقادیر مختلف (۳۰۰ mg/kg و ۱۰۰) عصاره متانولی *S. alopecuriode* در تست تحمل گلوکز در موش‌های نرمال ۴۱

۳-۹- اثر تجویز خوراکی مقادیر مختلف (۳۰۰mg/kg و ۱۰۰) عصاره متانولی *Acroptilon repens* در تست تحمل گلوکز در موش‌های نرمال ۴۲

۳-۱۰- اثر تجویز خوراکی مقادیر مختلف (۳۰۰ mg/kg و ۱۰۰) عصاره متانولی *Ducrosia Assadii* در تست تحمل گلوکز در موش‌های نرمال.....۴۳

۳-۱۱- مقایسه اثر تجویز خوراکی دوز ۳۰۰ mg/kg عصاره‌های سه گیاه مورد مطالعه بر تست تحمل گلوکز ۴۴

۳-۱۲- اثر تجویز خوراکی دوز ۳۰۰mg/kg *S .alopecuriodes* و گلایبن‌کلامید با دوز ۶۰۰µg/kg به مدت ۱۴ روز بر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم (گلوکز، کراتینین ،کلسترول، تری‌گلیسرید ، AST، ALT) در موش‌های دیابتی نوع I.....۴۴

فصل چهارم:بحث و نتیجه گیری

۴-۱- اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاهان *Sophora alopecuriodes*، *Acroptilon repens* و *Ducrosia Assadii*.....۴۸

۴-۲- دیابت نوع I و تغییرات فاکتورهای بیوشیمیایی سرم ۵۰

۴-۳-اثر عصاره متانولی *Sophora. alopecuroides* بر سطح فاکتورهای بیوشیمیایی سرم در موش‌های دیابتی.....۵۳

نتیجه گیری کلی..... ۵۸

پیشنهادها.....۵۹

منابع.....۶۰

فهرست شکل‌ها

شکل ۱- ۱ مکانیسم مستقیم تخریب سلول های بتا ۵

شکل ۱-۲ مکانیسم غیر مستقیم تخریب سلول های بتا..... ۶

شکل ۱-۳ تصویر شماتیک از مکانیسم ملکولی فعالیت پپتیدc.....۱۰

شکل ۱-۴- مسیر پروتئین کیناز C و مسیر polyol در بیماری زایی عوارض دیابت ۱۳
شکل۱-۵ - فعال سازی PRPA و تعدیل GAPDH به وسیله آسیب DNA القا شده با ROS.....۱۴
شکل ۱-۶ - بخش های مختلف پانکراس و موقعیت آن نسبت به معده و روده.....۱۷
شکل ۱-۷ بیوسنتز انسولین از پری پروانسولین و پروانسولین ۱۸

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱- مقایسه فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف از عصاره متانولی *S alopecuriodes*. با روش مهار رادیکال DPPH در مقایسه با شاهد مثبت BHA.....۳۵
نمودار ۳-۲- مقایسه فعالیت آنتی‌اکسیدانی غلظت‌های مختلف از عصاره *S. alopecuriodes* با روش FRAP در مقایسه با شاهد مثبت BHA ۳۶
نمودار۳-۳- درصد مهار در غلظت های مختلف عصاره D. Assadii در روش DPPH در مقایسه با شاهد مثبت BHA ۳۷
نمودار۳-۴- درصد مهار در غلظت های مختلف عصاره *D. Assadii* در روش FRAP در مقایسه با شاهد مثبت BHA ۳۸
نمودار۳-۵- درصد مهار در غلظت های مختلف عصاره *Acroptilon repens* در روش DPPH در مقایسه با شاهد مثبت BHA.....۳۹
نمودار۳-۶- درصد مهار در غلظت های مختلف عصاره *Acroptilon repens* در روش FRAP در مقایسه با شاهد مثبت BHA.....۴۰
نمودار ۳-۷- تاثیر دوزهای مختلف عصاره متانولی *S. alopecuriodes* بر تست تحمل گلوکز ۴۱
نمودار ۳-۸- تاثیر دوزهای مختلف عصاره متانولی *Acroptilon repens* بر تست تحمل گلوکز.۴۲
نمودار ۳-۹- تاثیر دوزهای مختلف عصاره متانولی Ducrosia Assadii بر تست تحمل گلوکز.....۴۳

