Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره هفتم، شماره اول، بهار ۱۳۸۷، ۱۲-۵

بررسی اثر عصاره آبی-الکلی گیاه کلپوره (*Teucrium polium*) بر ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس جدا شده موش صحرایی

دکتر رضا شفیعی‌نیک[۱]، دکتر سیدمحمدرضا پریزاده[۲]، افشین کریمی[۳]

دریافت مقاله: ۸۵/۶/۲۷ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۵/۱۲/۲۵ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۶/۷/۲۲ پذیرش مقاله: ۸۶/۸/۲

چکیده

زمینه و هدف: کلپوره در بخش‌های وسیعی از کشور ایران رشد می‌کند و در شرایط درون‌تنی موجب کاهش قند خون می‌شود. جهت مشخص کردن سازوکار این عمل، در این مطالعه اثر عصاره آبی- الکلی این گیاه بر ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس جدا شده از موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، اندام‌های هوایی گیاه (ساقه، برگ و گل) خرد شده و ۷۲ ساعت در ۵۰۰ میلی‌لیتر الکل ۵۰ درجه با حرارت ۴۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه و عصاره حاصل در خلاء حذف حلال گردید و مجدداً در DMSO حل شده و توسط محلول کربس رقیق شد.. برای جدا کردن جزایر لانگرهانس، در هر آزمایش، موش‌ها توسط تیوپنتال بی‌هوش و پانکراس جدا شده توسط کلاژناز هضم شد. جزایر لانگرهانس آزاد در زیر استرئومیکروسکوپ به طور دستی جدا و در بافر کربس ۳ میلی‌مولار به مدت ۳۰ دقیقه پری‌انکوبه شده و سپس با محلول گلوکز ۳ یا ۱۰ میلی‌مولار با یا بدون ایزوبوتیل‌متیل‌گزانتین (**IBM**) یا همراه با عصاره کلپوره با غلظت‌های ۰/۱٪ و ۱٪ به مدت یک ساعت رنکوبه شدند.

یافته‌ها: ۱۰ میلی‌مول گلوکز موجب افزایش ترشح انسولین شد. ایزوبوتیل متیل‌گزانتین به صورت وابسته به دوز ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز (GIIR) را افزایش داد. معذالک عصاره گیاه کلپوره در غلظت ۰/۱٪ تغییری در GIIR ایجاد نکرد و در غلظت ۱٪ به صورت معنی‌دار GIIR را کاهش داد.

نتیجه‌گیری: گیاه کلپوره خاصیت انسولینوتروپیک ندارد. سازوکار اثر مهاری غلظت ۱٪ عصاره مشخص نیست و ممکن است به دلیل سمیت ناشی از غلظت بالای عصاره باشد. اثرات کاهش دهنده قند خون کلپوره در شرایط درون تنی احتمالاً ناشی از تغییر در میزان متابولیسم گلوکز یا افزایش حساسیت بافت محیطی به انسولین باشد.

واژه‌های کلیدی: دیابت ملیتوس، موش صحرایی، جزایر لانگرهانس، انسولین، کلپوره، IBMX

مقدمه

دیابت ملیتوس از شایع‌ترین اختلالات متابولیکی در جهان امروز بوده و اهمیت آن بیشتر به دلیل شیوع، سیر طولانی و عوارض آن است. شاخص‌ترین ویژگی این بیماری افزایش گلوکز خون است که ناشی از اختلال ترشح انسولین یا اختلال عملکرد انسولین و یا هر دو می‌باشد [۱]. در این بیماران،

۱- (نویسنده مسؤول) استادیار گروه آموزشی فارماکولوژی، مرکز تحقیقات فارماکولوژیک گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

تلفن: ۸۸۲۸۵۶۶-۰۵۱۱، فاکس: ۸۸۲۸۵۶۷-۰۵۱۱، پست الکترونیکی: shafieer@mums.ac.ir

۲- استادیار گروه آموزشی بیوشیمی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد، بیوشیمی، دانشگاه آزاد اسلامی مشهد

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

ایجاد مقاومت به انسولین علت پاتولوژیک اولیه است. در ابتدا افزایش ترشح انسولین مقاومت به انسولین را جبران می‌کند ولی در طول زمان، به دلایلی که هنوز کاملاً مشخص نشده است، فعالیت سلول‌های مترشحه انسولین کاهش یافته و در نتیجه تحمل به گلوکز کاهش می‌یابد که علامت اولیه ظهور بیماری است. در این موقع سلول‌های مترشحه انسولین به محرک‌های دیگر مثل سولفونیل اوره‌ها بخوبی پاسخ می‌دهند. معذالک مقاومت تدریجی به این داروها اجتناب‌ناپذیر بوده و استفاده از داروهای جایگزین موضوع تحقیقات در درمان دیابت است [۲].

