

بررسی اثر و اندیل سولفات خوراکی بر فراساختار سلولهای بتای پانکراس موشهای

صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین

دکتر صلاح الدین احمدی^۱، دکتر سید مرتضی کریمیان^۲، دکتر مسعود ستوده^۳، دکتر مسلم بهادری^۴، دکتر غلامعباس دهقان^۵

slahadin@yahoo.com

۶۱۳۱۳۹۹

- ۱- استادیار گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران (مؤلف مسؤول)، تلفن تماس: ۶۱۳۱۳۹۹
- ۲- استادیار گروه فیزیولوژی و پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۳- دانشیار گروه فیزیولوژی و پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
- ۴- استاد گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران

چکیده

زمینه و هدف: نظر به اثرات شبیه انسولینی نمک‌های وانادیم، این ترکیبات به عنوان یک عامل درمانی در درمان دیابت شیرین در مدل‌های حیوانی بیماری مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. این تحقیق به منظور بررسی فراساختار سلولهای بتای پانکراس موشهای صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین و معالجه شده توسط وانادیل سولفات‌انجام گرفت.

روش بررسی: دیابت در موشهای صحرایی ویستار بوسیله تزریق داخل سیاهرگی چهل میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن از استرپتوزوتوسین ایجاد گردید. معادل محلول تزریقی در گروه دیابتی، نرمال سالین به داخل سیاهرگ دم موشهای گروه شم تزریق شد. حیوانات به دو گروه مداخله و کنترل تقسیم شدند. وانادیل سولفات‌به آب آشامیدنی گروه‌های مداخله با غلظت نیم میلی‌گرم بر میلی‌لیتر به مدت یک هفته و سپس یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تا سه ماه اضافه گردید. گروه‌های کنترل در این دوره زمانی آب معمولی دریافت کردند. حیوانات مورد مطالعه به مدت دو ماه نگهداری و سپس کشته شدند. جزایر لانگرهانس پانکراس توسط هضم کلاژنی از بخش برون ریز جدا، در گلوتار آلدئید ثبیت و فراساختار سلولهای بتا در برشهای نازک توسط میکروسکپ الکترونی مورد مطالعه قرار گرفت.

یافته‌ها: وانادیل سولفات منجر به بهبود علایم دیابت از جمله کاهش قند پلاسمما و آب مصرفی در موشهای دیابتی شد. موشهای دیابتی کنترل در طول مطالعه دیابتی باقی ماندند. تغییری در وضعیت قند پلاسمما و آب مصرفی در موشهای گروه شم دیده نشد. بررسی فراساختار سلولهای بتای پانکراس موشهای دیابتی معالجه شده در میکروسکپ الکترونی بیانگر سلولهای سالم با توزیع کروماتین طبیعی، شبکه اندوپلاسمی خشن توسعه یافته، افزایش گرانولهای سیتوپلاسمی نابالغ و نداشتن هیچ نوع علامتی دال بر آسیب سلولی بود. انفیلتاسیون لنفویستی در جزایر لانگرهانس گروه مداخله مشاهده نگردید. در جزایر گروه دیابت کنترل انفیلتاسیون لنفویستی و در سلولهای بتا، سیتوپلاسم واکوئله، پیکنوزیس هسته و علائم مرگ سلولی نظیر نکروز دیده شد. در گروه شم معالجه شده تغییر خاصی جز افزایش گرانولهای سیتوپلاسمی دیده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این مطالعه بهبود علایم دیابت در موشهای صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین در اثر معالجه با وانادیل سولفات با حفظ فراساختار سلولهای بتای پانکراس همراه است.

کلید واژه‌ها: استرپتوزوتوسین، وانادیل سولفات، قند پلاسمما، سلولهای بتا، فراساختار، دیابت

وصول مقاله: ۸۸/۲/۱ اصلاح نهایی: ۸۸/۳/۲۸ پذیرش مقاله: ۸۸/۵/۱۸

مقدمه

آلی ترکیبات وانادیم نسبت به نمک‌های غیر آلی بهتر جذب شده و اثر درمانی بهتری دارند (۲۲-۱۹). مکانیسم مولکولی وانادیم در ارتباط با اثرات شبه انسولینی و بهبود دیابت بطور کامل مشخص نیست. مطالعات نشان داده است که ترکیبات وانادیوم وضعیت قند خون را در مدل حیوانی دیابت نوع یک و دو و نیز در انسان از طریق ابراز آنژیمهای اصلی مؤثر در متابولیسم کربوئیدراتها، مهار تیروزین فسفاتازها در مسیر انتقال پیام انسولین، تحریک پروتئین کینازها و انتقال گلوکز ترانسپورترها از داخل اندامکهای سیتوپلاسمی به غشای پلاسمایی بهبود می‌بخشد (۲۸-۲۳). وانادیل سولفات علاوه بر اثرات شبه انسولینی سبب افزایش میزان ذخیره انسولین سلولهای بتا و عمل ترشحی آنها می‌شود (۳۰ و ۲۹). بهبود طولانی مدت علائم دیابت در حیوانات دیابتی معالجه شده با وانادیل سولفات در زمانی که تصور می‌شود سطح پلاسمایی و بافتی وانادیل به مقدار قبل از معالجه برگشتی باشد، گزارش شده است (۳۱ و ۳۲).

هدف مطالعه کنونی پی بردن به ارتباط احتمالی بین اثرات ضد دیابتی وانادیل سولفات و حفاظت سلولهای بتای پانکراس از طریق بررسی فراساختار سلولهای بتا در میکروسکپ الکترونی بود. فرضیه ما این بود که بهبود طولانی مدت علایم دیابت، نظیر قند پلاسما و آب مصرفی، در دیابت نوع یک ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین در موشهای صحرایی در اثر معالجه با وانادیل سولفات ناشی از حفظ فراساختار سلولهای بتای پانکراس است.

مطالعات اپیدمیولوژیک بر افزایش شیوع جهانی دیابت شیرین دلالت دارد (۱۹ و ۲۰). دیابت نوع یک بدليل تخریب اختصاصی سلولهای بتای تولیدکننده انسولین در جزاير پانکراس بواسیله سلولهای تی اتو ریاکتیو و مواد واسطه تولید شده بواسیله این سلولها در هنگام التهاب جزاير ایجاد می‌شود (۳-۵). دیابت نوع دو به دلیل مقاومت بدن نسبت به عملکرد انسولین همراه با اختلال تدریجی در عملکرد سلولهای بتا اتفاق می‌افتد که به از دست رفتن تدریجی کتترل متابولیک منجر می‌گردد (۷ و ۶). جلوگیری از تخریب سلولهای بتای پانکراس عامل مهمی برای مقابله با دیابت بوده و کتترل به موقع قند خون می‌تواند به میزان قابل ملاحظه‌ای از عوارض این بیماری بکاهد.

