New Cell Mol Biotech
j.10/38 , 2020

Research article

Scan online to view this article

The Effect of Silymarin on Neuro D1 Gene Expression and Blood Glucagon Level in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats

Rahman Jafari hafshejani, Hosein Sazgar*, Noosha Zia Jahromi

Department of Biology, Science Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Abstract

Aim and Background: Due to the high rates of diabetes in Iran and the world, as well as due to the lower side effects of medicinal plants in comparison with chemical and industrial drugs, this study investigated the effect of the active ingredient of Mary Magenta (Silybum marianum) on the expression of the Neuro D1 gene, one of the genes of the genes And the restoration of beta and alpha pancreatic cells is also a study of blood glucagon levels in rats.

Material and methods: 42 male Wistar rats were randomly selected and divided into seven groups of six. Diabetic rats received different doses of silymarin and metformin every other day for 1-3 days and after 40 days anesthetized with chloroform. After blood sampling, the serum glucagon level was measured by glucagon assay kit ELISA Then, the stages of the description and operation of pancreatic tissue extraction and extraction of RNA and cDNA were performed and expression analysis was performed using Real Time RT-PCR technique.

Results: The results of this study showed that STZ causes the destruction of pancreatic tissue and type 1 diabetes. Application of Silymarin improved diabetes and decreased glucose levels and increased serum glucagon levels in rats receiving different doses of silymarin compared to the control group (diabetic). Also, the expression level of NeuroD1 gene increased significantly compared to the GAPDH gene (reference gene).

Conclusion: The expression of NeuroD1 gene in STZ-induced diabetic rats showed a significant increase (P-Value = 0.000), which resulted in improved pancreatic tissue and decreased blood glucose and increased rats and muscle mass by regenerating cells The pancreatic alpha, as well as the binding to the promoter of the glucagon gene, enhance the expression of this gene.

Keywords: Type 1 diabetes, Streptozotocin, Glucagon, Silymarin, NeuroD1 gene.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

Corresponding author:
Department of Biology, Science Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
Email: hoseinsazgar@yahoo.com

مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی مولکولی
دوره ۱۰ - شماره -۳۸ بهار ۱۳۹۹
مقاله پژوهشی

برای مشاهده این مقاله به صورت آنلاین اسکن کنید

تأثیر سیلی‌مارین بر بیان ژن Neuro D1 و بررسی سطح گلوکاگون خون در رت‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

رحمان جعفری هفشجانی، حسین سازگار*، نوشا ضیاء جهرمی

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

چکیده

سابقه و هدف: باتوجه‌به آمار بالای دیابت در ایران و جهان و هم‌چنین به‌علت عوارض جانبی کم‌تر گیاهان دارویی نسبت‌به داروهای شیمیایی و صنعتی در این مطالعه به بررسی اثر ماده مؤثره گیاه خار مریم (سیلی‌مارین) بر بیان ژن Neuro D1 که یکی از ژن‌های تکوین و بازسازی سلول‌های بتا وآلفا پانکراس هست هم‌چنین بررسی سطح گلوکاگون خون در رت‌ها، پرداختیم.

مواد و روش‌ها: ۴۲ سر رت نر نژاد ویستار به‌صورت تصادفی انتخاب شدند و به هفت گروه شش تایی تقسیم شدند. رت‌های دیابتی شده دوزهای مختلف سیلی‌مارین و متفورمین را هر سه روز یک‌بار دریافت کردند و بعد از ۴۰ روز با کلروفوم بی‌هوش کرده بعد از خون‌گیری از قلب رت‌ها سطح سرمی گلوکاگون توسط کیت سنجش گلوکاگون به روش الیزا اندازه‌گیری شد و سپس مراحل تشریح و عمل برداشت بافت پانکراس و مراحل استخراج RNA و cDNA سازی و بررسی بیان‌ژن با تکنیک Real-Time PCR انجام گردید.