در گذشته استفاده از گیاهان دارویی در درمان بیماران مبتلا به دیابت نوع دوم، درمان اولیه این بیماری بود و امروزه به عنوان طب جایگزین مطرح می‌باشد. کارآیی احتمالی گیاهان دارویی در درمان دیابت و فراوانی آن‌ها در نواحی مختلف ایران و هم‌چنین اعتقادات مردم در استفاده از این داروها، کاربرد آن‌ها را در جامعه ما تسهیل می‌نماید. معذالک تجویز منطقی گیاهان دارویی مؤثر بر قند خون نیازمند اطلاعات دقیق از سازوکار عمل این داروها است. از زمان‌های قدیم مردم ایران و کشورهای خاورمیانه از گیاه کلپوره (مریم نخودی) با نام علمی *Teucrium Polium* به عنوان یک دارو برای درمان دیابت استفاده می‌کردند [۳]. این گیاه از خانواده نعناعیان (Labiatae) و از جنس توکریم (Teucrium) و از گونه پولیوم (Polium) می‌باشد. گیاهی است چند ساله با قاعده‌ای خشتی و پرشاخه (از قاعده منشعب)، با ساقه‌های بالا رونده یا راست به ارتفاع ۵۰-۱۰ سانتی‌متر و گیاه کاملاً توسط کرک‌های پتویی، خاکستری یا سفید پوشیده شده است. دارای گل آذین متعدد یا چند تایی انتهایی است و گل‌ها تقریباً بدون دمگل هستند و موسم گل دهی آن اردیبهشت و مرداد می‌باشد [۶-۴]. بر اساس تحقیقات انجام شده این گیاه خودرو بوده و در سطح کشور دارای انتشار جغرافیایی وسیعی است و در طب سنتی در درمان بیماری دیابت تجویز می‌شود [۶-۵]. در تحقیقات اخیر اثرات گیاه کلپوره در کاهش قند به اثبات رسیده است [۹-۷، ۳]. تجویز عصاره کلپوره به موش‌های صحرایی دیابتی شده، موجب کاهش قند خون [۸، ۳] و افزایش غلظت انسولین پلاسما می‌شود [۹، ۷]. معذالک در این تحقیقات مشخص نشده است که کاهش قند خون و افزایش انسولین پلاسما ناشی از تحریک ترشح انسولین است یا سازوکارهای دیگر در این اثر دخالت دارند.

در این تحقیق، جهت مشخص شدن سازوکار اثر کلپوره در کاهش قند خون، اثرات عصاره آبی- الکلی این گیاه در ترشح انسولین از جزایر لانگرهانس جدا شده موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفته است. دلیل استفاده از حلال آبی- الکلی، استخراج کلیه مواد محلول در آب و مواد محلول در چربی که احتمالاً اثرات فارماکولوژیک دارند، بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی به روش زیر انجام شد:

مواد شیمیایی: در این آزمایش آنزیم کلاژناز تیپ IV و IBMX (3-Isobutyl-1-methylxanthine) از کمپانی سیگما و کیت انسولین Diasorin (DLS-1600) ساخت ایتالیا از شرکت کاوشیار تهیه گردید. شایان ذکر است آنتی‌بادی مورد استفاده در این کیت پلی‌کلونال بوده و با انسولین موش صحرایی ۱۰۰٪ واکنش متقابل (cross-reaction) دارد. سایر مواد شیمیایی مورد استفاده از شرکت Merck آلمان تهیه گردید به طوری که تمامی مواد به کار گرفته شده دارای درجه خلوص قابل قبولی بودند.

