Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

مقاله پژوهشی
مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان
دوره ۱۳، آبان ۱۳۹۳، ۶۸۲-۶۶۹

اثر عصاره هیدرو الکلی آلوئه‌ورا برقند خون، انسولین سرمی و آنزیم های کلیدی مسیرهای متابولیسمی گلیکولیز و گلوکونئوژنز در سلول‌های کبدی موش‌های صحرایی دیابتی نوع ۱

مهدی چهاردولی[۱]، مهدی محمودی[۲]، محمدرضا حاجی‌زاده[۳]، حسین خرم‌دل‌آزاد [۴]، علیرضا خوشدل[۳]، محمدرضا میرزایی[۵]

دریافت مقاله: ۹۳/۳/۲۶ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۹۳/۵/۴ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۹۳/۶/۱۳ پذیرش مقاله: ۹۳/۶/۳۰

چکیده

زمینه و هدف: اخیراً توجه زیادی به نقش عوامل کاهش دهنده قند خون به ویژه مشتقات گیاهان دارویی در درمان دیابت ملیتوس شده است. آلوئه‌ورا حاوی ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی با ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی بالا بوده که منجر به کاهش عوارض این بیماری می‌شود. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات عصاره هیدرو الکلی آلوئه‌ورا بر سطح سرمی هورمون انسولین و آنزیم‌های کلیدی مسیرهای متابولیسمی گلیکولیز و گلوکونئوژنز در موش‌های صحرایی ویستار دیابتی شده با استرپتوزوتوسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: تعداد ۵۰ سر موش صحرایی (با وزن اولیه ۱۰±۲۲۰ گرم) به پنج گروه ده‌تایی تقسیم شدند. بعد از دو ماه تیمار با عصاره آلوئه‌ورا، موش‌ها کشته شده و پس از خون‌گیری، میزان قند خون و انسولین سرمی اندازه‌گیری شد. همچنین، بافت کبد موش‌ها نیز جدا شده و پس از استخراج mRNA، میزان بیان ژن آنزیم‌های گلوکوکیناز و فسفو انول پیروات کربوکسی کیناز به روش Real time PCR اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: نتایج مطالعه نشان داد مصرف عصاره آلوئه‌ورا با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم سبب افزایش ترشح انسولین ($p<۰/۰۵$)، کاهش قند خون ($p<۰/۰۰۱$)، افزایش میزان بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز ($p<۰/۰۵$) و کاهش میزان بیان ژن آنزیم فسفو انول پیروات کربوکسی کیناز ($p<۰/۰۵$) در موش‌های دیابتی می‌گردد.

نتیجه‌گیری: عصاره هیدروالکلی آلوئه‌ورا با تأثیر بر روی ترشح انسولین و متعاقباً تأثیر بر بیان ژن آنزیم های کلیدی مسیر گلیکولیز و گلوکونئوژنز می‌تواند در بهبود شرایط دیابتی موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های کلیدی مسیر گلیکولیز و گلوکونئوژنز، استرپتوزوتوسین، آلوئه‌ورا، موش صحرایی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۲- (نویسنده مسئول) استاد بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی و گروه بیوشیمی بالینی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
تلفن: ۰۳۴-۳۴۳۳۹۶۶۰، دورنگار: ۰۳۴-۳۴۳۳۹۶۶۰ پست الکترونیکی:Mahmoodies@yahoo.com
۳- استادیار بیوشیمی بالینی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی و گروه بیوشیمی بالینی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۴- کارشناسی ارشد ایمنولوژی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران
۵- استادیار ژنتیک مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی و گروه ژنتیک- فیزیک پزشکی دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان، رفسنجان، ایران

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

مقدمه

بیماری دیابت شیرین یک بیماری شایع در دنیا است که با افزایش گلوکز خون، اختلال در متابولیسم کربوهیدرات و لیپید همراه می‌باشد. تخمین زده می‌شود تعداد افراد دیابتی در دنیا از ۱۷ میلیون در سال ۲۰۰۰، به ۳۶۶ میلیون در سال ۲۰۳۰ برسد [۱] .امروزه جهت درمان دیابت، داروهای شیمیایی متعددی مورد استفاده قرار می‌گیرند. با این که داروهای شیمیایی اثرات مفید بسیاری دارند، در حال حاضر استفاده از داروهای گیاهی و طبیعی به جای داروهای شیمیایی اهمیت بسزایی یافته است. گیاهان دارویی دارای ترکیبات شیمیایی بیشماری هستند، این ترکیبات با مقادیر متعادلی که دارند دارای عوارض و زیان نخواهند بود زیرا خواص یکدیگر را تعدیل می‌کنند و بعضی از ترکیبات دقیقاً وظیفه خنثی کردن عوارض دیگر ترکیبات را دارند [۲].

محل ترشح انسولین سلول‌های بتای پانکراس است. در دیابت نوع یک سلول‌های بتای پانکراس دچار تخریب‌شده و متعاقب آن تولید انسولین کاهش می‌یابد. به دلیل این که اندام‌های اصلی بدن برای مصرف سوخت خود که عمدتاً گلوکز می‌باشد به هورمون انسولین نیاز دارند، این کاهش منجر به کاهش مصرف گلوکز توسط اندام‌ها و افزایش قند خون و گلوکونئوژنز می‌شود. کاهش تولید انسولین مهمترین مشخصه‌ی بیماری دیابت می‌باشد. انسولین با اثر تحریکی بر آنزیم کلیدی مسیر گلیکولیز، یعنی گلوکوکیناز و مکانیسم کنترل منفی بر مسیر گلوکونئوژنز و آنزیم کلیدی آن فسفو انول پیروات کربوکسی‌کیناز، باعث افزایش گلیکولیز و مهار گلوکونئوژنز در بافت‌ها و کاهش قند خون می‌شود [۱].