وانادیم یک عنصر واسطه جدول تناوبی و کمیاب بوده و در ظرفیت‌های منهای سه تا به اضافه پنج یافت می‌شود. گزارشات زیادی در ارتباط با نقش ترکیبات وانادیم در بهبود علایم دیابت در مدل‌های تجربی دیابت نوع یک و دو از طریق کاهش غلظت پلاسمایی گلوکز، نرمال نمودن سطح لیپیدهای پلاسما، بالا بردن حساسیت نسبت به انسولین و تقلید اثرات انسولین وجود دارد (۸-۱۳). وانادیم در مایع خارج سلولی عمدتاً به شکل وانادات (پنج ظرفیتی) و در داخل سلول بیشتر به شکل وانادیل (چهار ظرفیتی) که شکل فعل و مؤثر وانادیم بوده و اثرات شبه انسولینی دارد یافت می‌شود. اتصال ترکیبات وانادیم به پروتئینهای پلاسما بر روی مقدار قابل دسترس وانادیم برای اثرات بیولوژیک مؤثر است. نیمه عمر وانادیل سولفات در پلاسما حدود چند دقیقه و نیمه عمر حذف آن در بافتها که بیشترین آن مربوط به بافت استخوان است در حدود ده روز است (۱۸-۱۴). اشکال

روش بررسی مواد

میلی‌گرم در صد میلی‌لیتر بود حیوان دیابتی در نظر گرفته شد.

روز هفتم بعد از تزریق، حیوانات دیابتی و شم هر کدام به دو زیر گروه مساوی بنامهای کنترل و معالجه شده (دیابت کنترل و دیابت معالجه شده هر کدام ۳۲ عدد، شم کنترل و معالجه شده هر کدام ۱۴ عدد) تقسیم گردیدند. وانادیل سولفات در آب آشامیدنی گروه معالجه شونده ابتدا بمدت یک هفته با غلظت نیم میلی‌گرم در میلی‌لیتر، به منظور عادت کردن حیوان، و سپس یک میلی‌گرم در میلی‌لیتر و جمماً به مدت سه ماه اضافه گردید (۳۷ و ۳۰). گروههای کنترل در این مدت آب مقطر دریافت نمودند. گلوکز پلاسما و آب دریافتی در این مدت و به مدت دو ماه پس از خاتمه درمان بطور مرتب کنترل گردید. در پایان مطالعه حیوانات با دوز بالای اتر کشته شدند.

نحوه آماده سازی نمونه‌ها برای مطالعه با میکروسکپ الکترونی ترانسمیشن

جزایر پانکراس از طریق هضم کلائزی جدا گردید (۳۳). بدین منظور پس از بیهوش کردن حیوان با اتر، شکم حیوان باز گشته و بخش انتهایی مجرای مشترک صفراوي، نزدیک محل اتصال آن به دئونوم مسدود گردید. پانکراس بوسیله تزریق ده میلی‌لیتر محلول بالانس شده هانکس از طریق مجرای اصلی صفراوي متسع گردید. پانکراس متسع شده جدا و به تکه‌های ریز قطعه قطعه شد. در قطعات خرد شده غدد لنفاوی و بافت چربی جدا و پس از چند بار شستن در محلول هانکس تکه‌های بافت به لوله‌های استریل حاوی کلائزناز نوع بی با غلظت دو و نیم میلی‌گرم در میلی‌لیتر منتقل گردید. بافت مربوطه به مدت چهل و پنج دقیقه در محلول کلائزناز در درجه حرارت سی و هفت درجه و با لرزش

وانادیل سولفات مونوهیدرات از شرکت آلدريچ انگلیس، استریتوزوتوسین از شرکت فارماسیا آپ جون ایالات متحده، کلائزناز نوع B از بوهرينگر مانهیم (Boehringer Mannheim)، کیت گلوکز از شرکت زیست شیمی، اسپکتروفوتومتر UV-3100 از شرکت شیماتزو ژاپن، سانتریفوژ، (Ice-model Clini-cool، USA)، محلول تازه و بالانس شده هانکس از محلول ذخیره تهیه گردید.

معالجه و نگهداری موشها

تعداد ۹۲ عدد موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۸۰ الی ۲۲۰ گرم از انتیتوی رازی کرج تهیه گردیده و تحت شرایط استاندارد نگهداری شدند. در ۶۴ عدد از موشها دیابت از طریق تزریق محلول تازه تهیه شده استریتوزوتوسین، ۴۰ میلی‌گرم به ازای کیلوگرم وزن بدن در یک دهم مول بافر سیترات (PH=۴/۵)، به داخل ورید سیاهرگ جانی دم ایجاد گردید (۱۸). یک گروه ۲۸ عددی از حیوانات معادل حجم تزریقی در گروه قبلی نرمال سالین از طریق تزریق به داخل سیاهرگ جانی دم دریافت و به عنوان گروه شم در نظر گرفته شدند. نمونه‌های خونی جهت آزمایش با بریدن قسمت انتهایی دم و ماساز رو به پائین ملایم آن در لوله‌های میکرو سانتریفوژ جمع آوری گردید. پلاسما بوسیله چرخش نمونه‌های خونی در دستگاه سانتریفوژ بمدت ده دقیقه با سرعت چرخش ۱۰۰۰۰ چند گشت. گلوکز پلاسما بلافاصله پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها بوسیله اسپکتروفوتومتر اندازه گیری شد. در صورتی که قند پلاسما یک هفته بعد از تزریق بالاتر از ۴۰۰

استرپیتوزوتوسین به پنج برابر رسیده بود (میلی گرم در صد میلی لیتر 142 ± 12 ، میلی لیتر در روز 142 ± 21) سه ماه بعد از معالجه با وانادیل سولفات به محدوده طبیعی برگشت (میلی گرم در صد میلی لیتر 124 ± 12 ، میلی لیتر در روز 25 ± 4). گلوکز پلاسما و مایع مصرفی تا پایان مطالعه در محدوده طبیعی باقی ماند. چند مورد از حیوانات که نوسان قند و مایع مصرفی داشتند و در هنگام معالجه قند پلاسما و مایع مصرفی طبیعی و بعد از قطع معالجه قند پلاسما و آب مصرفی مجدداً بالا می‌رفت از مطالعه حذف گردیدند. تمام حیوانات دیابتی در گروه کنترل در طول این مدت دیابتی باقی مانده و در تعدادی از حیوانات این گروه کاتاراکت یک طرفه یا دوطرفه ایجاد گردید. برخی از حیوانات در هر دو گروه دیابتی کنترل و مداخله در طول مطالعه از بین رفته و تعدادی در طول دوره مطالعه جهت بررسی‌های هیستولوژیک و ایمینو‌هیستوشیمیایی کشته شدند. گلوکز پلاسما و آب مصرفی حیوانات گروه شم کنترل (میلی گرم در صد میلی لیتر 122 ± 11 ، میلی لیتر در روز 25 ± 3 و شم معالجه شده (میلی گرم در صد میلی لیتر 112 ± 9 ، میلی لیتر در روز 20 ± 4) تغییر معنی‌داری در طول مطالعه نداشت.