تهیه عصاره آبی- الکلی گیاه کلپوره (مریم نخودی): این گیاه از نواحی حومه مشهد جمع‌آوری گردید و به وسیله گیاه‌شناس مرکز تحقیقات علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد مورد شناسایی قرار گرفت. در ابتدا حدود ۵۰ گرم از اندام‌های هوایی گیاه (ساقه، برگ و گل) را به وسیله آسیاب خرد کرده و برای مدت ۷۲ ساعت در یک ارلن حاوی ۵۰۰ میلی‌مول الکل ۵۰ درجه و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار دادیم. سپس مخلوط حاصل را به وسیله قیف بخنر صاف نموده و عمل حذف حلال در خلاء انجام گردید.

در هر آزمایش برای تهیه محلول ۰/۵٪، ۵۰۰ میلی‌گرم عصاره کلپوره را در ۱ میلی‌لیتر حلال DMSO حل کرده، سپس ۱۰۰ میکرولیتر از محلول حاصل به ۱۰ میلی‌لیتر بافر کربس (حاوی، میلی مل، منیزیم سولفات ۹ /۰ ، سدیم

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

بیکربنات ۲۵، پتاسیم کلراید ۴/۷، سدیم کلراید ۹۴، کلسیم کلراید ۲/۵، پتاسیم دی هیدروژن فسفات ۱/۲) همراه با ۳ یا ۱۰ میلی‌مول گلوکز اضافه می‌گردید.

حیوانات و آماده‌سازی: حیوانات مورد استفاده در این آزمایش، موش‌های صحرایی از جنس نر و نژاد Sprague-Dawley بوده و در مرکز پرورش حیوانات واقع در مؤسسه واکسن و سرم سازی مشهد تکثیر شده بودند. پس از تهیه به اطاق نگهداری حیوانات در جنب آزمایشگاه تحقیقاتی منتقل و تا زمان انجام آزمایش با رژیم غذایی نرمال و آب لوله‌کشی شهر تغذیه و تحت شرایط استاندارد (نور، درجه حرارت و تغذیه) نگهداری گردیدند.

جداکردن و هضم پانکراس و تخلیص جزایر: جداسازی جزایر لانگرهانس با روشی تکمیل شده بر اساس روش Lacy و Kostainovsky انجام گردید [۱۰]. در این روش در هر بار جداسازی، تعداد دو سر موش صحرایی با مشخصات فوق و با وزن تقریبی ۲۵۰ - ۲۰۰ گرم انتخاب و با تزریق تیوپنتال به داخل صفاق با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بی‌هوش و حفره شکمی باز گردید. ابتدا محل ورود مجرای هپاتیک به روده کوچک (دئودنوم) مسدود و از سمت دیگر مجرای هپاتیک در نزدیکی خروجی آن از کبد، برش کوچکی ایجاد نموده و کانول‌گذاری گردید. سپس حدود ۲۰ الی ۲۵ میلی‌لیتر محلول بافرکربس سرد را که قبلاً توسط مخلوطی از ۹۵٪ گاز اکسیژن و ۵٪ گاز دی‌اکسیدکربن اشباع شده و pH آن در حد ۷/۳۵ تنظیم گردیده بود به درون مجرا تزریق شد تا پانکراس متسع گردد. پانکراس جدا شده به قطعات ۱ تا ۲ میلی‌متری خرد شده و توسط آنزیم کلاژناز هضم گردید. مخلوط حاصل توسط کربس شست و شو داده شد و در زیر یک استرئومیکروسکپ مجهز به نور سرد (استفاده از فیبر نوری)، جزایر به وسیله یک پیپت سیلیکونایز شده تک تک دستچین شده و به بافرکربس حاوی ۳ میلی‌مول گلوکز همراه با گلوتامات، فومارات و پیروات (با غلظت ۵ میلی‌مول از هر کدام) منتقل گردید.

تهیه محلول‌های انکوبیشن: بافرکربس حاوی ۳ یا ۱۰ میلی‌مولار گلوکز همراه یا بدون عصاره کلپوره تهیه گردید (برای تهیه محلول انکوبیشن همراه عصاره مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از ویال‌های عصاره حل شده در DMSO به ۱۰ میلی‌لیتر از محلول‌های ۳ میلی‌مولار یا ۱۰ میلی‌مولار گلوکز اضافه گردید). محلول‌ها قبل از آزمایش توسط مخلوط ۹۵٪ گاز اکسیژن و ۵٪ گاز دی‌اکسیدکربن به خوبی گاز داده شدند و pH آن‌ها بین ۷/۳۵ تا ۷/۴۰ تنظیم گردید.