صبر زرد یا آلوئه‌ورا متعلق به خانواده لیلی آسهآ است که در حدود ۳۶۰ گونه دارد. این گیاه برگ‌های سبز مایل به خاکستری به شکل نیزه دارد که حاوی ژل روشن در یک بافت لعاب‌دار مرکزی است [۳]. هزاران سال است که برگ‌های گیاه صبر زرد به طور گسترده‌ای در کشورهای مختلف به عنوان دارو مصرف می‌شوند [۴]. صبر زرد دارای خواص بسیار زیادی می‌باشد، برخی از این خواص شامل بهبود زخم [۵]، خواص ضد التهابی [۶]، خواص ضد سرطانی [۷]، خواص ضد دیابتی [۸] و خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد [۹]. این گیاه سرشار از آنزیم‌های اکسیداز، کاتالاز و ویتامین‌های E و C است و مقاومت بدن را در مقابل رادیکال‌های آزاد تقویت می‌کند و به همین دلیل اثر ضد سمی دارد [۱۰]. سه آنترانوئید باربالوئین، ایزوباربالوئین و آلوئه‌نین از صبر زرد جدا شده که دوآنترانوئید اول خاصیت مسهلی دارند [۱۱]. باربالوئین، سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس را از آسیب ایجاد شده توسط رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند [۱]. در مدل‌های حیوانی از صبر زرد برای درمان دیابت، التیام زخم، تومور، بیماری التهابی روده به صورت تزریقی و خوراکی استفاده شده است [۱۲].

کبد اندام اصلی هموستاز گلوکز بدن محسوب می‌شود. سلول‌های کبدی از طریق برداشت گلوکز خون، اثر روی مسیرهای گلیکولیز، گلوکونئوژنز و پنتوز فسفات در تنظیم گلوکز خون دخیل می‌باشند. در مسیرگلیکولیز آنزیم گلوکوکیناز و در مسیر گلوکونئوژنز، آنزیم فسفو انول

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

پیروات کربوکسی‌کیناز نقش کلیدی دارند و کاهش یا افزایش فعالیت آنها تأثیر چشمگیری بر تنظیم گلوکز خون دارد [۱۳]. استرپتوزوتوسین پس از جذب توسط سلول‌های بتای پانکراس با ایجاد تغییر در مولکول DNA و تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن، سبب تخریب این سلول‌ها، اختلال در تولید انسولین، افزایش گلوکز خون و ایجاد دیابت نوع ۱ می‌شود [۱۲]. مواد دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی با ایجاد پایداری در کمپلکس نسخه‌برداری ژن فاکتور بازتولید سلول‌های بتای پانکراس، سبب بازتولید و حفاظت این سلول‌ها در برابر آسیب‌های مسمومیت سلولی استرپتوزوتوسین می‌شوند [۱۱]. عصاره گیاهان دارویی به علت داشتن ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی متعدد دارای خواص آنتی‌اکسیدانی بوده و قادر به رفع عوارض ناشی از استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی می‌باشند.

گیاه آلوئه‌ورا نیز قرن‌هاست که به خاطر اثرات ضد التهابی، ضدمیکروبی، التیام زخم، تحریک‌کننده سیستم ایمنی و ضد توموری آن استفاده می‌شود. در سال‌های اخیر گزارش‌هایی مبنی بر اثرات ضد دیابتی این گیاه منتشر شده است که بیانگر اثرات مفید آن در کاهش گلوکز خون و بهبود ترشح انسولین می‌باشد. با این وجود گزارش‌های متناقضی در رابطه با اثرات هایپوگلایسمیک گونه‌های آلوئه‌ورا وجود دارد که احتمالاً به تفاوت در بخش‌های مورد استفاده گیاه و نوع دیابت افراد مرتبط است [۸]. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر عصاره هیدرو الکلی آلوئه‌ورا بر میزان ترشح هورمون انسولین و به تبع آن کاهش قند خون و تأثیر آن بر افزایش بیان ژن آنزیم‌های کلیدی مسیر گلیکولیز و کاهش بیان ژن آنزیم کلیدی مسیر گلوکونئوژنز است. در این مطالعه که در گروه بیوشیمی بالینی دانشکده علوم پزشکی رفسنجان در پاییز و زمستان ۱۳۹۲ انجام‌شده است، با ارزیابی میزان بیان ژن آنزیم‌های گلوکوکیناز و فسفوانول پیروات کربو-کسی‌کیناز در بافت کبد موش‌های دیابتی که به مدت ۶۰ روز عصاره هیدرو الکلی آلوئه‌ورا با غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم دریافت داشته‌اند، تلاش شده است تا بتوانیم راهکار دیگری در مورد خاصیت هایپوگلیسمیک این عصاره ارائه کنیم.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه که به روش تجربی- مداخله‌ای انجام شد، تعداد ۵۰ سر موش صحرایی نژاد ویستار نر با متوسط وزن ۱۰±۲۲۰ گرم استفاده گردید. درجه حرارت اتاق نگهداری در دامنه ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت در حدود ۶۰٪ حفظ گردید. پس از سپری شدن دوره سازگاری، حیوانات به ۵ گروه ده‌تایی تقسیم و تیمارها به طور تصادفی به آنها اختصاص داده شد. در طول دوره شصت روزه آزمایش، حیوانات با جیره‌های تجاری مخصوص پلت شده کارخانه‌ای تغذیه شدند.