نمودار ۳-۱۰- مقایسه تاثیر دوز ۳۰۰mg/kg b.w عصاره گیاهان D. Assadii، S .alopecuriodes و A. repens بر تست تحمل گلوکز..... ۴۴

فهرست جدول‌ها

جدول۳-۱ اثر تجویز خوراکی دوز ۳۰۰mg/kg S .alopecuriodes و گلایبن‌کلامید با دوز ۶۰۰µg/kg به مدت ۱۴ روز بر برخی از فاکتورهای بیوشیمیایی سرم.....۴۰

جدول۳-۲-مقادیر IC_{50} برای عصاره های گیاهی مختلف و BHA با دو روش FRAP و DPPH. ..۴۶

فصل اول

کلیات و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱ معرفی بیماری دیابت ملیتوس و انواع آن

دیابت شیرین نوعی اختلال متابولیک است که به علت اختلال در ترشح انسولین و یا مقاومت به انسولین به وجود می‌آید و در هر دو حالت موجب افزایش گلوکز خون (هایپرگلیسمی) و دفع گلوکز در ادرار (گلیکوزاوری) می‌شود. دیابت از زمان های خیلی پیش شناخته شده است. این کلمه در زبان یونانی به معنی جاری شدن از سیفون است. علت انتخاب این نام برای این بیماری فراوانی بیش از حد ادرار در بیماران بوده است (Defronzo et al., 2004).

گزارش شده است که شیوع دیابت در سال ۲۰۰۹ درسراسرجهان نزدیک ده درصدجمعیت بوده است (Doss et al., 2009). باتوجه به پیش بینی سازمان بهداشت جهانی(WHO) شیوع دیابت تا سال ۲۰۲۵ به ۳۵٪ افزایش می یابد(Asaduzzaman et al., 2010). شیوع زیاد دیابت درهند و تعداد در حال افزایش آن هشدار دهنده است. فقط در این کشور، انتظار می رود شیوع دیابت از۴۰/۶ میلیون نفردر سال ۲۰۰۶ به ۴ /۷۹ میلیون نفرتاسال ۲۰۳۰ برسد (Mehta et al., 2009).

افزایش جهانی مبتلایان به دیابت به دلیل رشد جمعیت، افزایش گرایش به رژیم غذایی ناسالم، چاقی و شیوه زندگی بی تحرک می‌باشد(Ahmed et al., 2010). این بیماری با علائم مشخصی مانند پلی‌اوری (افزایش میزان ادرار) ، پلی‌دیپسی (تشنگی زیاد)، پلی‌فاژی(اشتهای زیاد) و کاهش وزن همراه است(Defronzo et al., 2004).

سلولهای بتای بالغ که در جزایر لانگرهانس پانکراس قرار دارند مسئول ترشح انسولین هستند. این سلولها نسبت به میزان گلوکز موجود در خون حساس بوده و در پاسخ به افزایش یا کاهش آن ترشحات خود را افزایش یا کاهش می‌دهند. این ترشحات توسط سیگنال‌های نورونی خاص، هورمون‌ها و عوامل فارماکولوژی تنظیم و تعدیل می‌شوند. انسولین ترشح شده از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس، در جذب گلوکز در عضله،کبد و بافت چربی شرکت کرده و باعث تعدیل سطح گلوکز خون می‌گردد. در افراد دیابتی (نوعI) انسولین تولید نمی‌شود و یا مقدار آن برای کنترل گلیسمی کافی نیست (Liang et al., 1994; Ahren, 2000).

دیابت نوع یک به علت واکنش خود ایمنی نسبت به سلول‌های بتا صورت می‌گیرد و دیابت نوع دو که پیچیده تر می‌باشد، به علت مقاومت بافت های عضلانی و چربی به انسولین و عدم ترشح جبرانی

انسولین ایجاد می شود. در این فرایند چندین مرحله از سیکل آپوپتوز (مرگ سلولی برنامه ریزی شده) در سلول بتا فعال می‌شود که منجر به مرگ سلولی شده و حالتی شبیه به دیابت نوع یک ایجاد می گردد.

۱-۱-۱ دیابت نوع یک

دیابت نوع I (وابسته به انسولین) ۵ تا ۱۰ درصدکل افراد دیابتی را شامل می شود اما شیوع آن در بین گروه‌های سنی پایین‌تر در حال افزایش است(Maiese et al., 2007).