روش آزمایش: جزایر جدا شده سالم و هم اندازه به کمک استرئومیکروسکپ در دستجات پنج تایی تقسیم شد و هر گروه پنج تایی همراه با یک میلی‌لیتر بافرکربس انکوبیشن حاوی ۳ میلی‌مولار گلوکز به یک ویال شیشه‌ای سلیکونایزشده منتقل و به مدت ۳۰ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. در طی مدت انکوبیشن جریانی از مخلوط ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسید کربن برقرار بود.

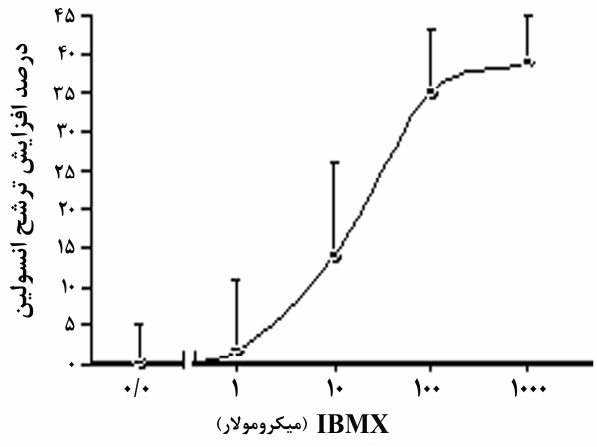
سپس محلول انکوبیشن تخلیه شد و به هر ویال یک میلی‌لیتر بافرکربس انکوبیشن حاوی ۳ میلی‌مولار یا ۱۰ میلی‌مولار گلوکز همراه یا بدون عصاره کلپوره یا IBMX اضافه گردید. ویال‌ها به مدت ۶۰ دقیقه در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد تحت جریان ۹۵٪ اکسیژن و ۵٪ دی‌اکسیدکربن انکوبه شدند. در انتها از محیط آبی هر ویال نمونه برداری شد و به همراه بافرفسفات (pH=۷/۴) منجمد گردید. مقدار انسولین موجود در نمونه‌ها بوسیله کیت انسولین Diasorin (DLS-1600) با استفاده از تکنیک ایمونورادیومتری **(RIA)** اندازه‌گیری گردید.

تحلیل آماری داده‌ها: مقدار انسولین هر ویال به عنوان یک مشاهده در نظر گرفته شد و چند بار آزمایش تکرار گردید. نتایج حاصل به صورت میانگین ± انحراف معیار همراه با تعداد مشاهده بیان شده‌اند. آنالیز داده‌ها توسط نرم افزارهای Microsoft Exel و Instat با روش Unpaired t-test (برای مقایسه بین دو گروه) یا روش ANOVA یکطرفه و به دنبال آن آزمون Tukey-Kramer (برای مقایسه بین بیش از دو گروه) انجام گردید.

نتایج

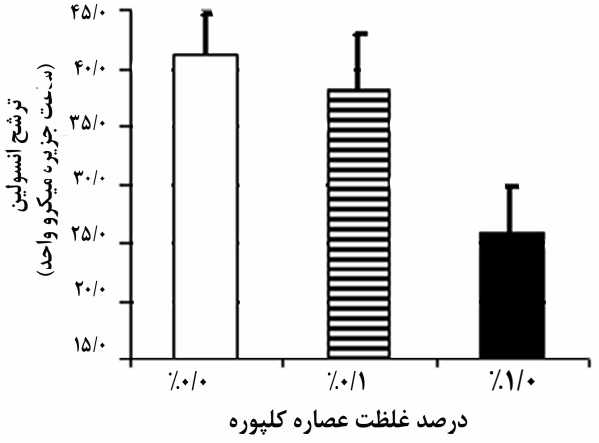
در بررسی فعالیت فیزیولوژیک و پاسخ فارماکولوژیک جزایر لانگرهانس جداشده، فعالیت ترشحی جزایر در حضور ۳ میلی‌مولار و ۱۰ میلی‌مولار گلوکز و در حضور غلظت‌های