برای تهیه عصاره هیدرو الکلی صبر زرد به صورت زیر عمل شد: برگ‌های تازه گیاه صبر زرد را از فروشگاه گیاهان دارویی واقع در رفسنجان تهیه و پس از تأیید توسط کارشناس گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه ولیعصر رفسنجان با آب شسته و ژل آن را خارج کردیم. ژل را هموژنیزه کرده و در اتانول ۹۵٪ به ۴ برابر حجم

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

(سه حجم اتانول یک حجم آب) رساندیم. ظرف حاوی ژل صبر زرد و الکل را به مدت ۴ روز روی شیکر قرار دادیم. عصاره توسط فیلتر صاف و با استفاده از دستگاه تغلیظ در خلاء در دمای ۴۵ درجه غلیظ شد. عصاره را در دمای ۴۰ درجه کاملاً خشک کرده و به صورت پودر درآوردیم [۱۴].

موش‌های صحرایی انتخاب‌شده را با تزریق استرپتوزوتوسین با دوز ۵۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت زیر جلدی دیابتی نموده سپس با بررسی علایم حیوانات از جمله پر خوری، پر نوشی، تکرر ادرار و نیز تست گلوکز خون، ایجاد دیابت را اثبات نمودیم. قند خون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان دیابتی در نظر گرفته شد [۱]. حیوانات بعد از مبتلا شدن به دیابت نوع ۱ که با اندازه‌گیری قند خون از رگ دم آنها به وسیله گلوکومتر مشخص شدند، به پنج گروه ده‌تایی ذکرشده در ادامه تقسیم‌بندی شدند: گروه کنترل نرمال که تزریق استرپتوزوتوسین به آنها صورت نگرفت و به جای عصاره آلوئه‌ورا، آب دریافت کردند، گروه دیابتی که به جای عصاره آلوئه‌ورا، آب دریافت کردند، گروه دیابتی که غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آلوئه‌ورا دریافت کردند، گروه دیابتی که غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آلوئه‌ورا دریافت کردند و گروه دیابتی که غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره‌آلوئه‌ورا دریافت کردند. عصاره آلوئه‌ورا با عمل گاواژ به حیوانات خورانده شد. مدت دریافت عصاره دو ماه بود که بعد از گذشت این مدت موش‌های صحرایی تحت بی‌هوشی کامل کشته‌شده و نمونه خون آنها از قلب جمع‌آوری شده و سپس بافت کبد حیوان جدا و در ۱۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایشات مولکولی و جداسازی DNA نگهداری شدند. جهت بررسی میزان بیان ژن آنزیم‌های کبدی مهم مسیر گلیکولیز و مسیر گلوکونئوژنز که شامل گلوکوکیناز و فسفو انول پیروات کربوکسی کیناز می‌باشند از روش Real-Time PCR استفاده شد، به گونه‌ای که ابتدا با استفاده از محلول RNX (ساخت شرکت سیناژن، ایران) اقدام به استخراج تمامی RNAهای موجود در بافت کبدی مورد نظرکرده و در ادامه با استفاده از پرایمرهای oligo-dT و تیوب‌های لیوفلیزه اقدام به تولید cDNA از ژن‌های مذکور نمودیم. لازم به ذکر است که جهت نرمالایز کردن اندازه‌گیری این ژن‌ها از ژن‌های بتا اکتین و به عنوان ژن کنترل استفاده شد [۱۵].

بعد از خون‌گیری سرم نمونه‌ها با سانتریفیوژ جدا و در ۱۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد و پس از تکمیل طرح و نمونه‌گیری تحویل آزمایشگاه پاتولوژی دانشکده پزشکی رفسنجان گردیده و قند خون سرمی با دستگاه BT-3000 ساخت ایتالیا شرکت Farasamed اندازه‌گیری شد و هورمون انسولین با کمک کیت‌های روش الایزا (ELISA) ساخت کشور سوئد و با روش توربیدومتری اندازه‌گیری گردید [۱۶].

داده‌ها پس از جمع‌آوری و کدگذاری وارد نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ گردید و با بهره‌گیری از آزمون ANOVA و تست TUKEY مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. مقدار p مساوی یا کمتراز ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. همچنین از نرم‌افزار EXCEL جهت تهیه نمودارهای مورد نیاز استفاده شد. میزان بیان نسبی ژن آنزیم گلوکوکیناز و ژن آنزیم

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل با هم مقایسه و با بهره‌گیری از آزمون ANOVA و تست TUKEY مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

گروه‌های مختلف مورد مطالعه با Mean±SEM بیان شدند و از نظر میزان معنی‌داری در هر گروه مورد مقایسه قرار گرفتند. متغیرها شامل میزان بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز، میزان انسولین سرمی، میزان گلوکز سرمی و میزان بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز بودند (جدول ۱).

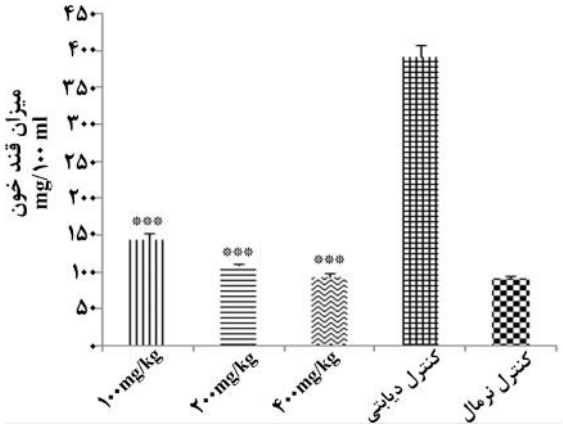
جدول ۱ – مقایسه متغیرهای مورد مطالعه بر حسب Mean±SEM و میزان معنی‌داری در آنها