یافته‌ها: نتایج این تحقیق نشان داد STZ باعث تخریب بافت پانکراس وایجاد دیابت نوع یک می‌شود. کاربرد سیلی‌مارین باعث بهبود دیابت و کاهش قند خون و افزایش سطح سرمی گلوکاگون در رت‌های دریافت‌کننده دوزهای مختلف سیلی‌مارین نسبت‌به گروه کنترل منفی (دیابتی) شد. هم‌چنین میزان بیان ژن NeuroD1 نسبت‌به ژن GAPDH (ژن رفرنس) افزایش معنی‌داری پیدا کرد.

نتیجه‌گیری: بیان‌ژن NeuroD1 در رت‌های دیابتی شده با STZ به‌واسطه سیلی‌مارین، افزایش معنی‌داری را نشان می‌دهد (P-Value= ۰/۰۰۰) که نتیجه آن بهبود بافت پانکراس و کاهش قند خون و افزایش وزن رت‌ها و سیلی‌مارین با بازسازی سلول‌های آلفای پانکراس و هم‌چنین با اتصال به پروموتر ژن گلوکاگون باعث افزایش بیان این ژن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: دیابت نوع یک، استروپتوزوتوسین، گلوکاگون، سیلی‌مارین، ژن NeuroD1.

مقدمه

دیابت قندی سندرمی است که در آن متابولیسم کربوهیدرات، چربی، و پروتئین‌ها مختل می‌شود (۱). این بیماری به‌دلیل فقدان ترشح انسولین یا کاهش حساسیت بافت‌ها به انسولین ایجاد می‌شود شیوع دیابت طی دو دهه گذشته افزایش چشم-گیری داشته است و تخمین زده‌اند که تا سال ۲۰۳۰ به بیش از ۴۳۸ میلیون نفر افزایش یابد (۲). دیابت دارای دو نوع عمده

نویسنده مسئول:
گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
پست الکترونیکی: hoseinsazgar@yahoo.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۲۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

است. دیابت نوع I، که دیابت قندی وابسته‌به انسولین نیز نامیده شده، به‌دلیل فقدان ترشح انسولین ایجاد می‌شود (۳). دیابت نوع II، که دیابت قندی غیر وابسته‌به انسولین نامیده می‌شود (۴).