زمینه ژنتیکی، بیماری‌های خودایمنی و عفونت ویروسی عوامل اصلی دخیل در ایجاد بیماری دیابت نوع ۱ می باشند(Muthukrishnan et al., 2007). دیابت نوع یک که ممکن است در هر سنی ایجاد شود یک بیماری خودایمنی مزمن است که مشخصه آن تخریب خودایمنی غیرقابل بازگشت سلول‌های بتا ترشح کننده انسولین جزایر پانکراس است. در دیابت نوع ۱ تولید بیش از حد گلوکز کبدی توسط گلیکوژنولیز و گلوکونئوژنز و کاهش بازجذب سلولی گلوکز از گردش خون وجود دارد. بیماران دارای دیابت نوع یک برای زنده ماندن به استفاده طولانی مدت از انسولین اگزوژن نیاز دارند.(Mehra et al., 2007) .

لنفوسیت‌هایT ایجاد کننده دیابت به دو دسته تقسیم می‌شوند: $CD\ 4^+$ کمک‌کننده و $CD\ 8^+$ سیتوتوکسیک. هر دوی این سلول‌ها به روش‌های مختلف نسبت به آنتی‌ژنهای خودی که اساسا در سلول‌های بتای پانکراس تولید می شوند، واکنش نشان می‌دهند. این آنتی‌ژن‌ها توسط کمپلکس سازگاری بافتی عمده[1] گروه ۲ که در سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن[2] خاصی مثل سلول‌های دندریتی یافت می‌شود، در اختیار سلول‌های $CD4^+$ قرار می‌گیرند. همچنین MHC گروه ۱ که اکثرا درسلول‌های سوماتیک یافت می‌شود آنتی ژن‌های خودی موجود در سلول‌های بتا را در اختیار سلول‌های $CD8^+$ قرار می‌دهد. سلول‌های ارائه دهنده آنتی‌ژن، سلول‌هایی هستند که آنتی‌ژن ورودی به بدن را گرفته و در اختیار سلول‌ها ی تولید کننده آنتی‌بادی قرار می‌دهند. سلول‌هایAP شامل سلول‌های دندریتی، لنفوسیت‌های B و ماکروفاژها می‌باشند(Mathis et al., 2001).

[1] Major Histocompatibility Complex (MHC)
[2] Antigen Presenting (AP) Cells

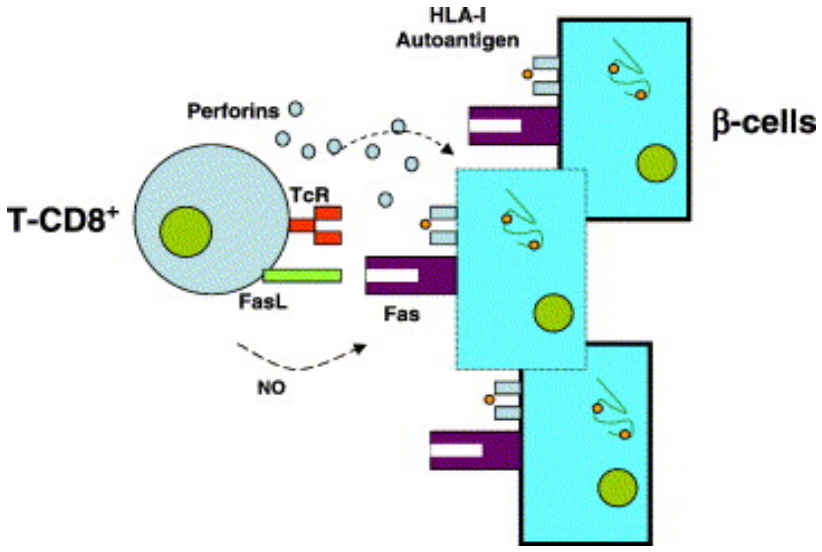
در دیابت نوع یک، سلول‌های دندریتی موجود در جزایر لانگرهانس باعث تخریب سلول‌های بتا می‌شوند. این سلول‌ها از جزایر به گردش خون مهاجرت کرده و آنتی‌ژن ها رادر معرض سلول‌های T قرار می‌دهند. بنابراین سلول‌هایT فعال شده، از بافت‌ها مهاجرت می‌کنند تا به جزایر برسند ودر آنجا نسبت به آنتی‌ژن‌های خودی موجود در بافت جزایری یا گره‌های لنفاوی مرتبط با آن واکنش نشان می‌دهند. بنابراین تخریب و مرگ سلول‌های بتا صورت می‌گیرد. در این زمینه ملکول‌های MHC نقش مهمی را ایفا می‌کنند. در انسان MHC به عنوان کمپلکس HLA شناخته می‌شود. HLA ناحیه‌ای از کروموزوم ۶ است که در آن ناحیه مجموعه‌ای از ۲۰۰ ژن قرار گرفته‌است. این ژن‌ها، گلیکوپروتئین‌های سطح سلولی (تحت عنوان پروتئین HLA) را کد می‌کنند، که به سیستم ایمنی امکان می‌دهند تا سلول‌های خودی را از سلول‌های بیگانه (ویروس، باکتری و سلول‌هایی که به بدن فرد پیوند می‌شوند) تشخیص دهد. وظیفه این گلیکوپروتئین‌های سطحی، که هترودایمرهایی متشکل از زنجیره‌های α و β هستند، شناسایی پپتیدهای حاصل از پروتئولیز پروتئین‌های درون سلولی و اتصال به آنها و به دنبال آن تشخیص رسپتورهای آنتی‌ژن که در سطح لنفوسیت‌های $CD4^+$ T و $CD8^+$ قرار گرفته‌اند، می‌باشد. بنابراین، پپتید حاصل از تجزیه پروتئین درون سلولی به HLA متصل شده و تشکیل کمپلکس peptide-HLA را در سطح سلول می‌دهد. کمپلکس حاصل در اختیارلنفوسیت‌های T قرار می‌گیرد(Roche et al., 2005; Notkins, 2002).