نتایج الکترون میکروسکپی

گروه نرمال کنترل: شکل ۱ نمونه جزایر لانگرهانس و سولولهای بتای پانکراس موشهای صحرایی گروه کنترل را نشان می‌دهد. سیتوپلاسم سولولهای بتای طبیعی مملو از گرانولهای ترشحی بالغ و نابالغ با مرکز الکترون دنس و هاله روشن و توزیع تقریباً یکنواخت در سیتوپلاسم بود. هسته‌ها منظم، کروماتین متراکم در لایه داخلی هسته و کلامپ‌های متعدد در مرکز هسته دیده می‌شد.

۱۰۰ مرتبه در دقیقه انکوبه گردید. جزایر در زیر استرومیکروسکپ بوسیله میکرو پیپت جدا و برای آنالیز در گلوبتارآلدئید ۲/۵ درصد در بافر فسفات یک دهم مولار در pH=۷/۴ ثبیت گردید. جزایر در تراکسید اسمیوم یک درصد در ۴ درجه سانتیگراد بمدت یک ساعت قرار گرفت، در اتانول آبگیری و در این غوطه ور گردید. برش‌های فوق العاده نازک با اورانیل استات و سیترات سرب رنگ و فراساختار سلولهای بتا بوسیله میکروسکپ الکترونی فیلیپس (انستیتو رازی کرج) و بر اساس مشخصات ساختمانی از جمله محل قرارگیری گرانولها، مقدار الکترون اوپاسیتی گرانول، وسعت شبکه اندوپلاسمی، مشخصات واکوئلها و ظاهر سیتوپلاسم از بقیه سلولهای جزایر تفکیک گردید (۳۴). در مواردی که مطالعه و مقایسه با بخش برون ریز پانکراس مورد نظر بود برش‌های نیمه نازک از مقاطع پانکراسی تهیه، مکان مورد نظر بوسیله میکروسکپ نوری در برش‌های نیمه نازک مشخص و برش‌های نازک از نواحی مربوط تهیه گردید.

داده‌ها بوسیله نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل و بر حسب میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. به منظور تست هموژنیتی واریانسها از بارتلت استفاده شد. در صورت مقایسات چند گانه برای اختلاف آماری اختلافات از آنالیز واریانس یک طرفه و بدنبال آن تست توکی استفاده شد.

یافته‌ها

قند پلاسما و مایع مصرفی

اطلاعات مربوط به گلوکز پلاسما و مایع مصرفی در جدول ۱ و ۲ نشان داده شده است. گلوکز پلاسما و مایع مصرفی که تقریباً یک هفته بعد از تزریق

جدول ۱: مقادیر پلاسمایی گلوکز در گروههای مختلف از حیوانات در طول دوره مطالعه

قند پلاسمایی (میلی گرم در صد میلی لیتر)

| پنج ماه | سه ماه | دو ماه | یک ماه | روز هفت | گروه دیابت |
|----------|----------|----------|----------|----------|------------|
| (نمونه) | (نمونه) | (نمونه) | (نمونه) | (نمونه) | (تعداد) |
| ۴۵۶ ± ۲۷ | ۴۷۸ ± ۲۳ | ۴۷۱ ± ۱۷ | ۴۹۳ ± ۱۵ | ۵۲۶ ± ۲۱ | کنترل |
| (۱۴) | (۲۲) | (۲۵) | (۲۷) | (۶۴) | (تعداد) |
| ۱۲۹ ± ۱۲ | ۱۲۴ ± ۱۲ | ۱۸۲ ± ۲۸ | ۲۶۸ ± ۳۳ | | معالجه |
| (۱۴) | (۱۸) | (۲۲) | (۳۰) | | (تعداد) |
| ۱۲۲ ± ۱۱ | ۱۱۸ ± ۱۰ | ۱۱۰ ± ۱۰ | ۱۱۲ ± ۸ | ۱۱۰ ± ۸ | کنترل |
| (۱۴) | (۱۴) | (۱۴) | (۱۴) | (۲۸) | (تعداد) |
| ۱۱۲ ± ۹ | ۱۱۰ ± ۸ | ۱۱۰ ± ۶ | ۱۱۲ ± ۷ | | معالجه |
| (۱۲) | (۱۲) | (۱۲) | (۱۴) | | (تعداد) |

اعداد بر حسب میانگین ± انحراف معیار از میانگین نشان داده شده‌اند. $p < 0.01$ × تفاوت معنی‌دار سطح

× گروه دیابت کنترل و مداخله در روز هفت و یک ماه با همه گروه‌ها

× گروه دیابت کنترل دو ماه با همه گروه‌ها بجز دیابت کنترل سه ماه

× گروه دیابت کنترل سه ماه با همه گروه‌ها بجز دیابت یک، دو و پنج ماه

× گروه دیابت کنترل پنج ماه با همه گروه‌ها بجز دیابت کنترل دو ماه و پنج ماه

جدول ۲: مقادیر مایع مصرفی در گروههای مختلف از حیوانات در طول دوره مطالعه

| پنج ماه | سه ماه | دو ماه | یک ماه | روز هفت | گروه دیابت |
|----------|----------|----------|----------|----------|------------|
| (نمونه) | (نمونه) | (نمونه) | (نمونه) | (نمونه) | (تعداد) |
| ۱۵۱ ± ۱۳ | ۱۶۹ ± ۱۳ | ۱۵۴ ± ۱۰ | ۱۵۹ ± ۱۰ | ۱۴۲ ± ۱۲ | کنترل |
| (۱۴) | (۲۲) | (۲۵) | (۲۷) | (۶۴) | (تعداد) |
| ۲۶ ± ۵ | ۲۵ ± ۴ | ۲۳ ± ۵ | ۲۵ ± ۴ | | معالجه |
| (۱۴) | (۱۸) | (۲۲) | (۳۰) | | (تعداد) |
| ۲۰ ± ۳ | ۲۷ ± ۳ | ۲۵ ± ۴ | ۲۶ ± ۵ | ۲۴ ± ۴ | کنترل |
| (۱۴) | (۱۴) | (۱۴) | (۱۴) | (۲۸) | (تعداد) |
| ۲۰ ± ۴ | ۲۱ ± ۴ | ۲۲ ± ۴ | ۲۱ ± ۵ | | معالجه |
| (۱۲) | (۱۲) | (۱۴) | (۱۴) | | (تعداد) |

اعداد بر حسب میانگین ± انحراف معیار از میانگین نشان داده شده‌اند. $p < 0.05$ × $p < 0.01$ ×