پانکراس از نظر آناتومیک غده طویلی است که در زیر و موازی با معده قرار گرفته و بیش‌تر ساختار درونی آن، شبیه غده بزاقی است و از غدد ضمیمه دستگاه گوارشی است (۶،۵). پانکراس به میزان زیادی در تنظیم متابولیسم مواد مغذی درگیر است. اهمیت پانکراس در موازنه مواد مغذی در کل بدن به‌وسیله این حقیقت مشخص شده است که در شرایط پاتولوژیک مختلف مثل دیابت نوع یک و دو، که درگیر در متابولیسم مواد مغذی‌اند، به‌عدم تنظیم سلول‌های پانکراس مربوط هستند (۷، ۸). فاکتورهای مختلفی بر تمایز سلول‌ها به سلول‌های بتا در پانکراس اثر می‌گذارند. از جمله این فاکتورها می‌توان به Pax4، Pax6، MafA و Neuro D1 اشاره کرد (۹). ژن Neuro D1 که بر روی بازوی بلند کروموزم شماره ۲ واقع شده است (۳q۲۴)، دارای وزن مولکولی ۳۹ کیلودالتون است. این ژن در ترشح گلوکاگون، انسولین و سوماتواستاتین نقش دارد بیان ژن Neuro D1 در سلول‌های اندوکرین پانکراس و دیگر بافت‌های غیر پانکراتیک مثل روده و مغز یافت می‌شود عملکرد ژن Neuro D1، رونویسی ژن انسولین و پیش بردن بیش‌تر تمایز به سمت سلول‌های islet عملکردی است. وجود ژن Neuro D1 در سلول‌های بیان کننده گلوکاگون نشان می‌دهد که سرکوب فعالیت گلوکاگون با این ژن ارتباطی دارد. در حقیقت طبق گزارش‌های اخیر، ژن Neuro D1 سبب فعال شدن پروموتر گلوکاگون می‌شود (۱۰-۱۲) داروهای گیاهی نسبت‌به داروهای شیمیایی دارای سمیت کم‌تر و اثرهای جانبی کم‌تر هستند تاکنون بیش از ۲۱۰۰ گیاه دارویی در کاهش میزان قند خون و یا کاهش عوارض ناشی از آن شناخته شده است. از جمله این گیاهان: خار مریم، خیار تلخ، شنبلیله، هستند (۱) گیاه خار مریم از خانواده کاسنیان است. این گیاه بومی جنوب اروپا و شمال آفریقا است و در مناطق مختلف ایران به‌خصوص البرز مرکزی، خوزستان و آذربایجان رویش دارد عصاره دانه خار مریم حاوی ترکیب‌های شیمیایی متعدد شامل چندین لیگنان فلاونوئیدی است که در مجموع به‌نام سیلی‌مارین می‌گویند (۱۳). فلاونوئیدها از ترکیب‌های بسیار مهم اکثر گیاهان دارویی، سبزیجات و میوه‌ها هستند، فلاونوئیدها از قبیل کوئرستین موجب ترشح انسولین و مهارکننده قوی تجمع سوربیتول در بافت‌های بدن است (۱۴). سیلی‌مارین خواص مختلفی ازجمله: محافظت از کبد، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد سرطان و هم‌چنین ضد دیابت دارد سیلی‌مارین به‌خاطر اثرهای آنتی‌اکسیدانی از تخریب سلول‌های سازنده انسولین جلوگیری و سبب بهبود بافت آسیب دیده پانکراس می‌شود (۱۵، ۱۶).

باتوجه به آمار بالای دیابت در ایران و جهان و هم‌چنین به‌علت عوارض جانبی کم‌تر گیاهان دارویی نسبت‌به داروهای شیمیایی و صنعتی در این مطالعه به بررسی اثر ماده مؤثره گیاه خار مریم (سیلی‌مارین) بر بیان ژن Neuro D1 که یکی از ژن‌های تکوین و بازسازی سلول‌های بتا وآلفا پانکراس هست هم‌چنین بررسی سطح گلوکاگون خون در رت‌ها، پرداختیم.

روش بررسی

تعداد ۴۲ سر رت‌های نر نژاد ویستار با وزن ۲۲۰-۱۸۰ که از شرکت دانته شهرکرد خریداری و درشرایط استاندارد (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی) و دسترسی کامل به آب و غذای استاندارد در لانه حیوانات دانشگاه آزاد شهرکرد نگهداری شدند.

گروه‌بندی حیوانات

رت‌ها به صورت تصادفی به ۷ گروه۶ تایی دسته‌بندی و در قفس‌های مجزا نگهداری شدند و آب و غذا برای همه یکسان بود و هم‌چنین شرایط اتاق حیوانات درتمام طول دوره مطالعه ۲۵-۲۲ و رطوبت‌نسبی ۵۰ درصد حفظ شد.

۷ گروه آزمایشی شامل:

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

۱- گروهA: شاهد سالم
۲- گروهB: کنترل منفی
۳- گروهC: دیابتی دریافت کننده دوز ۵۰سیلی مارین
۴- گروهD:دیابتی دریافت کننده دور۱۰۰سیلی مارین
۵- گروهE :دیابتی دریافت کننده دوز۱۵۰سیلی مارین
۶- گروهF: دیابتی دریافت کننده متفورمین
۷- گروهG: شاهدسالم دریافت کننده دوز۱۵۰سیلی مارین

قبل از انجام آزمایش تمامی رت‌ها با استفاده از دستگاه گلوکومتر BIONAM ساخت کشور تایوان با اخذ یک قطره خون از طریق دم. گلوکز خون آن‌ها اندازه‌گیری شد.

