بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم

بخش زیست شناسی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی گرایش فیزیولوژی جانوری

سنجش خاصیت بازدارندگی تعدادی از عصاره های گیاهی بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و مطالعه اثر هیپوگلیسمیک موثرترین آنها در رتهای سالم و دیابتی

مولف:

ایراندخت کشاورز

استاد راهنما:

دکتر ایران پور ابولی

بهمن ماه ۱۳۹۱

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 : ایراندخت کشاورز

استاد راهنما : خانم دکتر ایران پورابولی

داور ۱: خانم دکتر نیره عسکری

داور ۲ : آقای دکتر هادی روان

معاونت پژوهشی وتحصیلات تکمیلی یا نماینده دانشکده :
حق پاپ محفوظ ومخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تشکر و قدردانی :

الهی ادای شکر تو را هیچ زبان نیست و دریای فضل تو را هیچ کران نیست، هدایت کن بر ما راهی که بهتر از آن نیست.

بی‌گمان تقدیر از کسانی که سبزترین اندیشه‌ها را در وجود انسان می‌گسترانند، کاری دشوار و غیر ممکن است و دست به دامان الفاظ و کلمات شدن تنها بخش ناچیزی از عظمت و بزرگواری این عزیزان را می‌تواند بیان نماید. لازم می دانم مراتب سپاس صمیمانه خود را از استاد محترم سرکار خانم دکتر ایران پورابولی به پاس تمامی زحمات و راهنمایی‌های کار گشای ایشان در طول انجام این رساله همچنین از زحمات و راهنمایی های داوران محترم جناب آقای دکتر روان وسرکار خانم دکتر عسکری ابراز دارم.

همچنین از زحمات کلیه اساتید بخش زیست شناسی که در طول دوران تحصیل با راهنمایی‌های ارزشمند خود ذهن مرا به جنبش واداشتند و با رهنمودهای ارزنده خود راهگشای اینجانب بوده‌اند، قدردانی می‌کنم. آرزوی سلامت و توفیق روزافزون این عزیزان را ازخداوند متعال مسئلت دارم.

چکیده

دیابت ملیتوس یک بیماری متابولیک است که در اثر اختلال در ترشح انسولین و یا پاسخ کاهش یافته اندامها به انسولین، ایجاد می‌شود. مهارگرهای α-آمیلاز پانکراس بعنوان یک روش موثر در کاهش سطح گلوکز خون بعد از غذا از طریق کنترل تجزیه نشاسته توصیه شده است . هدف این مطالعه بررسی اثر مهاری تعدادی عصاره‌های گیاهی بر آنزیم α-آمیلاز در in vitro وارزیابی تاثیر هیپوگلیسمیک موثرترین عصاره مهارگر بر سطح سرمی گلوکز خون در رتهای نرمال و دیابتی شده با STZ (۶۰ mg/kg i.p) بود. سنجش in vitro به روش Giancarlo با استفاده از نشاسته به عنوان سوبسترا در یک واکنش رنگ سنجی با استفاده از DNSA برای سنجش مالتوز آزاد شده از هیدرولیز نشاسته انجام شد. بررسی اثر هیپوگلیسمیک موثرترین عصاره مهارگر بوسیله سنجش OSTT (تست تحمل نشاسته) در غلظت‌هایmg/kg (۱۵۰۰ ، ۱۰۰۰ ، ۵۰۰ ، ۱۰۰) صورت گرفت. سطح گلوکز سرم در رتهای تیمار شده با عصاره و آکاربوز و آب مقطر در زمانهای (۲۴۰ ، ۱۲۰ ، ۶۰ ، ۳۰) بعد از گاواژ نشاسته تعیین شد. نتایج نشان داد که عصاره گیاهان *Dracocephalum polychaetum*، *Nepeta assurgens*، *Ferula assafoetida*، *Salvia mirzayani* ، *Zataria multiflor* فاقد اثر مهاری بر آنزیم α-آمیلاز بودند. عصاره گیاهان، *Dorema aucheri*(میوه)، *Dorema aucheri*(برگ)، *Ducrosia assadii Alava*، *Otostegia persica* و *Alhji mauroru* بین ٪(۱۲-۵) اثر مهاری نشان دادند. عصاره گیاه *Acroptilon repens* حداکثر ٪(۱۷/۵ ± ۲/۵۳) مهار و *Quercus infectoria* حداکثر ٪(۲/۱۸ ± ۹/ ۳) مهار و عصاره *Pycnocycla spinosa* نیز حداکثر٪ (۲/۱۸ ± ۱۲/۶) اثر مهاری بر α-آمیلاز را نشان دادند. عصاره گیاه *Ephedra major* مهار بسیار خوبی را بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز پانکراسی نشان داد که بالاترین درصد مهار در غلظت ۸mg/ml به میزان ٪(۸۲/۳ ± ۵/۷۸) با IC_{50} (۳/۰۱ mg/ml) در مقایسه با کنترل مثبت در همین غلظت با مهار ٪(۹۴/۶ ± ۸۸/۰) با IC_{50} (۳۱/۱ mg/ml) مشاهده شد. نتایج تجویز خوراکی عصاره آبی- متانولی میوه *E. major* نشانگر کاهش معنی‌دار قندخون پس از غذا در دوزmg/kg ۱۰۰۰ در دقیقه ۶۰ بعد از گاواژ نشاسته در مقایسه با کنترل (P< ۰/۰۵ ، ۲/۲۸ ± ۱۴/۷۵ v.s ۷/۷۵ ± -۷) در رتهای نرمال و کاهش معنی دار در دوز ۱۵۰۰mg/kg در دقیقه ۱۲۰در مقایسه با کنترل(p< ۰/۰۵ ، ۱/۰۳ ± ۲/۷۵ v.s ۲/۵ ± -۷/۵) در رتهای دیابتی نشان داد. بنابراین از بین (۱۵ عصاره گیاهی ارزیابی شده) عصاره میوه افدرا در سنجش in vivo و بویژه in vitro اثر مهارگری قابل توجهی بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز پانکراس