گروه / شاخص	فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز (Fold) (Mean ± SEM)	انسولین (میکروواحد بر میلی‌لیتر) (Mean ± SEM)	قند خون (mg/100 ml) (Mean ± SEM)	گلوکوکیناز (Fold) (Mean ± SEM)
کنترل نرمال	۱±۰/۲۷	۶/۷۶±۰/۸۵	۹۱/۱۰±۲/۹۸	۴/۲۶±۰/۸۶
کنترل دیابتی	۱۴/۱۱±۳/۰۵	۲/۸۹±۰/۴۱	۳۹۱/۴۰±۱۶/۶۰	۰/۷۸±۰/۱۴
غلظت ۱۰۰ mg/kg	۱۱/۲۰±۲/۲۰	۳/۱۰±۰/۴۳	۱۴۳/۵۰±۸/۶۵***	۲/۳۶±۰/۳۰
غلظت ۲۰۰mg/kg	۶/۸۵±۱/۱۱	۴/۹۱±۱/۳۸	۱۰۸/۴۰±۳/۱۲***	۲/۷۸±۰/۷۴ *
غلظت ۴۰۰mg/kg	۳/۹۴±۱/۱۱*	۶/۵۷±۰/۲۴*	۹۳/۲۰±۴/۱۶***	۴/۵۵±۰/۹۹**

**** (p<۰/۰۵۰)، ** (p<۰/۰۱۰)، *** (p<۰/۰۰۱)***

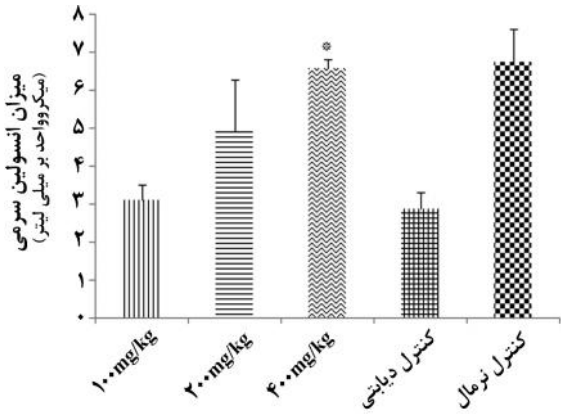
میانگین میزان قند خون در گروه کنترل نرمال، کنترل دیابتی و درمان با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب: ۹۱/۱±۲/۹۸، ۳۹۱/۴±۱۶/۶۰، ۱۴۳/۵±۸/۶۵، ۱۰۸/۴±۳/۱۲ و ۹۳/۲±۴/۱۶ mg/100 ml بود که در گروه تحت درمان با دوزهای مختلف میزان سطح سرمی گلوکز خون نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌داری داشت (p<۰/۰۰۱)(نمودار ۱). میزان سطح گلوکز خون در گروه درمان با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه درمان با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کاهش معنی‌داری پیدا کرده بود (p<۰/۰۱). همچنین گروه درمان با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه درمان با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه درمان با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز کاهش داشت اما این کاهش از نظر آماری معنی‌دار نبود.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017



نمودار ۱- اثر عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر میزان قند خون.

******اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی (p<۰/۰۰۱)***



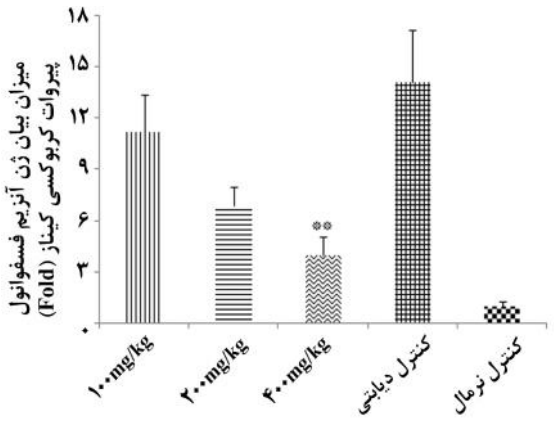
نمودار ۲- اثر عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر میزان انسولین سرمی.

****اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی (p<۰/۰۵)***

میانگین میزان انسولین سرمی در گروه کنترل نرمال (۶/۷۶±۰/۸۵)، کنترل دیابتی (۲/۸۹±۰/۴۱)، درمان با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۳/۱۰±۰/۴۳ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۴/۹۱±۱/۳۸) و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (۶/۵۷±۰/۲۴) بود که میزان انسولین در گروه درمان با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۵) و نسبت به گروه‌های دیگر نیز افزایش داشت، اما این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. همچنین گروه درمان با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش داشت اما از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۲).

میانگین میزان بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز در گروه کنترل نرمال، کنترل دیابتی، درمان با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به ترتیب: ۱±۰/۲۷، ۱۴/۱۱±۳/۰۵، ۱۱/۲۰±۲/۲۰، ۶/۸۵±۱/۱۱ و ۳/۹۴±۱/۱۱ بود. میزان بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز در گروه درمان با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش معنی‌دار داشت (p<۰/۰۱) و نسبت به گروه‌های دیگر نیز کاهش داشت، اما از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. همچنین گروه درمان با دوز ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل دیابتی کاهش داشت اما از نظر آماری معنی‌دار نبود(نمودار ۳).

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

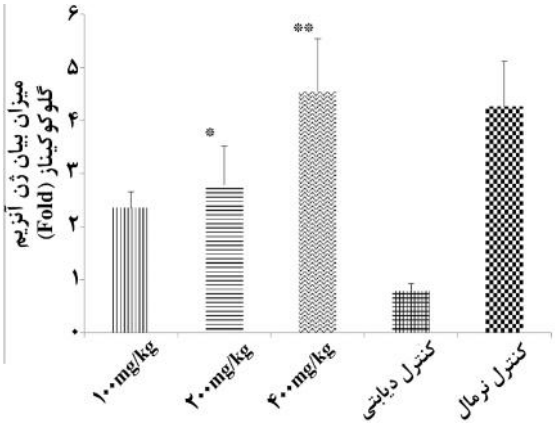


نمودار ۳- اثر عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر میزان بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز. (میزان بیان به درصد می‌باشد.)

***** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی (p<۰/۰۱)***

میانگین میزان بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز در گروه کنترل نرمال (۴/۲۶±۰/۸۶)، کنترل دیابتی (۰/۷۸±۰/۱۴)، درمان با دوز ۱۰۰ (۲/۳۶±۰/۳)، ۲۰۰ (۲/۷۸±۰/۷۴) و ۴۰۰ (۴/۵۵±۰/۹۹) میلی‌گرم بر کیلوگرم بود که در گروه درمان با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز نسبت به گروه کنترل دیابتی به ترتیب با (p<۰/۰۵) و (p<۰/۰۱)، افزایش معنی‌دار داشت. همچنین نسبت به گروه ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم افزایش نشان داد اما از نظر آماری معنی‌دار نبود (نمودار ۴).

گروه درمان با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز نسبت به گروه کنترل دیابتی افزایش داشت که این افزایش نیز از نظر آماری معنی‌دار نبود.



نمودار ۴- اثر عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بر میزان بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز

*** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی (p<۰/۰۵)***

***** اختلاف معنی‌دار نسبت به گروه کنترل دیابتی (p<۰/۰۱)***

بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد استفاده از عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گلوکوکیناز شده است. در مطالعات گذشته استفاده از گیاه موسیر ایرانی به دلیل خاصیت محافظتی و آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز می‌شد که نتایج آن با این مطالعه هم خوانی دارد. در مطالعه حاضر عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز شده است. در بررسی که در گذشته داشتیم نشان داده شد عصاره موسیر باعث کاهش بیان ژن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی‌کیناز شده است که با نتایج مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت [۱۷]. استفاده از عصاره گیاه آلوئه‌ورا با دوز ۱۰۰ ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم باعث کاهش معنی‌دار غلظت گلوکز خون شده است. در مطالعه قبلی

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

استفاده از گیاه موسیر ایرانی به دلیل تقویت ترشح انسولین سرمی، باعث کاهش قند خون شده که نتایج آن با این مطالعه هم‌خوانی دارد [۱۸]. در مطالعه‌ی دیگری که توسط گروه ما انجام شد، عصاره برگ توت با خاصیت آنتی‌اکسیدانی باعث افزایش ترشح انسولین، کاهش قند خون و افزایش بیان ژن آنزیم گلوکوکیناز شد که نتایج حاصل با نتایج حاصل از مطالعه ما هم‌خوانی داشت [۱۹].

اولین مطالعه اثر هایپوگلیسمیک گونه‌های صبر زرد (Aloe vera) توسط Agarwal در سال ۱۹۸۵ انجام شد که در یک دستور غذایی ویژه، برگ‌های صبر زرد توسط ۳۱۶۱۷ بیمار دیابتی، روزانه دو بار به مدت ۵ سال مصرف شد و نشانه‌هایی از کاهش سطح قند خون، تری گلیسیرید و کلسترول تام سرم را گزارش کرد [۲۰]. استفاده از شیره خشکانیده گیاه، وجود یک فاکتور هایپوگلیسمیک را نشان داده که سطوح گلوکز خون را در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان کاهش می‌دهد [۱]. همچنین، یک مطالعه انجام‌شده با ژل صبر زرد در موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین اثر آن را ثابت می‌کند [۲۱]. در تناقض با گزارشات ذکرشده، یک افزایش در سطوح گلوکز پلاسمای موش‌های دیابتی شده با آلوکسان در مطالعات حاد و مزمن با یک محصول طبیعی حاوی ژل صبر زرد مشاهده شد [۲۲]. نتایج یک مطالعه دیگر که به بررسی اثر عصاره آبی آلوئه‌ورا بر سطح قند و چربی‌های خون در موش‌های نر دیابتی شده پرداخته است نشان می‌دهد عصاره صبر زرد به طور معنی‌دار باعث کاهش سطح گلوکز خون شده است. همچنین دوزهای ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم صبر زرد تری‌گلیسیرید و کلسترول LDL را نیز کاهش داده است. این یافته‌ها با نتایج به دست آمده از مطالعه Rajasekaran و همکارانش در سال ۲۰۰۴ مطابقت دارد. این محققین کاهش قند خون در موش‌های دیابتی را متعاقب مصرف خوراکی ژل آلوئه‌ورا نشان داده‌اند [۲۳]. در یک بررسی دیگر مشاهده شدکه عصاره پالپ برگ صبر زرد، قند خون را در موش‌های دیابتی نوع ۱ و ۲ کاهش می‌دهد اما عصاره ژل صبر زرد قند خون را در موش‌های دیابتی نو ع ۲ افزایش می‌دهد [۲۴]. همچنین، در مطالعه‌ای دیگر استفاده از شیره خشکانیده گیاه، وجود یک فاکتور کاهش‌دهنده قند خون را نشان داد که سطوح قند خون را در موش‌های دیابتی شده با آلوکسان کاهش می‌دهد [۲۵].