برای دیابتی کردن رت‌ها از استرپتوزوتوسین (خریداری شده از شرکت مرک آلمان) حل شده در بافر سیترات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۴/۵ براساس وزن شان، غاظت ۵۰، میلی‌گرم برکیلوگرم (۵۰ mg/kg) STZ به‌صورت تک دوز درون صفاقی تزریق گردید. حیواناتی که پس از سه روز از تزریق STZ قند خون بالای ۲۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر داشتند دیابتی تلقی شدند. سنجش قند خون همه گروه‌ها هر ده روز یک مرتبه با رعایت ۱۴ساعت محرومیت از غذا انجام و گلوکز خون ثبت گردید.

پس از گذشت سه روز از تزریق استرپتوزوتوسین،گروه‌های دریافت کننده سیلی‌مارین و هم‌چنین گروه دیابتی دریافت کننده متفورمین هر سه روز یک بار (۱۰ مرتبه) در طول یک ماه ، ماده مؤثره و متفورمین را از طریق گاواژ کردن دریافتند.

پس از گذشت ۳۰ روز، حیوانات با کلروفوم بی‌هوش و بعد از خون‌گیری از قلب برای بررسی میزان گلوکاگون به‌روش الایزا که از کیت گلوکاگون با مارک EASTBIOPHARM ساخت کشورآمریکا استفاده شد طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت، تشریح مقداری از بافت پانکراس به‌نسبت ۱ به ۴ در مایع RNAlater جهت اندازه‌گیری بیان ژن Neuro D1 ذخیره شد. برای اندازه‌گیری بیان ژن مورد بررسی در پژوهش حاضر از روش Real Time RT PCR استفاده شد.

مراحل انجام تکنیک Real-Time PCR

استخراج RNA با استفاده از روش ترایزول ساخت شرکت کیان انجام گردید. لازم‌به ذکر است که RNA پس از استخراج دستخوش تغییرهایی خواهد شد و برای رفع این مشکل بلافاصله پس از برداشت باید در مجاورت محلول ثبیت کننده (RNA later) قرار گیرد و هم‌چنین به‌دلیل حساسیت بالا تمام لوازم مورد نیار با محلول DEPC ۱ درصد تیمار شدند (۱۷). در سلول‌ها برای لیز و هموژنیزه کردن بافت پانکراس مقداری ازت مایع بروی بافت ریخته شد و سپس یک سی‌سی ترایزول اضافه گردید و در دمای ۴ درجه به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شدند و سپس ۲۰۰ ماکرولیتر کلروفرم به نمونه‌ها اضافه گردید و لوله‌ها به‌مدت ۵ دقیقه دردمای ۴ درجه قرار داده شدند. لوله‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند، به سه فاز مجزا تقسیم می‌شود که فاز رویی را به اپندروف‌های جدید منتقل شده، و مقدار ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول سرد به آن اضافه شد و مواد داخل به‌مدت ۵ دقیقه در g ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و سپس فاز روی به آرامی خارج شده و رسوب RNA حاصل با اتانول ۷۵ درصد سرد شستشو داده شده و پس از سانتریفیوژ به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ رسوب باقی‌مانده در ۲۰ میکرولیتر آب حل شده و برای استفاده‌های بعدی در دمای ۷۰- نگهداری شد. برای از بین بردن آلودگی ژنومی از کیت آنزیم DNase (شرکت Thermo) مطابق دستورالعمل شرکت استفاده شد.

پس از استخراج RNA برای اطمینان از کافی بودن آن و هم-چنن میزان خلوص و عدم آلودگی ژنومی آن از نظر کیفی بالود کردن روی ژل آگاروز ۲ درصد و هم از نظر کمی به‌وسیله دستگاه نانو درآپ میزان خلوص (OD) آن اندازه‌گیری شد همه غلظت های RNA ها بیش‌تر از ۹۰۰۰ng/µl بود.