ناحیه‌ای که ملکول‌های HLA گروه ۱و۲ را کد می‌کند، شدیدا پلی‌مورف است و منجر به ایجاد واریانت‌های بسیار متفاوتی می‌شود. مولکول‌های HLA گروه ۲ ، سهم بیشتری در ایجاد دیابت دارند. افرادی که به جای اسیدآسپارتیک در موقعیت ۵۲ زنجیر آلفا دارای آرژینین هستند، استعداد بالایی برای این بیماری دارند. تنوعات ژنتیکی در ملکول‌های HLA گروه ۲ ممکن است منجر به تشخیص اشتباه آنتی‌ژن‌هایی شود که در سلول‌های بتای پانکراس وجود دارند. چنانچه سلول‌های ارئه دهنده آنتی‌ژن، جایگاه‌های تولید شده توسط زنجیره های آلفا و بتای ملکول‌های HLA گروه ۲ را به طور متنوع بیان کنند، این تنوع می‌تواند باعث تشخیص اشتباه آنتی‌ژن خودی شده و در نتیجه باعث شروع پاسخ ایمنی و تخریب سلول‌های بتا گردد (Roche et al., 2005).

انسولین یک آنتی‌ژن خودی اصلی در دیابت نوع یک است و حضور آنتی‌بادی‌های خودی ضد انسولین در بدن فرد از علائم دیابت خصوصا در افراد جوان می‌باشد. این آنتی‌بادی‌ها که توسط افراد

دیابتی تولید می‌شوند اساسا به سمت زنجیره β ملکول انسولین هدایت می‌شوند (Roche et al., 2005).

مکانیسم تخریب سلول‌های بتا توسط سیستم ایمنی به صورت مستقیم یا غیر مستقیم می‌باشد. در تخریب مستقیم، لنفوسیتهای T سیتوتوکیک $CD8^+$، بدون دخالت سلول AP به سلول بتا حمله ور می‌شوند. همان طور که قبلا ذکر شد، پپتید حاصل از تجزیه پروتئین درون سلولی، به عنوان اتوآنتی‌ژن عمل کرده و به HLA متصل می‌شود. سپس لنفوسیت‌های T کمپلکس peptide-HLA را تشخیص می‌دهند. به دنبال این مرحله مسیرهای signal transduction فعال می‌گردند که باعث آپوپتوز سلول‌های بتا می‌شوند (Roche et al., 2005).(شکل ۱-۱)