متفاوت IBMX مورد بررسی قرار گرفت. متوسط ترشح انسولین بازال (ترشح انسولین در حضور گلوکز ۳ میلی‌مولار) در طی ۶۰ دقیقه ۲/۹ ± ۲۵/۵ میکرو واحد به ازای هر جزیره لانگرهانس بود (N=۱۵). افزایش غلظت گلوکز محیط از ۳ میلی‌مولار به ۱۰ میلی‌مولار موجب افزایش ترشح انسولین گردید (ترشح انسولین به ازای هر جزیره در طی ۶۰ دقیقه ۳/۴±۴۱/۲ میکرو واحد، N = ۱۶، p<۰/۰۰۱). این اثر نشان دهنده سالم بودن پاسخ فیزیولوژیک جزایر لانگرهانس می‌باشد. در حضور IBMX ترشح انسولین تحریک شده توسط گلوکز به صورت وابسته به دوز افزایش یافت. این افزایش ترشح انسولین در حضور IBMX با غلظت ۱۰۰ میکرو مولار کاملاً معنی‌دار بود (p<۰/۰۱) (نمودار ۱). این اثر تأیید دیگری بر سلامتی جزایر لانگرهانس در پاسخ به عوامل فارماکولوژیک است.



نمودار ۱- منحنی دوز-پاسخ IBMX در تحریک ترشح انسولین القاء شده توسط گلوکز
هر نقطه بیانگر میانگین درصد افزایش ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز و سربارها میانگین خطای استاندارد ۱۰-۱۲.

در بررسی اثر عصاره کلپوره بر ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز، اثرات غلظت‌های ۰/۱٪ و ۱٪ عصاره در حضور گلوکز ۱۰ میلی‌مولار مورد بررسی قرار گرفت. در این شرایط در حضور عصاره آبی الکلی کلپوره نه تنها ترشح انسولین افزایش نیافت بلکه در غلظت ۱٪ عصاره، ترشح انسولین به صورت معنی‌دار کاهش یافت (نمودار ۲).



نمودار ۲- اثر عصاره کلپوره بر ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز. هر ستون بیانگر میانگین ترشح انسولین بر حسب میکرو واحد به ازای هر میلی‌لیتر و سر بارها خطای استاندارد ۱۷-۱۵. *: p<۰/۰۱

در بررسی اثر عصاره کلپوره بر ترشح انسولین بازال، اثر غلظت ۰/۵٪ این گیاه در حضور گلوکز ۳ میلی‌مولار بررسی گردید. در این شرایط حضور عصاره تغییری در ترشح انسولین بازال ایجاد نکرد (ترشح انسولین به ازاء هر جزیره در طی ۶۰ دقیقه، سه میلی‌مول گلوکز ۲/۹± ۲۵/۵ میکرو واحد، N = ۱۵، سه میلی‌مول گلوکز همراه با ۰/۵٪ عصاره ۳/۴±۲۴/۰ میکرو واحد، N = ۱۰).

بحث

افزایش بیش از حد بیماری دیابت و عدم وجود درمان قطعی در این بیماری یکی از مشکلات مهم طب امروز است. گزارشات زیادی از مؤثر بودن گیاهان دارویی در درمان این بیماری ارایه شده است. ولی در هیچ‌کدام به سازوکار دقیق اثر این گیاهان در کاهش قند خون اشاره نشده است. کلپوره یکی از گیاهان دارویی است که در طب قدیم به عنوان درمان دیابت استفاده می‌شده است. سازوکار اثر این گیاه در کاهش قند خون مشخص نیست. با توجه به سازوکارهای ترشح انسولین، اثر این گیاه در مدل جزایر لانگرهانس جدا شده مورد بررسی قرار گرفت.

در این تحقیق ابتدا جهت ارزیابی پاسخ جزایر لانگرهانس به محرک فیزیولوژیک، اثر غلظت‌های ۳ و ۱۰ میلی‌مولار گلوکز بر ترشح انسولین مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان می‌دهد که جزایر لانگرهانسی که به روش ذکر شده در این مقاله، استخراج می‌شوند، به تغییرات گلوکز پاسخ می‌دهند و

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

همان‌طور که در نتایج بیان شد، با افزایش غلظت گلوکز خون از ۳ میلی‌مولار به ۱۰ میلی‌مولار میزان ترشح انسولین بیش از ۱/۵ برابر افزایش یافته است. وجود پاسخ جزایر به گلوکز در ارزیابی عمل ترشحی آن‌ها به پاسخ‌های فارماکولوژیک ضروری است. این روش را می‌توان برای کشف سایر عواملی که به نحوی می‌توانند بر ترشح انسولین تأثیر بگذارند (اعم از گیاهان دارویی یا داروهای سنتز شده شیمیایی) مورد استفاده قرار داد.