نشان داد و می‌تواند بعنوان یک کنترل کننده جذب گلوکز و ممانعت کننده از هیپرگلیسمی پس از صرف غذا پیشنهاد شود. که البته کاربرد بالینی آن نیاز به تحقیقات تکمیلی دارد.

واژه های کلیدی: آلفا آمیلاز، هیپرگلیسمی، دیابت ملیتوس، رَت

پیش گفتار

دیابت ملیتوس یک اختلال متابولیک است که به علل مختلف ایجاد می‌شود و بوسیله هیپرگلیسمی مزمن با اختلال در متابولیسم کربوهیدراتها، پروتئین ها و چربیها، مشخص میگردد و نتیجه نقص در ترشح انسولین، عملکرد انسولین ویا هر دو می باشد (King et al., 1998). کنترل هیپرگلیسمی بعد از غذا یک استراتژی مهم در مدیریت دیابت بویژه دیابت نوع ۲ و کاهش عوارض مرتبط با این بیماری میباشد (Subramanian et al., 2008). روند هضم کربوهیدراتها در پستانداران به چندین آنزیم با عملکرد متوالی و موازی نیازمند است. α-آمیلاز و دو آنزیم بخش برسی روده، مالتو- گلوکوآمیلاز و سوکراز- ایزومالتاز، بسرعت نشاسته را به مونومر گلوکز تبدیل می کنند. α-آمیلاز و یا α- ۴،۱ گلوکان-گلوکانوهیدرولاز یک اندوگلیکوزیداز است. α-آمیلاز کربوهیدراتهای پیچیده رژیم غذایی را به الیگوساکاریدها تجزیه می کند که آنها نهایتا بوسیله α-گلوکوزیدازها به مونوساکاریدها تبدیل میگردند. گلوکز آزاد شده بوسیله روده جذب و باعث هیپرگلیسمی پس از غذا میگردد(Shim et al., 2003).

مهار آنزیمهای دخیل در هضم کربوهیدراتها می تواند بطور قابل توجهی باعث کاهش قند خون افزایش یافته بعد از مصرف کربوهیدراتهای پیچیده غذایی ، با ایجاد تاخیر در مراحل هیدرولیز وجذب آنها گردد (Kim et al., 2005). بنابراین مهارگرهای آنزیمی می توانند در مدیریت دیابت نوع ۲ مفید باشند(Schafer et al., 2007).

گیاهان در طب سنتی برای بهبود دیابت از دیرباز بکار رفته اند. در سالهای اخیر تحقیقات درباره گیاهان دارویی برای کنترل دیابت علاقه بسیاری از دانشمندان را بخود جلب کرده است (Ali et al., 2006). تعدادی از گیاهان شناخته شده‌اند که فعالیت هیپوگلیسمیک آنها از طریق مهار آنزیم‌های هیدرولیزکننده کربوهیدراتها انجام می‌شود(Onal et al., 2005). بنابراین تحقیقات برای یافتن این مهارگرها در گیاهان بعلت دستیابی به داروهای ارزان ، قابل اطمینان و ایمن در کنترل دیابت و سایر بیماریها ادامه دارد. در این مطالعه ، اثر بازدارندگی تعدادی از عصاره های گیاهان بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز مورد بررسی قرار گرفت. ضمنا اثر هیپوگلیسمیک موثرترین این عصاره‌ها در موشهای سالم ودیابتی ارزیابی شد.

فهرست مطالب:

عنوان **صفحه**

فصل اول

مقدمه ۲

۱-۱-تاریخچه و شیوع دیابت ۲

۱-۲-انواع دیابت ۲

۱-۲-۱ دیابت نوع I و مکانیسم مولکولی موثر در ایجاد آن ۳

۱-۲-۱-۱-عوامل ژنتیکی ۴

۱-۲-۱-۲ خودایمنی ۵

۱-۲-۲-۱-مقاومت انسولین ۸

۱-۲-۲-۲ چاقی و مقاومت انسولین ۸

۱-۲-۲-۳ افزایش چربی در آدیپو سیت ها ۱۰

۱-۲-۲-۴ افزایش اسید های چرب آزاد (FFAs) ۱۱

۱-۲-۲-۵ هیپرگلیسمی و مقاومت انسولین ۱۲

۱-۲-۲-۶-چرخه کربوهیدرات و اسید چرب ۱۳

۱-۲-۳ برخی شکل های ویژه دیابت ۱۴

۱-۳-درمانهای شیمیایی ۱۵

۱-۳-۱-بیگوانیدها ۱۶

۱-۳-۲-Sulfonylureas ۱۶

۱-۳-۳-Meglitidines ۱۶

۱-۳-۴-Glitazones ۱۷

۱-۳-۵-α- glucosidase inhibitors ۱۷

۱-۳-۶-Incretins ۱۸

۱-۳-۷- Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors ۱۹

۱-۳-۸- داروی مقلد آمیلین ۱۹

۱-۴-درمانهای گیاهی ۱۹

۱-۵ معرفی مشخصات عمومی، ترکیبات و خواص درمانی گیاهان مورد مطالعه ۲۱

۱-۵-۱ *Acroptilon repens (L.) DC* ۲۱

۱-۵-۲-*Dracocephalum polychaetum Bornm* ۲۱

۱-۵-۳-*Dorema aucheri* ۲۱

۱-۵-۴-*Ducrosia Assadii Alava* ۲۱

۱-۵-۵-*Alhagi maurorum* ۲۳

۱-۵-۶-*Ferula assa foetida L.* ۲۳

۱-۵-۷- *Nepeta assurgens Hausskn. Ex Bornm.* ۲۴
۱-۵-۸- *Otostegia persica Boiss.* ۲۴
۱-۵-۹- *Pycnocycla spinosa Decne. Exboiss.* ۲۵
۱-۵-۱۰- *Quercus infectoria Olivier* ۲۵
۱-۵-۱۱- *Salvia mirzayanii* ۲۶
۱-۲-۱۲- *Sophora alupecoroids L. var. alopecuroides* ۲۷
۱-۵-۱۳- *Zataria multiflora Boiss* ۲۷
۱-۵-۱۴- *Ephedra major* ۲۸
۱-۶- اهداف مطالعه ۳۰
فصل دوم
مواد و روشها ۳۲
۲-۱- وسایل مورد استفاده ۳۲
۲-۲-مواد مورد استفاده ۳۳
۲-۳- بافرها ومحلولهای مورد استفاده ۳۴
۲-۴- روش تهیه عصاره گیاهی ۳۴
۲-۵- بررسی اثر مهارگری تعدادی عصاره گیاهی بصورت in vitro ۳۴
۲-۵-۱- روش انجام تست ها ۳۵
۲-۵-۱-۱- نحوه انجام مراحل سنجش ۳۶
۲-۶ روش مطالعه in vivo ۳۷
۲-۶-۱- مطالعه روی رتهای سالم و دیابتی ۳۷
۲-۷- روش القای دیابت ۳۷
فصل سوم
۳-۱-اثر مهاری عصاره های گیاهی بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز بصورت in vitro ۴۱
۳-۲ نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری آکاربوز (شاهد مثبت) درغلظت های مختلف بر آنزیم α-آمیلاز ۴۳
۳-۳- مقایسه فعالیت مهاری آکاربوز و عصاره *E. major* بر آنزیم α-آمیلاز ۴۳
۳-۴- اثر تجویز خوراکی دوزهای (۱۰۰۰ mg/kg ، ۵۰۰ ، ۱۰۰) عصاره *E. major* بر سطح گلوکز خون در موشهای نرمال ۴۴
۳-۵- اثر تجویز خوراکی مقدار (۱۵۰۰ mg/kg ، ۱۰۰۰ ، ۵۰۰ ، ۱۰۰) عصاره *E. major* بر سطح گلوکز خون در موش های دیابتی ۴۶
۳-۶-اثر تجویز خوراکی مقادیر(۱۰۰۰ mg/kg ، ۵۰۰، ۱۰۰) عصاره *E. major* برسطح گلوکز خون در موش های نرمال ۴۸
۳-۷- اثر تجویز خوراکی حاد مقادیر(۱۵۰۰ mg/kg، ۱۰۰۰ ، ۵۰۰، ۱۰۰)عصاره *E. major* بر سطح گلوکز خون در موش های دیابتی ۴۹

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری ۵۲
۴-۱- اثر مهارگری عصاره ها بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز بصورت in vitro ۵۲
۴-۲ سنجش اثر هیپوگلیسمیک موثرترین عصاره بر مهار فعالیت آنزیم α-آمیلاز در شرایط in vivo..... ۶۶
۴-۳-اثرات جانبی استفاده از افدرا..... ۶۹
۴-۴-پیشنهادها..... ۶۹
منابع: ۷۰
ضمیمه :..... ۸۷

فهرست شکل ها و نمودارها:

شکل ۱-۱. نمای ترسیمی از حمله خودایمنی به سلولهای بتای پانکراس در دیابت نوع۱ .. ۶

شکل۱-۲افزایش بیش ازحد متابولیسم درکبد (a)و عضله اسکلتی (b). ۸

شکل ۱-۳- cross- talk بین سیگنالینگ انسولین ، استرس اکسیداتیو ، مسیرهای التهابی و RAAS ۱۰

شکل ۱-۴. مکانیسم مولکولی پیشنهادی برای ایجاد مقاومت انسولین. ۱۰

شکل ۱-۵. بیان آدیپوکین‌ها وترشح بوسیله بافت آدیپوز و مقاومت انسولین در افراد چاق ۱۲