× گروه دیابت کنترل روز هفت با همه گروه‌ها × گروه دیابت کنترل یک ماه با همه گروه‌ها بجز دیابت کنترل دو و پنج ماه

× گروه دیابت کنترل دو ماه با همه گروه‌ها بجز دیابت کنترل پنج ماه

× گروه دیابت کنترل پنج ماه با همه گروه‌ها بجز دیابت کنترل یک ماه و دو ماه

× گروه دیابت کنترل روز هفت با گروه دیابت کنترل پنج ماه

پراکندگی گرانولهای ترشحی مشابه گروه کترول است. اندازه بخش مرکزی، الکترون دنس، گرانولها افزایش و هاله روش اطراف کاهش یافته است. تعداد گرانولها بخصوص تعداد گرانولهای نابالغ افزایش واضح نشان می‌داد. علیمی از انفیلتراسیون لنفوسيتی دیده نشد. جزایر لانگرهانس پانکراس موشهای صحرایی گروه شم معالجه شده شبیه گروه کترول بود. گرانولهای ترشحی بخصوص گرانولهای ترشحی نابالغ از نظر تعداد افزایش نشان می‌داد ولی در سیتوپلاسم توزیع یکنواختی داشتند. هسته و کروماتین سلولهای بتای پانکراس موشهای صحرایی با هسته و کروماتین سلولهای نرمال نداشت و سلولهای آماسی و ماکروفازها در جزایر دیده نشد.

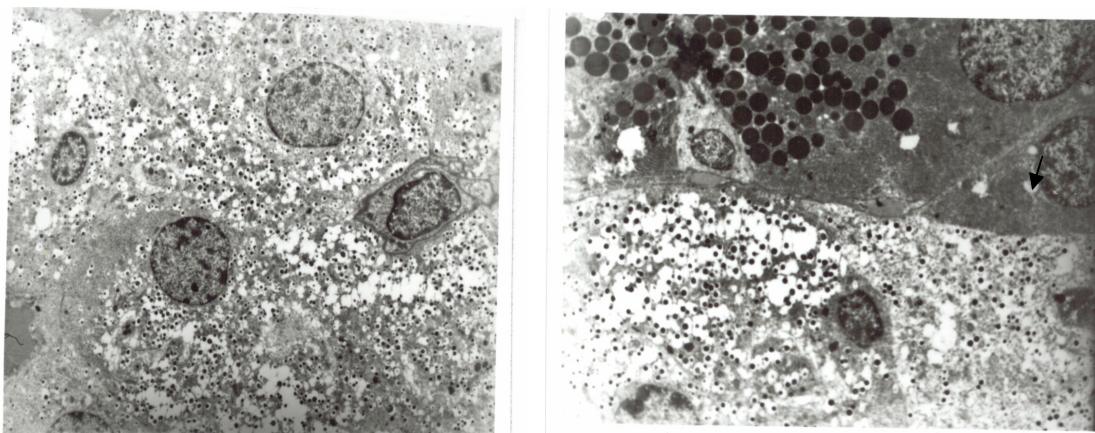
بحث

بررسی الکترون میکروسکوپی سلولهای بتای جزایر پانکراس موشهای صحرایی دیابتی معالجه شده توسط واندیل سولفات در این مطالعه نشان داد که فراساختار سلولهای بتای جزایر شبیه موشهای طبیعی غیر دیابتی بوده و تنها تفاوت قابل توجه کاهش اندازه سلولها، افزایش شبکه اندوپلاسمی خشن و گرانولهای نابالغ در سیتوپلاسم بود که ممکن است ناشی از حفظ انسولین پانکراسی باشد. مطالعات ما بیانگر آن است که در دیابت متوسط ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین واندیل سولفات بر روی سلولهای بتای جزایر پانکراس اثر تروفیک دارد و منجر به بهبود علایم دیابت می‌شود که با حفظ مورفولوژی جزایر و انسولین ایمیونو ریاکتیویتی سلولهای بتا همراه است، عملی که انسولین به تنها ب قادر به انجام آن نیست (۳۵ و ۳۶).

فضای (هاله) نسبتاً زیاد اطراف گرانولهای بالغ در سلولهای بتا، یکی از شاخص‌های وجه تمایز سلولهای بتا از بقیه سلولهای جزایر در میکروسکوپ الکترونی، در شکل مشخص است. علائمی دال بر مرگ سلولی دیده نشد. سلولهای برون ریز با گرانولهای بزرگ فاقد هاله بیرونی و سیتوپلاسم متراکم در بخش بالای تصویر مشخص است. (مرز بین بخش درون ریز و برون ریز پانکراس با فلاش مشخص شده است).

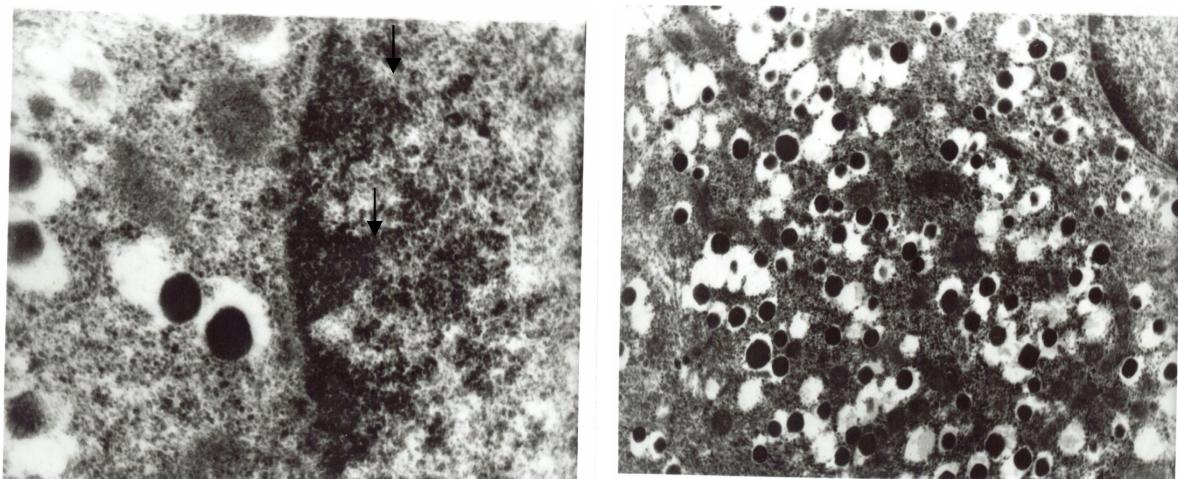
گروه دیابت کترول: شکل ۲ نمونه جزایر لانگرهانس و سلولهای بتای پانکراس موشهای صحرایی گروه دیابت کترول را نشان می‌دهد. جزایر دارای سلولهای بتای مرده فراوان با هسته پیکوتیک و سیتوپلاسم واکوئله بود. اندازه جزایر کوچکتر از نرمال و مملو از سلولهای بتا با سیتوپلاسم از هم پاشیده و متراکم که در غالب موارد هنوز تعداد کمی گرانول داشتند بود. گرانولهای باقیمانده موجود در سیتوپلاسم سازماندهی منظمی نداشته و در حاشیه سلولهای بتا تجمع کرده بودند. بندرت در پانکراس جزایر دیده می‌شد که از نظر ساختمان سلولی شبیه گروه کترول بودند ولی در همان جزایر نیز تعداد سلولها در واحد سطح بسیار کم بود. سلولهای فیربلاستی و لنفوئیدی نسبت به سلولهای درون ریز افزایش و در بین سلولهای جزایر ماکروفاز دیده می‌شد.