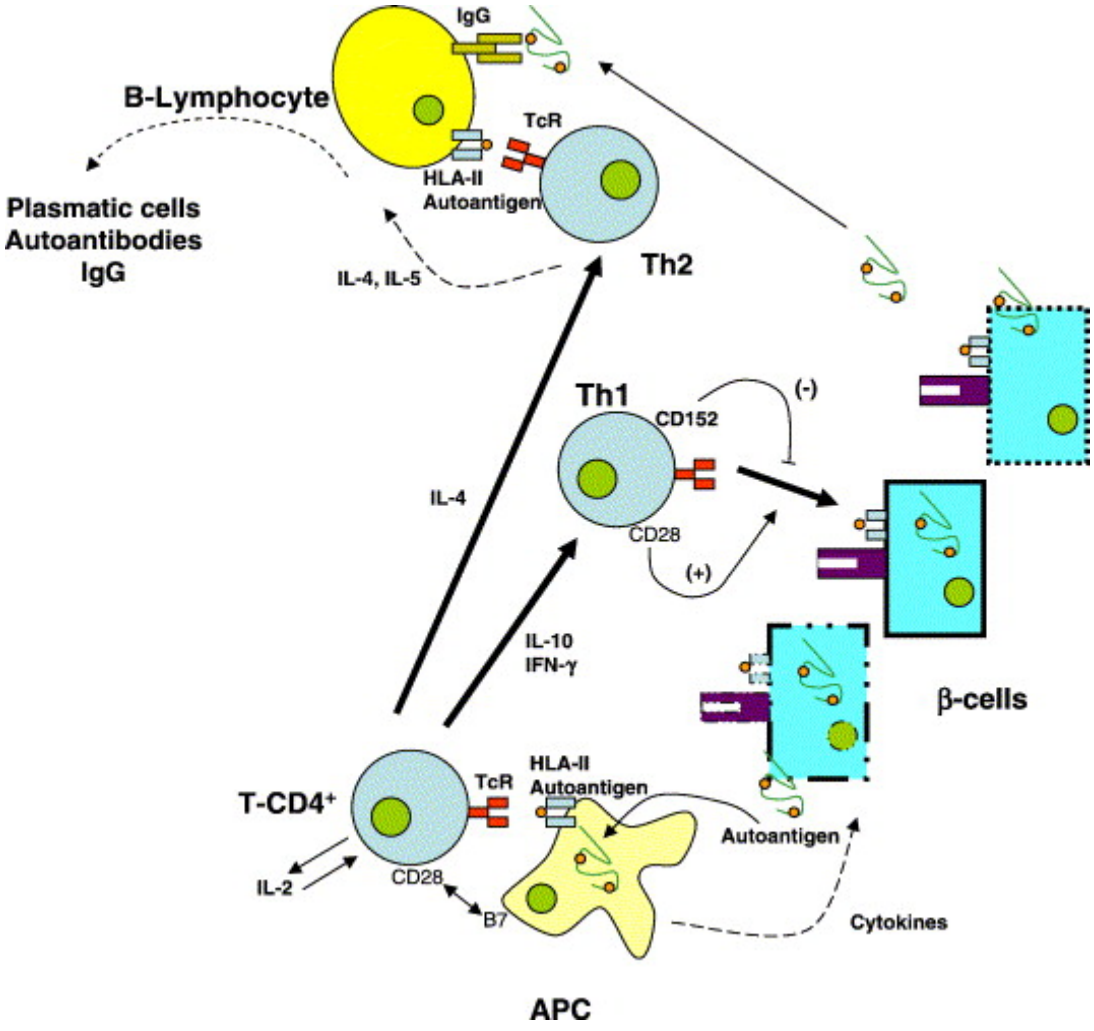


شکل ۱- ۱ مکانیسم مستقیم تخریب سلول های بتا . (Roche et al., 2005)

همان طور که در این شکل دیده می‌شود، پپتیدهای (اتوآنتی‌ژن) حاصل از پروتئولیز درون سلولی، توسط HLA گروه یک در سلول‌های بتا شناسایی شده و تشکیل کمپلکس می‌دهند. این کمپلکس‌ها بدون دخالت سلول‌های AP و به طور مستقیم توسط لنفوسیت‌های سیتوتوکسیک $CD8^+$، تشخیص داده می‌شوند و نهایتا منجر به تخریب سلول بتا می‌شوند.