نمودار ۳-۱- اثر مهار کنندگی عصاره *P. Spinosa* بر آنزیم α-آمیلاز . ۴۲

نمودار ۳-۲—اثر مهاری عصاره*E. major* بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز ۴۲

نمودار خطی ۳-۲ اثر مهاری عصاره *E. major* بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز ۴۲

نمودار۳-۳اثر مهاری آکاربوز (کنترل مثبت) بر فعالیت آنزیم α-آمیلاز ۴۳

نمودار خطی ۳-۴ مقایسه فعالیت مهاری آکاربوز و عصاره *E. major* بر آنزیم α-آمیلاز ۴۴

نمودار ۳-۵ میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۱۰۰در رتهای نرمال ۴۴

نمودار ۳-۶- میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۵۰۰ در رتهای نرمال ۴۵

نمودار۳-۷- میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۱۰۰۰ در رتهای نرمال ۴۶

نمودار۳-۸- میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۱۰۰در رتهای دیابتی ۴۶

نمودار۳-۹- میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۵۰۰ در رتهای دیابتی ۴۷

نمودار۳-۱۰- میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۱۰۰۰ در رتهای دیابتی ۴۸

نمودار ۳-۱۱- میزان تغییرات سطح گلوکز خون در گروههای مختلف دریافت کننده عصاره میوه *E. major* با دوزmg/kg ۱۵۰۰ در رتهای دیابتی ۴۸

نمودار۳-۱۲- مقایسه اثر سه دوز mg/kg (۱۰۰۰ ، ۵۰۰، ۱۰۰) عصاره *E.major* در تغییرات سطح گلوکز خون در رتهای نرمال ۴۹

نمودار۳-۱۳- مقایسه اثر چهار دوز mg/kg (۱۵۰۰ ، ۱۰۰۰ ، ۵۰۰ ، ۱۰۰) عصاره *E. major* درتغییرات سطح گلوکز خون در رتهای دیابتی ۵۰

شکل ۴-۲- نمایش ترسیمی از لوپ کاتالیتیکی و subsite ۱- و ۱+ و ۲- در آنزیم α- آمیلاز بزاقی انسان ۵۴

شکل ۴-۲- اسکلت ساختمانی فلاونوئیدها ۵۷

شکل ۴-۳- ساختمان فلاونول و فلاون ۵۸

شکل ۴-۴- ساختمان فلاونوئیدهای جنس‌های افدرا ۶۵

فهرست جداول:

جدول ۳-۱- نتایج حاصل از بررسی اثر مهاری غلظت های مختلف عصاره های گیاهان مور دآزمایش بر روی فعالیت آنزیم α-آمیلاز..... ۴۰

فصل اول

کلیات و مروری بر مطالعات گذشته

مقدمه

۱-۱-تاریخچه و شیوع دیابت

کلمه diabetes مشتق شده از کلمه یونانی diab به معنای عبور از (چرخه پرنوشی و پر ادراری) وmellitus کلمه ای لاتین به معنای شیرین شده با عسل (حضور قند در ادرار) می‌باشد. (Warjeet Singh, 2011). طبق نظر پزشکان هند باستان madhumeha یک بیماری است که بیمار دارای ادرار شیرین است و شیرینی را در همه نقاط بدن مانند عرق، مخاط، نفس و خون نشان می دهد. محاسبات تاریخی نشان می دهدکه در حدود ۲۰۰ سال قبل از میلاد، دیابت ملیتوس در هند بخوبی شناخته شده بوده و به دو نوع تقسیم شده است، یک اختلال که پایه ژنتیکی داشته است و یک اختلال وابسته به رژیم غذایی بوده است(Grover et al., 2002).

دیابت ملیتوس یک بحران سلامت جهانی است که بطور مزمن و صرفنظر از وضعیت اجتماعی-اقتصادی و موقعیت جغرافیایی جمعیت ها بر بشریت اثر گذاشته است. بر اساس یک تخمین در هر ۵ ثانیه در هر جای دنیا یک شخص از دیابت آسیب می بیند و هر ۱۰ ثانیه یک نفر از بین می رود (Colagiuri., 2010).

دیابت یک اختلال متابولیک است که بطور بحرانی جمعیت های هم کشورهای پیشرفته و هم در حال توسعه را تحت تاثیر قرار میدهد. بر اساس اطلس دیابت IDF[1] ، شیوع جهانی دیابت ۴/۶ ٪ که نمایانگر ۱۵۱ میلیون نفر است که تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۲۵ به ۳۳۳ میلیون نفر برسد. گزارشات اخیر یک افزایش در این رقم با شیوع جهانی را تخمین می زند که تا سال ۲۰۳۰ به ۷/۸ ٪ (۴۳۸ میلیون نفر) افزایش خواهد یافت. در کشورهای در حال توسعه اثرات شدیدتر و بویژه گروه اقتصادی اجتماعی پایین تر را بیشتر تحت تاثیر قرار می دهد. بر اساس IDF تخمین هزینه کامل جهانی برای جلوگیری و درمان دیابت تا سال ۲۰۳۰ بالای ۴۹۰ بیلیون دلار خواهد رفت (Colagiuri., 2010).