گروه مداخله: شکل ۳ نمونه جزایر لانگرهانس و سلولهای بتای پانکراس موشهای صحرایی گروه دیابت مداخله را نشان می‌دهد. همانطور که در شکل مشخص است در پانکراس گروه دیابت مداخله ساختمان کلی جزایر کاملاً حفظ شده است. اندازه سلولهای بتا کاهش ولی شبکه اندوپلاسمی خشن افزایش یافته است. سلولهای بتا از نظر شکل هسته، طرح کروماتین و



سمت راست: موز بین بخش برون ریز جزایر (بالای تصویر) و بخش درون ریز پایین تصویر با فلش مشخص شده است
(بزرگنمایی ۶۸۰۰)

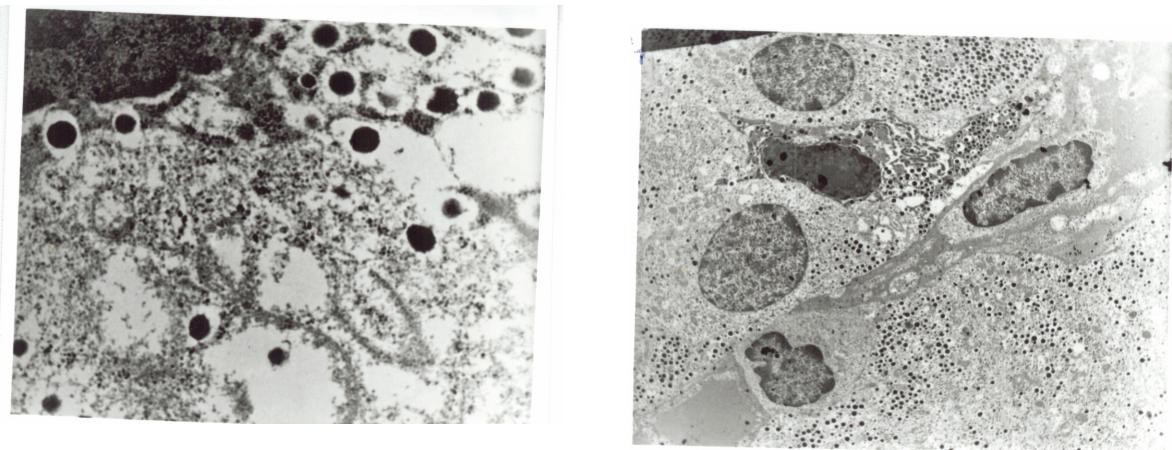
سمت چپ: سلولهای بتای جزایر (بزرگنمایی ۶۳۰۰)



سمت راست: سیتوپلاسم سلول بتا با توزیع یکنواخت گرانول های ترشحی در سیتوپلاسم (بزرگنمایی ۲۹۰۰۰)

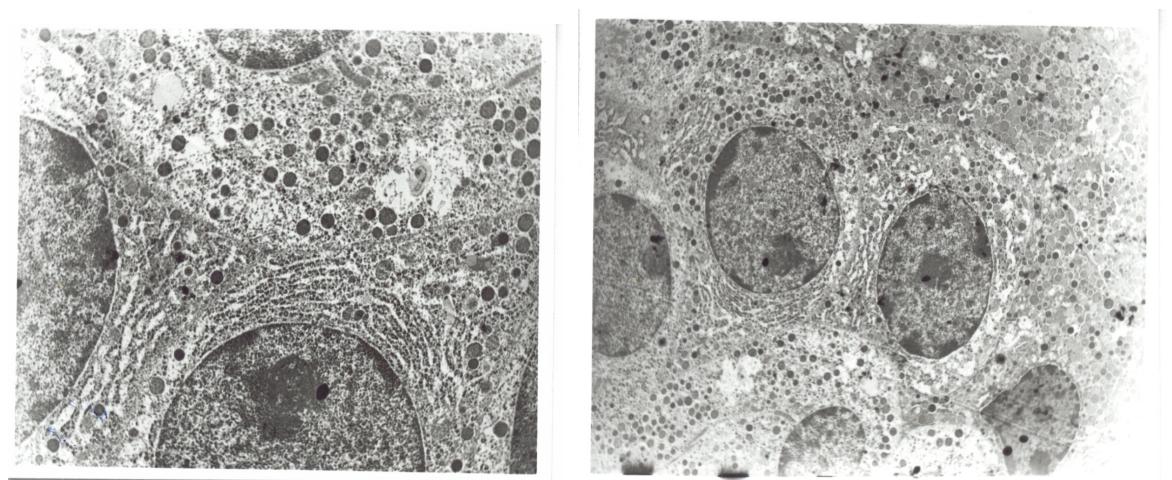
سمت چپ: گرانول های بالغ در وسط و نابالغ در بالای تصویر با فلش مشخص شده است (بزرگنمایی ۳۸۰۰۰)

شکل ۱: برش نیمه نازک سلولهای بتای جزایر پانکراسی موشهای صحرایی نرمال کنترل



سمت راست: سلولهای مرده با هسته پیکنوز و نیز انفیلتراسیون لنفوسیتی با فلاش نشان داده شده است (بزرگنمایی ۳۰۰۰)
سمت چپ: واکنشهای شدن سیتوپلاسم، کاهش گرانولها و افزایش فضای اطراف گرانولها مشخص است (بزرگنمایی ۳۸۰۰)

شکل ۲): برش نیمه نازک سلولهای بتای جزایر پانکراسی موشهای صحرایی دیابت کنترل



سمت راست: سلولهای با توزیع یکنواخت کروماتین و نیز عدم انفیلتراسیون لنفوسیتی در جزایر (بزرگنمایی ۶۳۰۰)
سمت چپ: افزایش گرانولهای سیتوپلاسمی و شبکه اندوپلاسمی در سیتوپلاسم سلول‌ها مشخص است (بزرگنمایی ۱۰۵۰۰)

شکل ۳): برش نیمه نازک سلولهای بتای جزایر پانکراسی موشهای صحرایی دیابت معالجه شده

توجه به نقش پروتئین کینازها در بقا و ترانسفورماسیون سلولی و از آنجایی که نمک‌های وانادیم تعادل بین سیستم کینازی و فسفاتازی را به نفع پروتئین کینازها به هم می‌زنند ممکن است در تنظیم فعالیت‌های سلولی از جمله تکثیر و تمایز و ترانسفورماسیون نقش داشته باشند (۴۷-۴۹). بنابراین القای نتوژن از سلولهای بتای تمایز نیافته و یا تبدیل شدن دیگر سلولهای غیر بتای پانکراسی تمایز یافته نظری سلولهای آسینوسی و یا سلولهای مجاری، از طریق ابراز ژن‌ها و فاکتورهای رونویسی مؤثر، توسط وانادیم را نیز می‌توان به عنوان مکانیسم یا مکانیسم‌های احتمالی بهبود دیابت در اثر معالجه با وانادیم در نظر گرفت.