لاکتات دهیدروژناز، آنزیمی که واکنش مرحله نهایی گلیکولیز بی‌هوازی را کاتالیز می‌کند در طی دیابت شیرین افزایش می‌یابد. موش‌های تیمار شده با صبر زرد، برگشت فعالیت لاکتات دهیدروژناز را نشان می‌دهند. فعالیت طبیعی لاکتات دهیدروژناز حاکی از بهبود یافتن کانال (پیروات) گلوکز برای اکسیداسیون میتوکندریایی است. مکانیسم احتمالی این است که صبر زرد عمل کاهش قند خون را توسط پتانسیل بالقوه آزادسازی انسولین از سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس یا آزادسازی آن از شکل باند شده را انجام می‌دهد [۲۶]. Beppu و همکارانش، یک بخش ۱۰ کیلو دالتونی را از Kidachi aloe که گونه دیگری از جنس آلوئه می‌باشد، جدا کردند و به موش‌های دیابتی خوراندند. آنها ترکیبات باربالوئین و آلوئه آمودین را در سرم و اندام‌های موش‌هایی که Kidachi aloe دریافت کرده بودند مشاهده کردند. این یافته‌ها نشان می‌دهند که

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

مشتقات انترون ترکیبات درگیر در محافظت سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس که توسط رادیکال‌های آزاد مشتق از استرپتوزوتوسین آسیب دیده‌اند می‌باشند. پودر حاصل از بخش ۱۰ کیلو دالتونی، یک عمل مهاری روی جذب گلوکز از روده دارد و هنگامی که به عنوان یک مکمل غذایی مصرف شود قند خون را کاهش می‌دهد، فرض شده است که سازوکار این عمل از همان باربالوئین نشأت می‌گیرد [۱۱].

شواهد زیادی در دست است که حکایت از نقش استرس اکسیداتیو و به دنبال آن تولید رادیکال‌های آزاد در بیماران دیابتی و دخالت این عوامل در پاتوژنز دیابت دارد [۲۹-۲۷]. نقش رادیکال‌های آزاد در ایجاد آسیب‌های بافتی در موش‌های صحرایی دیابتی شده توسط استرپتوزوتوسین نیز به اثبات رسیده است [۳۰]. کبد، اندامی مؤثر در حفظ و برقراری سطح گلوکز خون در محدوده طبیعی بوده و افزایش قند خون منجر به عدم تعادل در واکنش‌های اکسیداسیون -احیاء در درون هپاتوسیت‌ها می‌شود [۳۱]. بدین ترتیب مشخص می‌گردد که آسیب دیابتی کبد توسط فاکتورهای متعددی ایجاد گردیده و تنها با مهار هایپرگلیسمی قابل کنترل نیست [۳۲]. به عبارت دیگر، اگرچه در مراحل اولیه بیماری دیابت، آسیب کبد توسط هایپرگلیسمی القاء می‌شود، اما پیشرفت آن به ابقاء هایپرگلیسمی ارتباط ندارد [۳۳]. بنابراین، یک داروی مناسب و ایده‌آل برای درمان دیابت بایستی دارای هر دو خاصیت کاهندگی قند خون و آنتی‌اکسیدانی باشد. داروهای صناعی پایین آورنده میزان قند خون، نه تنها قادر به کنترل آسیب‌های بافتی در این بیماری نیستند بلکه می‌توانند منجر به بروز عوارض جانبی متعددی نیز گردند [۳۵-۳۴]. با توجه به روش مولکولی که در این مطالعه بکار برده شده است این مطالعه نیز صحت مطالعات گذشته را تأیید می‌نماید. از آنجا که در دیابت با دو مشکل اساسی یعنی عدم ترشح انسولین و قند خون بالا مواجه هستیم و اثر انسولین نیز از طریق تأثیر بر بیان ژن آنزیم‌های مسیر گلیکولیز و گلوکونئوژنز اعمال می‌شود، این بررسی نشان داد اثر ضد دیابتی عصاره آلوئه‌ورا که در گذشته نیز به اثبات رسیده است، از طریق بیان ژن آنزیم‌ها و سطح انسولین نیز قابل‌اثبات و تأیید می‌باشد. پیشنهاد می‌شود جهت به دست آوردن نتایج بهتر و مشخص نمودن تأثیر دقیق ترکیبات موجود در عصاره آلوئه‌ورا، از ماده موثره ی موجود در این گیاه بصورت مستقیم استفاده شود.

نتیجه‌گیری

گیاه آلوئه‌ورا، گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی می‌باشد که با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه می‌تواند میزان قند خون را کاهش و میزان ترشح انسولین را از سلول‌های بتای پانکراس بهبود بخشد. از آنجایی که هورمون انسولین باعث القا و افزایش بیان ژن آنزیم‌های کلیدی مسیر گلیکولیز و مهار آنزیم‌های کلیدی مسیر گلوکونئوژنز می‌شود، نتایج نشان می‌دهد که این گیاه در افزایش ترشح انسولین و متعاقب آن افزایش بیان ژن آنزیم کلیدی گلوکوکیناز در مسیر گلیکولیز و کاهش بیان ژن آنزیم کلیدی مسیر گلوکونئوژنز، یعنی فسفو انول پیروات کربوکسی کیناز به ویژه در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم بر

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

کیلوگرم مؤثر بوده و منجر به بهبود شرایط نامساعد متابولیک در موش‌های دیابتی شده است که تأثیر ضد دیابتی این گیاه را به صورت مولکولی نیز اثبات می‌کند. لذا عصاره این گیاه می‌تواند به صورت کمکی در درمان و بهبود دیابت مؤثر واقع شود.

تشکر و قدردانی

با تشکر و قدردانی از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان که حمایت مالی این طرح را بر عهده داشته است و همچنین، از جناب آقای دکتر غلام‌حسین حسن‌شاهی رئیس مرکز تحقیقات مولکولی که صمیمانه ما را یاری نمودند، سپاسگزاریم.

References

[1] Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, et al. Effect of Aloe vera leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat models. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2004; 27(5): 694-8.

[2] Jarvill-Taylor KJ, Anderson RA, Graves DJ. A hydroxychalcone derived from cinnamon functions as a mimetic for insulin in 3T3-L1 adipocytes. J Am Coll Nutr 2001; 20(4): 327-36.

[3] Vogler BK, Ernst E. Aloe vera: a systematic review of its clinical effectiveness. *Br J Gen Pract* 1999; 49(447): 823-8.