۱-۲-انواع دیابت

دیابت ملیتوس از بیماریهای متابولیک مزمن است که بر بدن انسان از نظر سلامت فیزیکی، فیزیولوژیکی و اجتماعی اثر می گذارد و بعنوان یک گروه از اختلالاتی در نظر گرفته می شود که بوسیله هیپر گلیسمی، متابولیسم تغییر یافته لیپیدها، پروتئینها و کربوهیدراتها مشخص میگردد (Patel et al., 2011). در این بیماری بدن یا انسولین کمی تولید می کند یا توقف تولید انسولین

[1] .Iternational diabetes federation

دارد (دیابت نوع I) و یا به عملکرد انسولین مقاومت پیدا می کند دیابت نوعII (Ranjan et al., 2002).

عوامل مختلفی شناخته شده اند که در پیشرفت دیابت و عوارض آن دخیل هستند. اینها شامل عوامل ژنتیکی، رژیم غذایی، کاهش فعالیت فیزیکی، استرس، فاکتورهای پیش از تولد، سن و چاقی، التهاب مزمن و یا عفونت می باشند(Singh et al., 2004; Edwin et al., 2006).

عوارض دیابت به دو دسته عروقی و غیر عروقی تقسیم می‌شوند. عروقی شامل عوارض ماکرو وسکولار(عروق کرونری، عروق مغزی، بیماریهای عروق محیطی) و عوارض میکرو وسکولار (رتینوپاتی، نفروپاتی، نوروپاتی و عوارض قلبی- عروقی) می شوند. عوارض غیر عروقی نیز شامل ناتوانی جنسی، امبریوپاتی، تغییرات پوستی و تغییرات خلقی می باشند(Laakso., 1999).

۱-۲-۱ دیابت نوع I و مکانیسم مولکولی موثر در ایجاد آن

معیار تشخیص و دسته بندی دیابت، برای اولین بار بوسیله WHO در سال ۱۹۶۵ سپس در سال ۱۹۷۹ بوسیله NDDG[1] بنا گذاشته شد و نهایتا آخرین پیشنهاد در سال ۱۹۹۷ بوسیله ADA[2] و در سال ۱۹۹۹ بوسیله WHO منتشر شد(Genuth et al., 2003).

دیابت نوع I در ۱۰٪ بیماران دیابتی متداول است. تخریب سلولهای β جزایر پانکراس معمولا منجر به نقص مطلق انسولین می شود(Ranjan et al., 2002). بیماران برای جلوگیری از کتوزیس و بقای زندگیشان کاملا وابسته به انسولین اگزوژن هستند (Lokesh et al., 2006). این نوع دیابت از دوران کودکی یا نوجوانی شروع می شود اما ممکن است در هر سنی اتفاق بیفتد(King, 2006).

دو شکل اصلی از دیابت نوع I وجود دارد که نوع ۱a (حدود ۹۰ ٪ حالت ها) که تصور می شود به علت اختلال ایمونولوژیکی سلولهای β است و نتیجه آن کاهش انسولین می‌باشد. نوع ۱b حدود ۱۰٪ حالت ها را تشکیل می‌دهد و idiopathic یا با علت ناشناخته می‌باشد و شواهدی از خودایمنی در آن وجود ندارد. بیماریهای خودایمن مانند Grav's disease، Hashimoto's thyroiditis، Addison's disease ممکن است با دیابت نوع I مرتبط باشند (Betterle et al., 1984; Atkinson and Maclaren, 1994).

[1] .National Diabetes Data Group
[2]. American Diabetes Association

۱-۲-۱-۱-عوامل ژنتیکی

شکی وجود ندارد که دیابت ملیتوس نوع I بطور ژنتیکی تعیین میگردد و بوسیله یک عامل تعیین کننده بعد از تولد ناشناخته و به احتمال زیاد محیطی (مانند ویروسهای معین و فاکتورهای غذایی) و همچنین عوامل ایمونولوژیک بروز می‌کند(Pietropaolo et al., 2002). چندین لوکوس ژنی، خطر ابتلا به دیابت نوع I را افزایش می‌دهد(Todd et al., 2007; Jahromi., 2007). در بین اینها، لوکوس HLA[1] رایج‌ترین پلی مورفیسمی است که زمینه ابتلای به این بیماری را مهیا می کند(Todd et al., 2007). لوکوس HLA شامل ژنهایی است که مولکولهای MHC (major histocompatibility complex) را کد می‌کنند (Turner, 2004). دو نوع از این مولکولها وجود دارند که عملکرد اصلی این مولکولها ارائه آنتی‌ژنهای پردازش شده به گیرنده های ویژه آنتی‌ژنی روی مولکولهای لنفوسیت های +CD4 و+CD8 می‌باشد. MHC کلاس I روی اغلب سلولهای هسته دار بدن کد شده و در ظهور آنتی ژنهای داخل سلولی نقش دارند. MHC class II که روی سطح سلولهای ارائه دهنده آنتی ژن[2] [مانند سلولهای دندریتی (در بافتهایی که در تماس با محیط خارجی هستند)، ماکروفاژها و لنفوسیت های B] بیان شده و در ظهور آنتی ژنهای خارجی دخیل هستند(Daneman, 2006).