دیابت نوع یک، بیماری خود ایمن مزمن است. انفیلترازیون لفوستی به داخل جزایر پانکراس بنام التهاب انسولینی در نوع یک دیابت انسانی و مدل حیوانی آن، یافتن آنتی بادیها در گردش خون بر ضد پروتئینهای شناخته شده جزایر و ارتباط احتمال بروز نوع یک دیابت با مشخصه‌های ژنتیک بویژه آنتی ژنهای اصلی کمپلکس سازگاری نسج بافتی انسان همگی دال بر نقش سیستم ایمنی در این بیماری است (۵۰). خود پادتن‌ها سال‌ها قبل از شروع کلینیکی بیماری دیابت ظاهر شده و اجازه پیش‌بینی دقیق بیماری را می‌دهند (۵۱). از هنگام شروع تخریب سیستم ایمنی تا ظهور علامت دیابت نوع یک، زمان نسبتاً طولانی و فرصت خوبی برای مداخله وجود دارد. عالیم دیابت نوع یک معمولاً زمانی ظاهر می‌شود که اغلب سلولهای بتا توسط سیستم ایمنی تخریب شده‌اند (۵۲ و ۵۳). مکانیسم دقیق تخریب سلولهای بتا که به دیابت نوع یک متوجه می‌شود کاملاً مشخص نیست. ملکولهای مختلفی در تخریب سلولهای بتا در دیابت نوع یک از جمله لیگاند فاس،

اگرچه در دیابت شدید ایجاد شده با دوز بالای استرپتوزوتوسین معالجه با وانادیل سولفات سبب بهبود طولانی مدت عالیم دیابت نمی‌شود ولی دوز انسولین تزریقی مورد نیاز برای برگشت قدر پلاسمما به محدوده نرمال را در مقایسه با موش‌های دیابت کنترل به مقدار زیاد کاهش می‌دهد (۳۷). این یافته‌ها بیانگر این موضوع است که در دیابت شدید به دلیل تخریب وسیع سلولهای جزایر و رژنرازیون ناکافی سلولهای بتا وانادیل قادر به تصحیح پایدار نشانه‌های دیابت نظری قند خون و آب مصرفی نبوده و بهبود عالیم دیابت صرفاً از طریق اثرات تقلید‌کننده و یا تشیدی‌کننده انسولینی وانادیل سولفات و با حضور آن اتفاق می‌افتد. به نظر می‌رسد که شدت دیابت ایجاد شده قبل از شروع معالجه، دوز وانادیم و زمان شروع معالجه در شیوه پاسخ‌دهی حیوان دیابتی به معالجه توسط وانادیم مهم هستند.

افزایش مزمن قند پلاسمما از طریق تحریک طولانی مدت سلولهای بتای پانکراس منجر به تخریب این سلولها می‌شود و دیابت شدید و مزمن سیستم بازسازی جبرانی را در پانکراس از طریق کاهش فاکتورهای مؤثر در تکامل و تمایز سلولهای بتا مهار می‌کند. وانادیم ممکن است از طریق تصحیح سطح پلاسمایی گلوکز و لیپید پلاسماء، تقلید اثرات انسولین و کاهش فعالیت ترشحی و متابولیک سلولهای بتای پانکراس سبب محافظت آن بخش از سلولهای بتا شود که در اثر استرپتوزوتوسین دچار آزار سلولی شده‌اند.

پوشیدن مجاری پانکراسی توسط سلفاین و یا ابراز بعضی از ژنهای در سلولهای آسینوسی و یا مجاری پانکراسی منجر به تولید سلولهای بتا می‌شود و نتوژنیس و همانند سازی سلولی در پانکراس جوندگان در چهار الی پنج هفته اول بعد از تولد اتفاق می‌افتد (۳۸-۴۶). با

نتیجه‌گیری

نظر به اثرات شبه انسولینی و نیز اثر حفاظتی و اندیم بر سلولهای بتای پانکراس، ترکیبات و اندیم به عنوان یک کاندید بالقوه در معالجه هر دو نوع دیابت در انسان مطرح هستند. عوارض جانبی این ترکیبات و نیز عدم شواهد کلینیکی کافی در انسان از محدودیتهای استفاده از ترکیبات و اندیم به عنوان یک استراتژی در معالجه جامع دیابت در انسان است (۵۸-۶۰). مطالعات بیشتری به منظور پی بردن به مکانیسم عملکرد و اندیل از نظر اثر حفاظتی آن بر سلولهای بتای پانکراس و نقش طولانی مدت آن در بهبود دیابت پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله بدینوسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از تمام کسانی که در این مطالعه ما را یاری نمودند ابراز می‌دارند.

سیتوکاینها و واسطه گرهای سیتوکاینی نقش دارند و بنظر می‌رسد که بیش از یک مسیر در التهاب و مرگ سلولهای بتا و ایجاد دیابت نوع یک نقش داشته باشد (۵۴). عدم مشاهده واکنش‌های التهابی و انفلتراسیون لنفوسيتی در بین سلولهای جزایر پانکراس مشاهد معالجه شده در مقایسه با گروه دیابت کنترل در این مطالعه، پیشگیری از التهاب جزایر را به عنوان مکانیسم احتمالی دیگر در بهبود علایم دیابت تجربی ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین مطرح می‌سازد.

مداخلات فارماکولوژیکی که منجر به حفظ توده سلولهای بتا در شروع دیابت نوع یک، شوند می‌توانند سبب بهبود طولانی مدت دیابت گردد (۵۵). با توجه به نتایج این مطالعه و دیگر مطالعات، بنظر می‌رسد که و اندیل سولفات قادر به حفظ توده سلولهای بتا در مدل دیابت نوع یک بوده و قادر به بهبود طولانی مدت دیابت است. بنظر می‌رسد دامنه عملکرد ترکیبات و اندیم در بهبود علایم دیابت تجربی ایجاد شده توسط استرپتوزوتوسین وسیع بوده و از اثرات شبه انسولینی و تقویت یا تقلید اثر یا اثرات انسولین تا اثرات حفاظتی، از طریق کاهش قند خون و اثر سمی آن، رژنراتیو، تروفیک و ضد التهابی بر روی سلولهای بتای پانکراس را در بر می‌گیرد. این ترکیبات می‌توانند به عنوان یک عامل حفاظتی در افراد بالقوه در معرض خطر، نظیر دو قلوهای یکسان که میزان همبستگی بالایی در ارتباط با بروز بیماری دارند و بر اساس اطلاعات ژنتیکی قابل غربال هستند و یا از طریق اندازه‌گیری خود پادتها در سرم در مراحلهای که سلولهای بتای پانکراس توسط سیستم ایمنی در حال تخریب تدریجی بوده ولی هنوز علایم دیابت دیده نمی‌شود مورد استفاده قرار گیرند (۵۶ و ۵۷).