[4] Muller MJ, Hollyoak MA, Moaveni Z, Brown TL, Herndon DN, Heggers JP. Retardation of wound healing by silver sulfadiazine is reversed by Aloe Vera and nystatin. *Burns* 2003; 29(8): 834-6.

[5] Diamond BJ, Shiflett SC, Feiwel N, Matheis RJ, Noskin O, Richards JA, et al. Ginkgo biloba extract: Mechanisms and clinical indications. *Archives of physical medicine and rehabilitation* 2000; 81(5): 668-78.

[6] Chen HC, Hsieh WT, Chang WC, Chung JG. Aloe-emodin induced in vitro G2/M arrest of cell cycle in human promyelocytic leukemia HL-60 cells. *Food Chem Toxicol* 2004; 42(8): 1251-7.

[7] Tanaka M, Misawa E, Ito Y, Habara N, Nomaguchi K, Yamada M, et al. Identification of five phytosterols from Aloe Vera gel as antidiabetic compounds. *Biological & pharmaco Bulletin* 2006; 29(7): 1418-22.

[8] Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Anti-oxidant effect of Aloe Vera gel extract in

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

[14] Anand P, Murali KY, Tandon V, Murthy PS, Chandra R. Insulinotropic effect of cinnamaldehyde on transcriptional regulation of pyruvate kinase, phosphoenolpyruvate carboxykinase, and GLUT4 translocation in experimental diabetic rats. *Chem Biol Interact* 2010; 186(1): 72-81.

[15] Tong, Zhaoguo, et al. A modified protocol for RNA extraction from different peach tissues suitable for gene isolation and real-time PCR analysis. *Molecular Biotechnology* 2012; 50(3): 229-36.

[16] Mahmoodi M, Hosseini J, Hosseini Zijoud SM, Mirzaie MR. The effect of Persian shallot (Allium hirtifolium Boiss.) extract on blood sugar and serum levels of some hormones in diabetic rats. *Pak J Pharm Sci* 2013; 26(2): 397-402.

[17] Mahmoodi M, Hosseini-Zijoud SM, Kazemi Arababadi M, Khorramdelazad H. Effect of Persian shallot (Allium hirtifolium Boiss. extract on glucokinase (GCK), glycogen phosphorylase and phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) genes expression in diabetic rats. *African J Pharmacy and Pharmacol* 2013; 7(7): 389-96.

[18] Hosseini-Zijoud SM, Mahmoodi M. The effects of Persian shallot extract on the levels of some blood biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats. *African Journal of Agricultural Research* 2012; 7(22): 3308-13.

streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep* 2005;57(1): 90-6.

[9] Young lee Ki, T.Weintraub Susan, Pal Yu B. Isolation and identification of a phenolic antioxidant from Aloe barbadensis. *Free radicalbiology and Medicine* 2000; 28: 261-5.

[10] Kuzuya H, Tamai I, Beppu H, Shimpo K, Chihara T. Determination of aloenin, barbaloin and iso-barbaloin in aloe species by micellar electrokinetic chromatography. *J Chromatogr Biomed Sci Appl* 2001; 752: 91-7.

[11] Beppu H, Shimpo K, Chihara T, Kaneko T,Tamai I, Yamaji S and et al. Antidiabetic effects of dietary administration of Aloe arborescensMiller components on multiple low-dose streptozotocin-induced diabetes in mice: Investigation on hypoglycemic action and systemic absorption dynamics of aloe components. *J Ethnopharmacol* 2006; 103: 468-77.

[12] Postic C, Dentin R, Girard J. Role of the liver in the control of carbohydrate and lipid homeostasis. *Diabetes Metab* 2004; 30(5): 398-408.

[13] Biyani MK, Banavalikar MM, Suthar AC, Shahani S, Sivakami S, Vidri J. Antihyperglycemic effects of three extract from momoridaca charantia. *Journal of Ethnopharmocology* 2003; 88: 107-11.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

[19] Nazari M, Hajizadeh MR, Mahmoodi M, Mirzaei MR, Hassanshahi G. The regulatory impacts of Morus Alba leaf extract on some enzymes involved in glucosemetabolism pathways in diabetic rat liver. *Clin Lab* 2012; 59(5-6): 497-504.

[20] Agarwal OP. Prevention of atheromatous heart disease. *Angiology* 1985;36: 485-92.

[21] Koo MWL. Aloe vera: antiulcer and anidiabetic effects. *Phytother Res* 1994; 8: 461-4.

[22] Tesfamariam B, Brown ML, Cohen RA. Elevated glucose impairs endothelium-dependent relaxation by activating protein kinase C. *J Clin Invest* 1991;87(5):1643-8

[23] Rajasekaran S, Ravi K, Sivagnanam K ,Subramanian S. Beneficial effects of aloe Vera leaf gel extract on lipid profile status in rats with streptozotocin diabetes. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2006; 33(3): 232-7.

[24] Pari L, Umamaheswari J. Antihyperglycaemic activity of Musa sapieentum flowers: effect on lipid peroxidation in alloxan diabetic rats. *Phytother Res* 2000. 14(2): 136-8.

[25] Pari L, Saravanan G. Antidibetic effect of Cogent db, a herbal drug in alloxan induced diabetes mellitus. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 2002, 131(1): 19-25.

[26] Pérez YY, Jiménez-Ferrer E, Zamilpa A, Hernández-ValenciaM, Alarcón-Aguilar FJ, Tortoriello J, et al. Effect of a polyphenol-rich extract from Aloe vera gel on experimentally induced Insulin resistance in mice. *Am J Clin Med* 2007; 35(6): 1037-46.