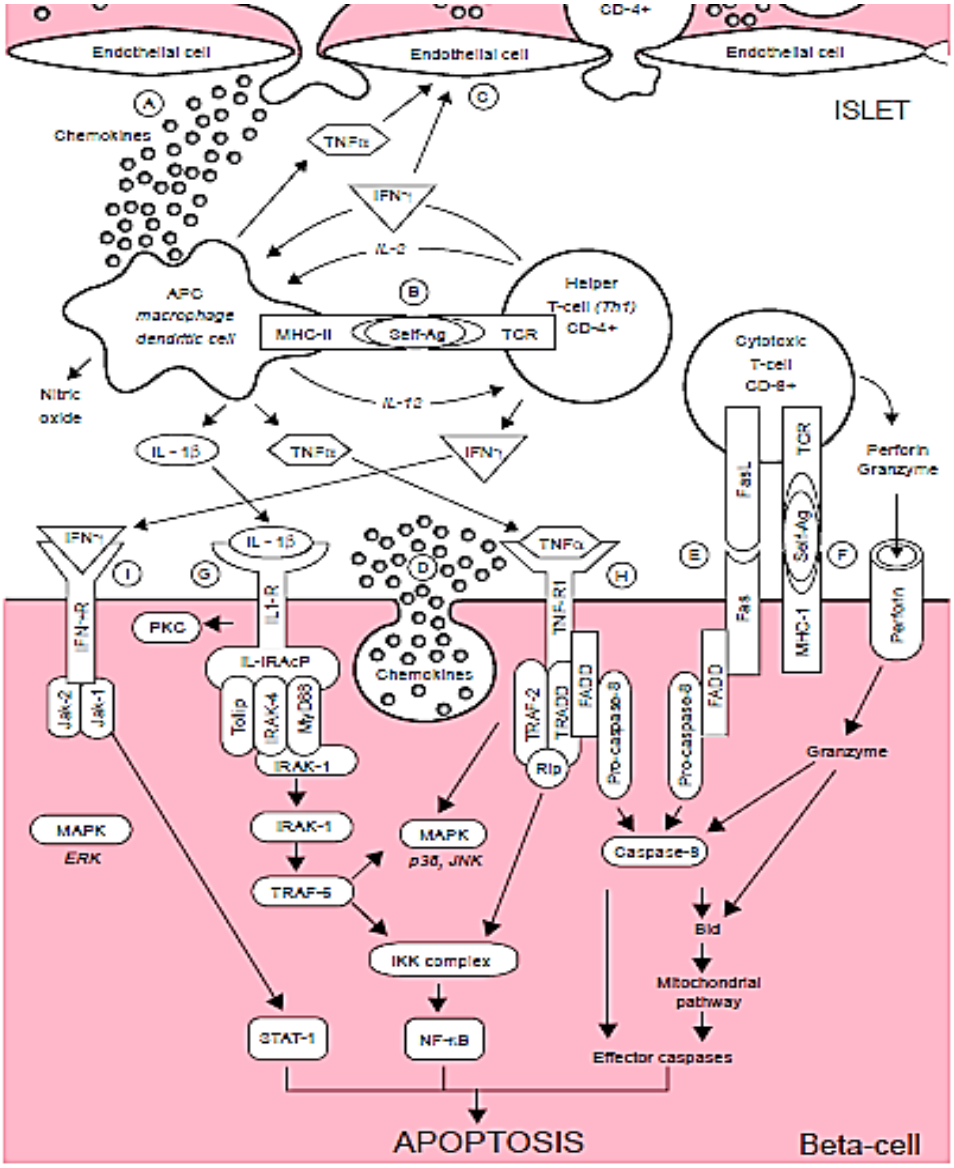
مطالعات زیادی دیابت I را به ۵۰ پلی مورفیسم ژن non-HLA ربط داده اند(Pociot, 2002). بسیاری از این فاکتورهای ژنتیکی برای عملکرد سیستم ایمنی مهم هستند. برای مثال PTPN22 یک تنظیم کننده عملکرد T-cell است و تیروزین فسفاتازی را کد می‌کند که فعالسازی سلول T را با دفسفوریلاسیون اجزای کلیدی آبشار سیگنالینگ گیرنده سلول T مهار می‌کند (Pirot et al., 2008). پلی مورفیسم ژنتیکی آن، نتیجه اش واریانت های مختلف فسفاتاز است که نه تنها خطر ابتلا به دیابتI، بلکه بیماریهای rheumatoid arthritis، juvenile rheumatoid arthritis، Graves disease، systemic lupus erythematosus و generalized vitiligo را نیز افزایش می دهد(Herr., 2000). لوکوس های دیگر، non-HLA که ثابت شده در ایجاد دیابت I نقش دارند عبارتند از: IBASH3A (Conconnon et al., 2003)، IL2RA(Lowe et al., 2007)، INS (Barratt et al., 2004)، ERBB3, TRAFD1, SH2B/INK (Todd et al., 2007). تکرارهای پشت سرهم (tandem repeate) نوکلئوتیدهای گوناگون در ناحیه پروموتور ژن انسولین (INS VNTR)[3] به نظر میرسد در ایجاد دیابت نوع I همکاری داشته باشد(Takase et al., 2005).