References

1. Zimmet P, Alberti K.G, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 2001; 414: 782-787.
2. Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. *Diabetes Care* 2004; 27: 1047-5.
3. Tsai S, Shameli A, Santamaria P. CD8+ T cells in type 1 diabetes. *Adv Immunol* 2008; 100: 79-124.
4. Yoon JW, Jun HS. Cellular and molecular roles of beta cell auto antigens, macrophages and T cells in the pathogenesis of autoimmune diabetes. *Arch Pharm Res* 1999; 22: 437-47.
5. Sjöholm A. Diabetes mellitus and impaired pancreatic beta-cell proliferation. *J Intern* 1996; 239: 211-20.
6. Meece J. Pancreatic islet dysfunction in type 2 diabetes: a rational target for incretin-based therapies. *Curr Med Res Opin* 2007; 23: 933-44.
7. Prentki M, Nolan CJ. Islet β cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest* 2006; 116: 1802-12.
8. Cam MC, Rodrigues B, McNeill JH. Distinct glucose lowering and beta cell protective effects of vanadium and food restriction in streptozotocin-diabetes. *Eur J Endocrinol* 1999; 141: 546-54,
9. García-Vicente S, Yraola F, Martí L, Gonzalez-Munoz E, Gavcia-Barrado MJ, Canto C, et al. Oral insulin-mimetic compounds that act independently of insulin. *Diabetes* 2007; 56: 486-93.
10. Crans DC. Chemistry and insulin-like properties of vanadium (IV) and vanadium (V) compounds. *J Inorg Biochem* 2000; 80: 123-31.
11. Badmaev V, Prakash S, Majeed M. Vanadium: A review of its potential role in the fight against diabetes. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine* 1999; 5: 273-91.
12. Thompson KH, Licher J, Lebel C, Scaife MC, McNeill JH, Orvíg C. Vanadium treatment of type 2 diabetes: A view to the future. *J Inorg Biochem* 2009; 103:554-8.
13. Thompson KH, Orvíg C. Vanadium in diabetes: 100 years from Phase 0 to Phase I. *J Inorg Biochem* 2006; 100: 1925-35.
14. Setyawati IA, Thompson KH, Yuen VG, Sun Y, Battell M, Lyster DM, et al. Kinetic analysis and comparison of uptake, distribution, and excretion of 48V-labeled compounds in rats. *J Appl Physiol* 1998; 84: 569-75.
15. Yasui H, Takechi K, Sakurai H. Metallokinetic analysis of disposition of vanadyl complexes as insulin-mimetics in rats using BCM-ESR method. *J Inorg Biochem* 2000; 78: 185-96.
16. Ramanadham S, Heyliger C, Gresser MJ, Tracey AS, McNeill JH. The distribution and half-life for retention of vanadium in the organs of normal and diabetic rats orally fed vanadium (IV) and vanadium (V). *Biol Trace Elem Res* 1991; 30: 119-24.
17. Meyerovitch, J, Farfel Z, Sack J, and Shechter Y. Oral administration of vanadate normalized blood glucose levels in streptozotocin-treated rats: characterization and mode of action. *J Biol Chem* 1987; 262: 6658-6662.
18. Sakurai H, Sano H, Takino T, Yasui H. An orally active antidiabetic vanadyl complex, bis(1-oxy-2-pyridinethiolato) oxovanadium (IV), with VO (S_2O_2) coordination mode; in vitro and in vivo evaluations in rats. *J Inorg Biochem* 2000; 80: 99-105.
19. Willsky GR, Goldfine AB, Kostyniak PJ, McNeill JH, Yang LQ, Khan HR, Crans DC. Effect of vanadium (IV) compounds in the treatment of diabetes: in vivo and in vitro studies with vanadyl sulfate and bis (maltolato) oxovanadium (IV). *J Inorg Biochem* 2001; 85: 33-42.
20. Hiromura M, Nakayama A, Adachi Y, Doi M, Sakurai H. Action mechanism of bis (allixinato) oxovanadium (IV) as a novel potent insulin-mimetic complex: regulation of GLUT4 translocation and FoxO1 transcription factor. *J Biol Inorg Chem* 2007; 12: 1275-87.
21. Zorzano A, Palacín M, Martí L, García-Vicente S. Arylalkylamine vanadium salts as new anti-diabetic compounds. *J Inorg Biochem* 2009; 103: 559-66.
22. Karmaker S, Saha TK, Yoshikawa Y, Yasui H, Sakurai H. A novel drug delivery system for type 1 diabetes: insulin-mimetic vanadyl-poly (gamma-glutamic acid) complex. *J Inorg Biochem* 2006; 100: 1535-46.