یکی از سازوکارهای مهم در تقویت ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز، افزایش غلظت cAMP در سلول‌های مترشحه انسولین است. جهت ایجاد این اثر می‌توان داروهای محرک آدنیلیل سیکلاز و یا داروهای مهارکننده فسفودی‌استرازهای نوکلئوتیدهای حلقوی (PDE) را استفاده نمود. در این تحقیق اثر پاسخ جزایر با استفاده از IBMX که یک مهارکننده غیر انتخابی PDE است مورد بررسی قرار گرفته است. نتایج حاصل که در شکل ۲ نشان داده شده‌اند بیانگر پاسخ جزایر به عوامل فارماکولوژیک می‌باشد. با توجه به این نتایج می‌توان گفت جزایر لانگرهانس جدا شده موش صحرایی به عوامل فیزیولوژیک و فارماکولوژیک پاسخ ترشحی می‌دهند و می‌توان آن‌ها را به عنوان یک مدل مناسب در ارزیابی اثر داروهای گیاهی بر ترشح انسولین مورد استفاده قرار داد.

اثر گیاه کلپوره در دو مکانیسم متفاوت ترشح انسولین یعنی ترشح انسولین بازال (ترشح انسولین در حضور گلوکز ۳ میلی‌مولار) و ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز (ترشح انسولین در حضور گلوکز ۱۰ میلی‌مولار) مورد بررسی قرار گرفت.

همان طور که از نمودارها و نتایج به دست آمده، مشخص می‌شود گیاه کلپوره در هیچ‌کدام از شرایط مذکور تغییری در ترشح انسولین ایجاد نکرده است. لذا می‌توان نتیجه گرفت که کلپوره یک گیاه انسولینوتروپیک نمی‌باشد و اثر کلپوره در کاهش قند خون که در گزارشات دیگر نشان داده شده است [۹-۷، ۳] احتمالاً از طریق سازوکارهای دیگری مثل افزایش حساسیت بافت‌ها به انسولین و یا ایجاد اثرات مهاری در متابولیسم گلوکز در کبد اعمال می‌شود.

ثابت شده است که عصاره کلپوره با بازآرایی سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) و افزایش فعالیت آنزیم گلوکوکیناز کبدی علاوه بر فعال کردن مسیر گلیکولیز باعث تبدیل گلوکز به گلوکز-۶- فسفات در درون سلول شده و بدین وسیله از خروج گلوکز از سلول و ورود آن به خون که موجب افزایش قند موجود در خون می‌گردد، جلوگیری به عمل می‌آورد [۱۱]. تحقیقات انجام شده در مورد اثرات ضد دیابت گیاه کلپوره، در مواردی که مدل‌های مورد استفاده موش‌های دیابتی شده بوده‌اند، با توجه به عدم اثر تحریک ترشح انسولین توسط این گیاه، افزایش غلظت انسولین سرم در این حیوانات را به ترمیم سلول‌های مترشحه انسولین توسط کلپوره نسبت داده‌اند [۱۲]. یک احتمال در مکانیسم این اثر ترمیمی، وجود اثرات آنتی‌اکسیدانت در عصاره این گیاه است [۱۳]. به هر حال تأیید این اثر نیاز به تحقیقات بیشتر دارد.