---

[1] . Human Leukocyte Antigen
[2] . Antigen Processing Cells (APC)
[3] . Insulin Variable Nucleotide Tandem Repeat

۱-۲-۱-۲ خودایمنی

در واکنش‌های خود ایمنی که در نهایت منجر به مرگ سلولهای بتای جزایر پانکراس می شوند، ابتدا ماکروفاژها و یا سلولهای دندریتی (نوعی از سلولهای نمایانگر آنتی ژن) به جزایر پانکراس نفوذ می کنند(Yoon et al., 2005). ماکروفاژهای فعال شده IL-12 ترشح می کنند که سلولهای +CD4 از نوع TH1 را تحریک می کنند. این سلولها IFNγ و IL-2 ترشح کرده که IFNγ دیگر ماکروفاژهای در حال استراحت را فعال می کنند که به نوبه خود سیتوکین هایی مانند IL-1β و TNF-α و رادیکالهای آزاد، رها کرده که برای سلولهای β سمی هستند. در طی این پروسه، IL-2 و دیگر سیتوکینها، مهاجرت سلولهای T محیطی+ CD8 به جزایر ملتهب را القا میکنند. سلولهای+ TCD8 پیش سیتوتوکسیک، که گیرنده ویژه سلولهای β را حمل می‌کنند به افکتورهای سیتوتوکسیک T cell تمایز می‌یابند که پپتید ویژه سلولهای β را شناسایی کرده و در حضور سلولهای +TCD4 کمکی به مولکولهای MHC classI باند می شوند. این سلولها با آزاد کردن granzyme (از محرکهای پرو آپوپتوتیک) و بوسیله آپوپتوز میانجی شده بوسیله fas باعث صدمه به سلولهای β می‌شوند. بنابراین ماکروفاژها، سلولهای +TCD4 و+ TCD8، بطور سینرجیستی سلولهای β را نابود می کنند. آپوپتوز به دنبال فعال کردن کاسپازها (سیستئین پروتئازهایی هستند که بصورت زیموژنهای غیر فعال ساخته می شوند، سپس بوسیله محرک های آپوپتوتیک مثل fasL و با شکستن پروتئولیتیک فعال می گردند) اتفاق می افتد. همچنین ممکن است نکروزیس هم نقشی ایفا کند(Rasche et al., 2009).



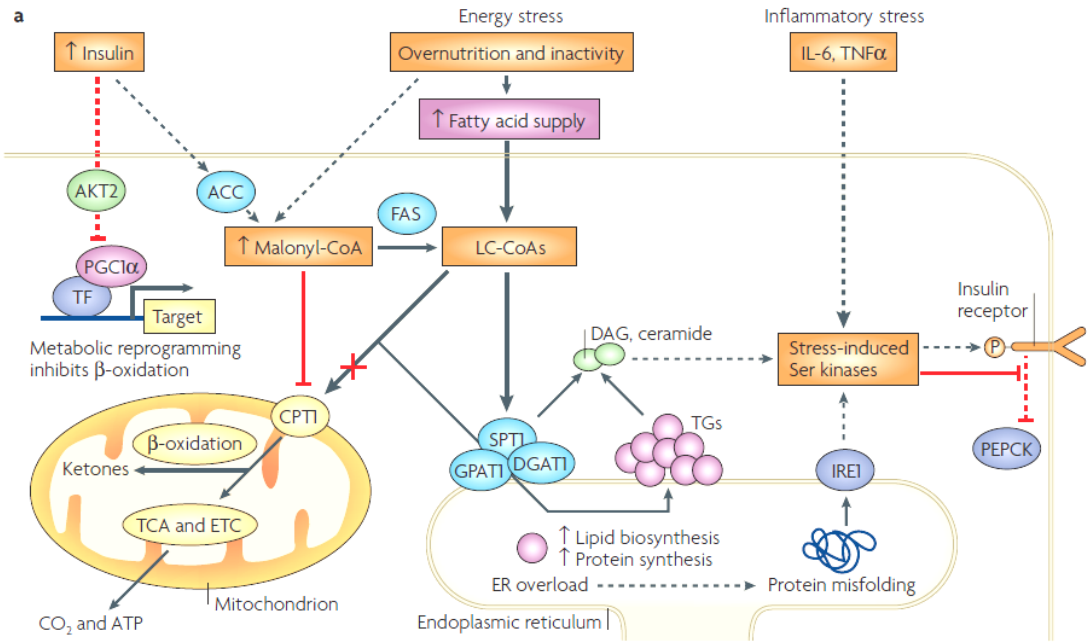
شکل ۱-۱. نمای ترسیمی از حمله خودایمنی به سلولهای بتای پانکراس در دیابت نوع۱ .آپوپتوز سلولهای بتا به روشهای زیر القا می شود:۱- مسیر Fas ۲- سیستم پرفورین / گرآنزیم وهمچنین اتصال سیتوکاین ها به گیرنده های سطح سلولهای بتا ۳- IL- 1β که NF- κB و کیناز pkc و P38 و JNK را فعال می کند. ۴- TNF-α که کاسپاز ۸ و NF- κB و MAPK P38 و JNK را فعال می کند. ۵- IFNγ که stat1 و کیناز ERK را فعال می کند (Pirot et al., 2008).