23. Goldfine AB, Patti ME, Zuberi L, Goldstein BJ, LeBlanc R, Landaker EJ, et al. Metabolic effects of vanadyl sulfate in humans with non-insulin-dependent diabetes mellitus: in vivo and in vitro studies. *Metabolism* 2000; 49: 400-10.
24. Cusi K, Cukier S, DeFronzo RA, Torres M, Puchulu FM, Redondo JC. Vanadyl sulfate improves hepatic and muscle insulin sensitivity in type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 1410-7.
25. Wang J, Yuen VG, McNeill JH. Effect of vanadium on insulin and leptin in Zucker diabetic fatty rats. *Mol Cell Biochem* 2001; 218: 93-6.
26. Wei D, Li M, Ding W. Effect of vanadate on gene expression of the insulin signaling pathway in skeletal muscle of streptozotocin-induced diabetic rats. *J Biol Inorg Chem* 2007; 12: 1265-73.
27. Yamazaki RK, Hirabara SM, Tchaikovski OJ, Lopes MC, Nogata C, Aikawa J, et al. The effects of peroxovanadate and peroxovanadyl on glucose metabolism in vivo and identification of signal transduction proteins involved in the mechanism of action in isolated soleus muscle. *Mol Cell Biochem* 2005; 273: 145-50.
28. Srivastava AK, Mehdi MZ. Insulino-mimetic and anti-diabetic effects of: vanadium compounds. *Diabet Med* 2005; 22: 2-13.
29. Brichard SM, Bailey CJ, Henquin JC. Marked improvement of glucose homeostasis in diabetic ob/ob mice given oral vanadate. *Diabetes* 1990; 39: 1326-32.
30. Cam MC, Pederson RA, Brownsey RW, McNeill JH. Long-term effectiveness of oral vanadyl sulphate in streptozotocin diabetic rats. *Diabetologia* 1993; 36: 218-24.
31. Cam MC, Li WM, McNeill JH. Partial preservation of pancreatic beta cells by vanadium: evidence for long-term amelioration of diabetes. *Metabolism* 1997; 46: 769-78.
32. Cros GH, Cam MC, Serrano JJ, Ribes G, McNeill JH. Long-term antidiabetic activity of vanadyl after treatment withdrawal: Restoration of insulin secretion. *Mol Cell Biochem* 1995; 153: 191-5.
33. Lacy PE, Kostianovsky M. Method for the isolation of intact islets of Langerhans from the rat pancreas. *Diabetes* 1967; 16: 35-9.
34. Sacchi TB, Bani D. New Views on the Identification of the Various Cell Types in the Pancreatic Islets of the Rat. *Acta Anatomica* 1985; 122: 1-17.
35. Dehghani GA, Sotoodeh M, Omrani GR. Trophic effects of vanadium on beta-cells of STZ-induced insulin dependent diabetic rats & evidence for long-term relief of diabetes mellitus. *Indian J Med Res* 1999; 110: 70-5.
36. Ahmadi, S. Karimian, S.M. Sotoudeh, M. Bahadori, M. Histological and immunohistochemical study of pancreatic islet beta cells of diabetic rats treated with oral vanadyl sulphate. *MJIRI* 2002; 16; 173-178.
37. Dehghani GA, Ahmadi S, Omrani GR. Effects of vanadyl sulphate on glucose homeostasis in severe diabetes induced by streptozotocin in rats. *Indian J Med Res* 1997 Nov 106: 481-5.
38. Bonner-Weir S, Baxter LA, Schuppin GT, Smith FE. A second pathway for regeneration of adult exocrine and endocrine pancreas. A possible recapitulation of embryonic development. *Diabetes* 1993; 42: 1715-20.
39. Yamamoto K, Miyagawa J, Waguri M, Sasada R, Igarashi K, Li M, et al. Recombinant human betacellulin promotes the neogenesis of beta-cells and ameliorates glucose intolerance in mice with diabetes induced by selective alloxan perfusion. *Diabetes* 2000; 49: 2021-7.
40. Sharma A, Zangen DH, Reitz P, Taneja M, Lissauer ME, Miller CP, et al. The homeodomain protein IDX-1 increases after an early burst of proliferation during pancreatic regeneration. *Diabetes* 1999; 48: 507-13.
41. Bertelli E, Bendayan M. Intermediate endocrine-acinar pancreatic cells in duct ligation conditions. *Am J Physiol* 1997; 273: C1641-9.
42. Wang RN, Bouwens L, Klöppel G. Beta-cell proliferation in normal and streptozotocin-treated newborn rats: site, dynamics and capacity. *Diabetologia* 1994; 37: 1088-96.
43. Rosenberg L, Rafaeloff R, Clas D, Kakugawa Y, Pittenger G, Vinik AI, et al. Induction of islet cell differentiation and new islet formation in the hamster--further support for a ductular origin. *Pancreas* 1996; 13: 38-46.

44. Rosenberg L, Vinik AI, Pittenger GL, Rafaeloff R, Duguid WP. Islet-cell regeneration in the diabetic hamster pancreas with restoration of normoglycaemia can be induced by a local growth factor(s). *Diabetologia* 1996; 39: 256-62.
45. Portha B, Levacher C, Picon L, Rosselin G: Diabetogenic effect of streptozotocin in the rat during the perinatal period. *Diabetes* 1974; 23: 889-95.
46. Portha B, Blondel O, Serradas P, McEvoy R, Giroix MH, Kergoat M, et al. The rat models of non-insulin dependent diabetes induced by neonatal streptozotocin. *Diabet Metab* 1989;15: 61-75.
47. Lau KH, Baylink DJ. Phosphotyrosyl protein phosphatases: potential regulators of cell proliferation and differentiation. *Crit Rev Oncog* 1993; 4: 451-71.
48. Ramaswamy S, Nakamura N, Vazquez F, Batt DB, Perera S, Roberts TM, Sellers WR. Regulation of G1 progression by the PTEN tumor suppressor protein is linked to inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1999; 96: 2110-5.
49. Bhuiyan MS, Shioda N, Fukunaga K.Targeting protein kinase B/Akt signaling with vanadium compounds for cardioprotection. *Expert Opin Ther Targets* 2008; 12: 1217-27.
50. Taplin CE, Barker JM. Autoantibodies in type 1 diabetes. *Autoimmunity* 2008; 41: 11-8.
51. Pozzilli P, Manfrini S, Monetini L. Biochemical markers of type 1 diabetes: clinical use. *Scand J Clin Lab Invest Suppl* 2001; 235: 38-44.
52. Pozzilli P, Di Mario U, Autoimmune diabetes not requiring insulin at diagnosis (latent autoimmune diabetes of the adult): definition, characterization, and potential prevention. *Diabetes Care* 2001; 24: 1460-7.
53. Zhang L, Gianani R, Nakayama M, Liu E, Kobayashi M, Baschal E, et al. Novartis Found Symp. Type 1 diabetes: chronic progressive autoimmune disease. 2008; 292: 85-94.
54. Kawasaki E, Abiru N, Eguchi K. Prevention of type 1 diabetes: from the view point of beta cell damage. *Diabetes Res Clin Pract* 2004; 66: S27-32.
55. Elliott JF. New approaches to preventing and treating Type 1 Diabetes: Discovering a method to preserve beta cell mass after diagnosis should remain a key research focus. *Can J Diabetes Care* 1998; 22: S24-30.
56. Wasserfall CH, Atkinson MA. Autoantibody markers for the diagnosis and prediction of type 1 diabetes. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 424-8.
57. Kulmala P. Prediabetes in children: natural history, diagnosis, and preventive strategies. *Paediatr Drugs* 2003; 5: 211-21.
58. Smith DM, Pickering RM, Lewith GT. A systematic review of vanadium oral supplements for glycaemic control in type 2 diabetes mellitus. *QJM* 2008; 101: 351-8.
59. Scior T, Guevara-García A, Bernard P, Do QT, Domeyer D, Laufer S. Are vanadium compounds drugable? Structures and effects of antidiabetic vanadium compounds: a critical review. *Mini Rev Med Chem* 2005; 5: 995-1008.
60. Domingo JL, Gómez M, Llobet JM, Corbella J, Keen CL.Improvement of glucose homeostasis by oral vanadyl or vanadate treatment in diabetic rats is accompanied by negative side effects. *Pharmacol Toxicol* 1991; 68: 249-53.