افزایش غلظت کلپوره، موجب کاهش میزان ترشح انسولین القاء شده توسط گلوکز شده است (نمودار ۲)، که این مسئله می‌تواند تأییدی بر آزمایشات دیگری باشد که نشان دهنده سمیت غلظت‌های بالای گیاه بر روی هپاتوسیت‌ها و سلول‌های کبدی هستند. تحقیقات انجام شده در این زمینه حاکی از آن است که غلظت‌های بالای کلپوره باعث تغییر لوبول‌ها در سلول‌های کبدی شده و تعداد سلول‌های کوفر (Kupffer) را در این سلول‌ها افزایش می‌دهد و حتی در بعضی از سلول‌ها باعث بزرگ شدن هسته سلول‌ها می‌گردد [۱۴]. علاوه بر آن، غلظت‌های بالای این گیاه می‌تواند سلول‌های عصبی را تحت تأثیر قرار داده و انتقال پیام‌های عصبی را در اعصاب مهار نماید و باعث القا عوارض التهابی در پوست رت‌های مورد آزمایش گردد [۱۵]. در تحقیقات انجام گرفته بر روی نمونه‌های انسانی نیز ایجاد سمیت سلول‌های کبدی (Hepatotoxicity) در موارد مصرف غلظت‌های بالای جوشانده گیاه کلپوره مشاهده شده است [۱۷-۱۶]. لذا در تجویز این گیاه در درمان دیابت باید سمیت احتمالی این گیاه را در مقادیر زیاد در نظر داشت.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

نتیجه‌گیری

۱- هیچ‌کدام از ترکیبات موجود در گیاه کلپوره محرک ترشح انسولین نبوده و قادر به تقویت ترشح انسولین القا شده توسط گلوکز نیز نیستند.

۲- کاهش قند خون و یا افزایش غلظت انسولین سرم که در تجویز این گیاه در تحقیقات درون‌تنی (*in-vivo*) مشاهده شده است احتمالاً ناشی از ترمیم سلول‌های آسیب دیده پانکراس و یا افزایش فعالیت سلول‌های کبدی بوده است.

۳- کلپوره در مقادیر زیاد، دارای اثرات سمی است. با توجه به اثرات مهاری غلظت ۱٪ عصاره این گیاه در ترشح انسولین از جزایر جدا شده لانگرهانس، می‌توان نتیجه گرفت که اثرات مفید کلپوره در درمان دیابت احتمالاً در مقادیر کم ایجاد شده و لازم است در تجویز این گیاه به اثرات سمی احتمالی آن نیز توجه گردد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی مشهد که با تأمین هزینه‌های مالی این طرح امکان اجرای این پژوهش را برای ما فراهم نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

References

[1] Committee Report, Report of the expert committee on diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 1997; 20(7): 1183-97.

[2] Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology, 8 th ed. New York, Lang Medical Books/McGraw-Hill. 2001; p: 725.

[3] Esmaeili MA, Yazdanparast R. Hypoglycemic effect of *Teucrium polium*: studies with rat pancreatic islets. *J Ethnopharmacol*, 2004; 95(1): 27-30.

[4] Plants for future. Teucrium Polium. Available at; http://www.pfaf.org/database. August 9, 2007.

[5] Ghahraman, A. The Chromophytes of Iran, 1 st ed., Tehran. University Press, Tehran. 1994; vol. 3, pp: 235-309. [Farsi]

[6] Zargari A. *Medicinal Plants*, Tehran University Press. 1990; Vol. 4, pp: 130-2. [Farsi]

[7] Ansari Asi A, Soveid M, Azadbakht M, Omrani GH, Solimani SM, Samani M. The Effect of Extract of Teucrium Polium on Blood sugar and Insulin Levels of Type 2 Diabetic Patients. *Shiraz E-Medical Journal*, 2003; 4(4).

[8] Gharibeh MN, Elayan HH, Salhad AS. Hypoglycemic effectS of Teucrium Polium. *J Ethnopharmacol*, 1988; 24(1): 93-9.

[9] Vessal M, Zal F, Vasei M. Effects of *Teucrium Polium* on Oral Glucose Tolerance Test, Regeneration of Pancreatic Islets and Activity of Hepatic Glucokinase in Diabetic Rats. *Arch Iranian Med*, 2003; 6(1): 35-9.

[10] Shafiee-Nick R, Pyne NJ, Furman BL. Effects of type-selective phosphodiesterase inhibitors on glucose-induced insulin secretion and islet phosphodiesterase activity Br. *J Pharmacol*, 1995; 115(8): 1486-92.

[11] Akdogan M, Ozguner M, Aydin G and Gokalp O. Investigation of biochemical and histopatological effect of mentha piperita labiatae and spicata labiatae on liver tissue in rat. *Hum Exp Toxicol*, 2004; 23: 21-8.

[12] Yazdanparast R, Esmaeili MA, Ashrafi Helan J. Teucrium Polium Extract Affects Pancreatic Function of Streptozotocin Diabetic Rats: A Histopathological Examination. *Iranian Biomedical Journal*. 2005; 9(2): 81-5.