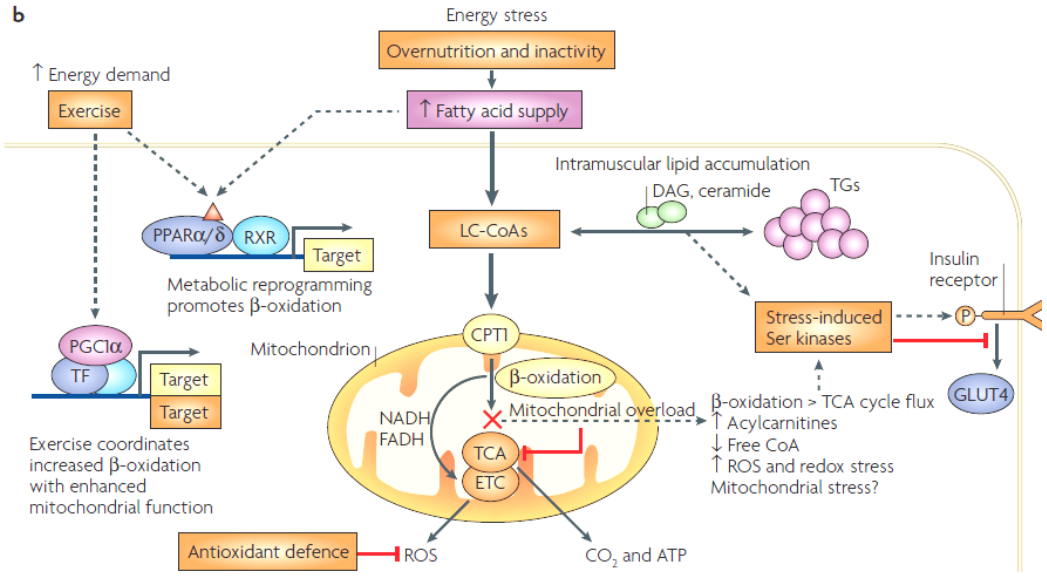
۱-۲-۲-دیابت نوع ۲ و مکانیسم مولکولی موثر در ایجاد آن

بیش از ۸۵٪ از موارد دیابت را در سراسر دنیا شامل می شود. این دیابت هتروژن است یعنی طیفی از مقاومت انسولین تا کاهش انسولین را در بر می گیرد(Lokesh et al., 2006). همچنین این نوع

دیابت، بیماریی با چندین علت می باشد که هم عوامل ژنتیکی و هم غیر ژنتیکی در ایجاد آن دخالت دارند(Torben., 2002).

این بیماری اغلب مرتبط با چاقی است. افزایش میزان تغذیه به مدت طولانی همراه با استعداد ژنتیکی موجب صدمه به سیگنالینگ انسولین می شود که به عنوان مقاومت انسولین شناخته می شود. البته کاهش نسبی انسولین نیز به همان اندازه در ایجاد آن دخالت دارد. مقاوت انسولین به عنوان نتیجه ای از تاثیرات عوامل التهابی و هورمونی، استرس شبکه آندوپلاسمی [افزایش سطح تغذیه باعث افزایش در بیوسنتز انسولین و ترشح آن می شود که ظرفیت پایه folding پروتئینها افزایش یافته و منجر به فعالسازی UPR (پاسخ پروتئینهای unfold) میگردد که نهایتا منجر به استرس ER می شود]، و تجمع محصولات ناشی از افزایش تغذیه در بافتهای حساس به انسولین می‌باشد(Cohen, 2006).





شکل۱-۲افزایش بیش ازحد متابولیسم درکبد (a)و عضله اسکلتی (b)(Muoio and Newgard, 2008).

۱-۲-۲-۱-مقاومت انسولین

مقاومت انسولین عموما به معنای یک توانایی کاهش یافته انسولین برای تحریک انتقال گلوکز و مصرف آن است . این متابولیسم غیر طبیعی همراه با افزایش میزان لیپیدها در خون و افزایش فشار خون و انسولین مشخصه ای برای سندرم مقاومت انسولین است و اغلب منجر به دیابت نوع ۲ می شود. مکانیزمهای زمینه ای پیشرفت مقاومت انسولین متعدد هستند. تعادل انرژی مثبت خالص و اختلال در ذخیره و تجمع چربی، فاکتورهای اصلی در پاتوژنز این اختلال متابولیک می باشد (Lewis et al., 2002). در کنار این، مقاومت انسولین ممکن است بوسیله دیگر اختلالات متابولیک، مانند عدم تعادل در میزان چندین هورمون مانند کاتکول آمین ها(Reaven et al., 1996) ، گلوکوکورتیکوئیدها(Ward et al., 2003) یا هورمون رشد(Hansen et al., 1986) القا شود .جهش در تعدادی از اعضای آبشار سیگنالینگ انسولین (گیرنده انسولین- سوبسترای گیرنده انسولین) نیز منجر به ظهور مقاومت انسولین می شود(Kahn, 1998).

۱-۲-۲-۲ چاقی و مقاومت انسولین

بافت چربی نه تنها بعنوان یک مکان ذخیره چربیها بلکه بعنوان یک بخش اندوکرین، با ترشح طیف وسیعی از هورمونها و سیتوکین ها عمل میکند(Hajer et al., 2008). آدیپو کین بطور معمول به هر پروتئینی که می تواند بوسیله آدیپوسیت ها ساخته و ترشح شود گفته می شود