در تخریب غیرمستقیم، اتوآنتی ژن‌هایی که از سلول‌های بتا آزاد می‌شوند، وارد سلول‌های AP شده و در آنجا در اثر پروتئولیز، ایجاد پپتید می‌کنند. پپتیدهای ایجاد شده توسط HLA گروه ۲ شناسایی شده و تشکیل کمپلکس می‌دهند. این کمپلکس‌ها توسط گیرنده‌های لنفوسیت‌های $CD4^+$ تشخیص داده

می‌شوند. سپس این لنفوسیت‌ها، سلول‌های ترشح کننده سیتوکین‌های مختلف (اینترفرون‌ها و اینترلوکین‌ها) رافعال کرده و منجر به مرگ سلول‌های بتا می‌شوند. سیگنال‌های تحریکی متفاوتی از قبیل اینترلوکین ۲ باعث تحریک پاسخ لنفوسیت‌های $T\text{-}CD4^{+}$ علیه سلول بتا می‌شوند. لنفوسیت‌های B توسط اینترلوکین ۴ و ۵ تحریک شده و منجر به تولید اتوآنتی‌بادی می‌شوند (Roche et al., 2005)(شکل ۱-۲)



شکل ۱-۲ مکانیسم غیر مستقیم تخریب سلول های بتا (Roche et al., 2005)

۱-۱-۲-دیابت نوع یک و نیم

دیابت نوع ۱/۵ معمولا پس از۳۵ سالگی تشخیص داده می‌شود و در آن نیاز فوری به انسولین نیست. (Goel et al., 2007). بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱/۵ از نظر فنوتیپی شبیه به بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲هستند اما مشابه دیابت نوع ۱ دارای اتوآنتی‌بادی هستند. در یک گروه مورد مطالعه از بزرگسالان مبتلا به دیابت نوع ۲ تقریبا ۱۰ تا ۳۰ درصد ، برای اتوآنتی‌بادی مثبت بوده اند (Stenstrom et al., 2005). به این گروه از بیماران دیابتی نوع دو با این فنوتیپ (تقریبا ده درصد) بیماران مبتلا به دیابت خودایمنی نهفته بزرگسالان[1] یا دیابت نوع ۱/۵گفته می‌شود(Palmer et al., 2005). در بیماران مبتلا به دیابت نوع ۱/۵ یک فرایند خود ایمنی مشابه آنچه در بیماران با دیابت نوع ۱ دیده می‌شود وجود دارد. اگر چه بیماران مبتلابه دیابت نوع ۱/۵ دارای ژن‌هایی مثل HLA DR2, DQB1*0602 هستند که نقش حفاظت کننده فردی از ابتلا به دیابت دارند، سلول‌های بتا توسط عوامل محیطی آنقدر ملتهب می‌شوند که تخریب خود ایمنی سلول‌های بتا شروع می‌شود. این تخریب با واسطه خودایمنی سلول‌های بتا در دیابت نوع ۱/۵ منجر به ایجاد وابستگی به انسولین سریع‌تر نسبت به دیابت نوع ۲ می‌شود; اما فاکتورهای ایمنی و ژنتیک کاهش یافته‌تر دیابت نوع ۱/۵ منجر به شروع بیماری درسن بالاتر و نیز پیشرفت آهسته‌تر در ایجاد وابستگی به انسولین در مقایسه با دیابت نوع ۱ می‌شود (Unger, 2008a).

۱-۱-۳-دیابت نوع دو

دیابت نوعII شایع ترین شکل بیماری دیابت است، که حدود ۹۰ تا ۹۵ درصد تمام موارد دیابت را شامل می‌شود. در دیابت نوع دو تولید انسولین در بدن کافی نیست یا سلول‌ها انسولین را نادیده می‌گیرند(Badyal and Kaur, 2008). بروز بیماری دیابت نوع دو در همه گروه‌های سنی از جمله جوانان که قبلا بسیار نادر بود ،در حال افزایش است(Metzger, 2006). دیابت نوع ۲ معمولا در افراد بالای ۴۰ سال رخ می دهد ومرتبط با استعداد ژنتیکی، عوامل التهابی و عوامل محیطی است. مصرف رژیم غذایی غنی از کالری ، چاقی و سبک زندگی کم‌تحرک منجر به افزایش بیماران دیابتی در سراسر جهان شده است(El-Shenawy and Abdel-Nabi, 2006).

[1] latent autoimmune diabetes in adults(LADA)