[13] Ljubuncic P, Dakwar S, Portnaya I, Cogan U, Azaizeh H, Bomzon A. Aqueous Extracts of Teucrium Polium Possess Remarkable Antioxidant Activity In-Vitro. *Evid Based Complement Alternal Med,* 2006; 3(3), 329-38.

[14] Khaleifat K, Shakhanbeh J, Tarawneh K. The Chronic Effects of Teucrium Polium on Some Blood Parameters and Histopathology of Liver and Kidney in the Rat. *Turk J Biol*, 2002; 26: 65-71.

[15] Shakhanbeh J, Atrouse O. Teucrium Polium Inhibits Nerve conduction and carrageenan Induced Inflammation in Rat skin. *Turk J Med Sci*, 2001; 31: 15-21.

[16] Shahraki MR, Arab MR, Mirimokaddam E, Palan MJ. The effect of Teucrium polium (Calpoureh) on liver function, Serum Lipids and glucose in diabetic male rats. *Iran Biomed J*, 2007; 11 (1): 65-8.

[17] Zal F, Vasei M, Rasti M, Vessal M. Hepatotoxicity Associated with Hypoglycemic Effects of Teucrium Polium in Diabetic Rat. *Archives of Iranian Medicine*. 2001; 4(4): 188-92.

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

Evaluation of the Effect of Aqueous - Alcoholic Extract of *Teucrium Polium* on Insulin Secretion From Isolated Rat Pancreatic Islets

R. Shafiee-Nick PhD[1], **S.M.R Parizadeh** PhD[2], **A. Karimi** MSc Student[3]

Downloaded from journal.rums.ac.ir at 18:42 IRST on Tuesday March 20th 2018

Received: 18/09/06 **Sent for Revision: 16/3/07** **Received Revised Manuscript: 14/10/07** **Accepted: 24/10/07**

Background and Objective: *Teucrium Polium* (Labiatae) grows widespread in Iran and reduces blood sugar *in-vivo*. To examine the mechanism of this effect, in this study we explored the effects of aqueous-alcoholic extract of this plant on insulin secretion of isolated rat pancreatic islets.

Materials and Methods: In this experimental study, the upper parts of the plant (stem, flowers and leaves) have been ground and extracted by incubating in 500ml of 50% alcohol at 40 ^{o}C for 72 hours. Then the solvent was evaporated in vacuum and reconstituted in DMSO which diluted with Kreb's solution, rats were anesthetized with thiopental, for isolation of Islets, in each experiment. The pancreases were isolated and digested with collagenase and isolated islets were collected manually under a stereomicroscope. Isolated islets were pre-incubated in Kreb's buffer with 3mM for 30min and then incubated with glucose 3mM or 10mM) with or without Isobutyl-Methylxanthine (IBMX) or the extract (0.1% and 1%) for one hour.

Results: Our results showed that 10mM glucose stimulated insulin secretion. IBMX augmented glucose-induced insulin release (GIIR) in a dose-dependent manner. However, the extract, in concentration of 0.1%, did not change GIIR and in a concentration of 1% significantly decreased GIIR.

Conclusion: *Teucrium Polium* extract has not insulinotropic property. The mechanism of inhibitory effect of the extract in the concentration of 1% is not clear and is may be due to the toxicity which the extract produces in high concentrations. We may conclude that the *in-vivo* hypoglycemic effect of is probably the result of changing the rate of glucose metabolism or increasing the sensitivity of peripheral tissue to insulin.

Key words: Diabetes Mellitus, Rats, Islets of Langerhans, Insulin, Teucrium, IBMX

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

Conflict of interest: None declared**.**

Ethical approval: The Ethics comitte of Mashhad University of Medical Sciences approved the study.

1- Assistant Prof.,Dept. of Pharmacology, Pharmacological Research Center of Medicinal Plants, University of Medical Sciences, Mashhad, Iran
(Corresponding Author) Tel: (0511) 8828566, Fax: (511) 8828567, E- mail: shafieer @ mums.ac.ir
2- Assistant Prof., Dept. of Biochemistry, University of Medical Sciences, Mshhad, Iran
3- MSc Student of Biochemistry, Islamic Azad University, Mashhad, Iran