[27] Cerielo A, Motz E, Cavarape A, Lizzio S, Russo A, Quatararo A, et al. Hyperglycemia counterbalances the antihypertensive effect of glutathione in diabetes patients: evidence linking hypertension and glycemia through the oxidative stress in diabetes mellitus. *J Diab Compl* 1997; 11(4): 250-5.

[28] Kaneto H, Katakami N, Kawamori D, Miyatsoka T, Sakamoto K, Matsuoka TA, et al. Involvement of oxidative stress in the pathogenesis of diabetes. *Antioxide Redox Signal* 2007; 9(3): 355-66.

[29] Bulter R, Morris AD, Belch JJE, Hill A, Struthers AD. Allopurinol normalizes endothelial dysfunction in type 2 diabetes with mild hypertension. *Hypertension* 2000; 35(3): 746-51.

[30] Murugana P, Pari L. Antioxidant effect of tetrahydrocurcumin in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic rats. *Life Sci* 2006; 79(18): 1720-28.

[31] Cameron NE, Gibson TM, Nangle MR, Cotter MA. Inhibitors of advanced glycation end product formation and neurovascular dysfunction in

experimental diabetes. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1043: 784-92.

[32] Liu HR, Tang XY, Dai DZ, Dai Y. Ethanol extracts of Rehmannia complex (Di Huang)containing no corni fructus improve early diabetic nephropathy by combining suppression on the ETROS axis with modulate hypoglycemic effect in rats. *J Ethnopharmacol* 2008; 118(3): 466-72

[33] Vestra MD, Fioretto P. Diabetic nephropathy: renal structural studies in type 1 and type 2 diabetic patients. *Internatrional Congress Series* 2003; 1253: 163-9.

[34] Liu HR, Tang XY, Dai DZ, Dai Y. Ethanol extracts of Rehmannia complex (Di Huang) containing no Corni fructus improve early diabetic nephropathy by combining suppression on the ETROS axis with modulate hypoglycemic effect in rats. *J Ethnopharmacol* 2008; 118(3): 466-72.

[35] Akhtar MS, Iqbal J. Evaluation of the hypoglycemic effect of Achyranthes aspera in normal and alloxan diabetic rabbits. J Ethno on experimentally induced insulin resistance in mice. *The American Journal of Chinese Medicine* 2007; 35(06): 1037-46.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 22:35 IRST on Monday December 11th 2017

Effect of Aloe Vera Hydroalcoholic Extract on Blood Glucose, Serum Insulin and the Key Enzymes in Metabolic Pathways of Glycolysis and Gluconeogenesis in Hepatocytes of Type 1 Diabetic Rats

M. Chahardoli[1], M. Mahmoodi[2], M.R. Hajizadeh[3], H. Khoramdel Azad[4], A.R. Khoshdel[3], M.R. Mirzae[5]

Received: 16/06/2014 Sent for Revision: 26/07/2014 Received Revised Manuscript: 04/09/2014 Accepted: 21/09/2014

Background and Objective: Recently, it is considered the role of hypoglycemic agents specially medicinal plants derivatives in treatment of diabetes mellitus. Aloe Vera contains phenolic compounds and flavonoids with antioxidant properties that reduces the complications of the disease.The aim of study was to investigate the effects of hydroalcoholic extract of Aloe Vera in serum levels of glucose and insulin and key enzymes in metabolic pathways of glycolysis and gluconeogenesis in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats.

Materials and Methods: A total of 50 rats (initial weight of 220 ±10 g) were divided into five groups. Two months after treatment with Aloe Vera extract, the rats were sacrificed and blood glucose and serum insulin levels were measured. It was also isolated the liver then, extracted mRNA from it, expression levels of Glucokinase and Phosphoenol pyruvate carboxy kinase enzymes were measured by Real Time PCR.

Results: The results showed that the extract of Aloe Vera at doses of 100, 200 and 400 mg/kg increase insulin secretion ($p<0.05$), hypoglycemia ($p<0.001$), increasing expression of Glucokinase enzyme ($p<0.05$) and reducing expression of the Phosphoenol pyruvate carboxy kinase enzyme ($p<0.05$) in diabetic rats.

Conclusion: Not only dose Aloe Vera hydroalcoholic extract influence on insulin secretion, it also affects on key enzymes gene expression of Glycolysis and Gluconeogenesis pathways. Hence, this extract can be effective for improvement of diabetic complications.

Key words: Glycolysis and Gluconeogenesis pathways key enzymes, Streptozotocin, Aloe Vera, Rat

Funding: This research was funded by Rafsanjan University of Medical Sciences.

Conflict of interest: None declared.

Ethical approval: The Ethics Committee of Rafsanjan University of Medical Sciences approved the study.

How to cite this article: Chahardoli M, Mahmoodi M, Hajizadeh MR, Khoramdel Azad H, Khoshdel AR, Mirzae MR. Effect of Aloe Vera Hydroalcoholic Extract on Blood Glucose, Serum Insulin and the Key Enzymes in Metabolic Pathways of Glycolysis and Gluconeogenesis in Hepatocytes of Type 1 Diabetic Rats. *J RafsanjanUniv Med Sci* 2014; 13(8): 668-82 [Farsi]

1- MSc Student of Clinical Biochemistry, Dept. of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
2- Prof., of Clinical Biochemistry, Molecular Medicine Research Center and Dept. of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
(Corresponding Author) Tel: (034) 34339660, Fax: (034) 34339660, E-mail: Mahmoodies@yahoo.com
3- Assistant Prof., of Clinical Biochemistry, Molecular Medicine Research Center and Dept. of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
4- MSc in Immunology Molecular Medicine Research Center, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran
5- Assistant Prof., of Genetics, Molecular Medicine Research Center and Dept. of Genetics, Faculty of Medicine, Rafsanjan University of Medical Sciences, Rafsanjan, Iran