سپس مقداری از RNA برای ساخت cDNA استفاده شد به این منظور از کیت سنتز cDNA شرکت تاکارا-ژاپن مطابق دستورالعمل شرکت استفاده شد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

برای تعین میزان بیان ژن Neuro D1 از ژن GAPDH به‌عنوان ژن کنترل (رفرنس) استفاده شد.

پرایمرهای انتخابی این ژن‌هاساخت شرکت ماکروژن کشور کره جنوبی بودند. الگوی پرایمرها مورد استفاده در این پژوهش در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱- توالی ژن Neuro D1

GAPDH R	5′-TCCATGGTGGTGAAGACGCCAGTA-3′
GAPDH F	5′-TGGTGAAGGTCGGTGTGAACGGAT-3′
Neuro D1 R	5'-TTTGGTCATGTTTCCACTTCC-3'
Neuro D1 F	5'-CGCAGAAGGCAAGGTGTC-3'

سپس به‌وسیله سیستم Rotor-Gene6000 و با استفاده از کیت سابرمستر ریل تایم ساخت شرکت تاکارا ژاپن مطابق دستورالعمل آن استفاده شد پروتکل دمایی مورد استفاده در دستگاه Rotor-Gene6000 در روش Real-Time PCR در جدول شماره ۲ آورده شده است.CTهای مربوط به واکنش توسط نرم‌افزار سیستم Real-Time PCR استخراج و ثبت گردید. بعد از اتمام واکنش Real-Time PCR سیکل آستانه هر نمونه به‌صورت جداگانه به‌دست آمده شد که با مقایسه سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن مرجع (GAPDH)، می‌توان میزان بیان ژن موردنظر را به‌صورت کمی از فرمول fold change =2-ΔΔct به‌دست آورد و میزان بیان ژنNeuroD1 را در هفت گروه مختلف اندازه‌گیری شد.

جدول ۲- پروتکل دمایی برای ژن

Initial denaturation step	۵دقیقه	۹۴°C	۱ سیکل
Denaturation	۱۵ثانیه	۹۴°C	۴۰ سیکل
Annealing	۲۰ ثانیه	۶۱°C	
Extension	۲۰ ثانیه	۷۲°C	

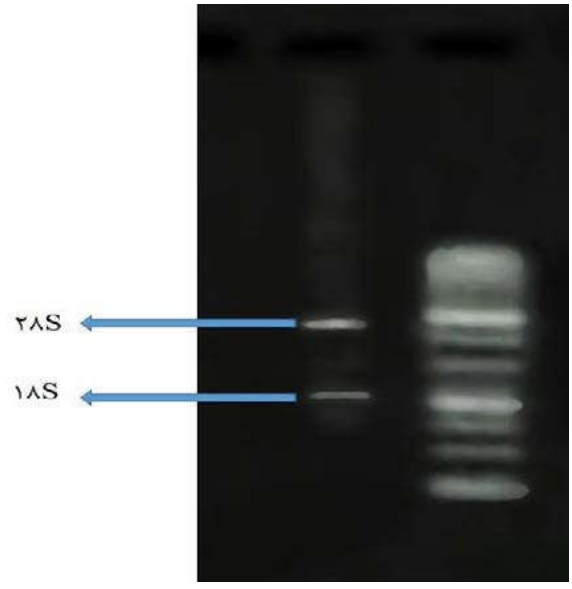
تجزیه و تحلیل آماری

آنالیز آماری داده‌های این تحقیق با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۲۱ انجام شد. از آنجا که داده‌ها از توزیع نرمال برخوردار بودند، با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) و با آزمون پشتیبان post test LSD ارزیابی شدند و نتایج به‌صورت Mean ± SEM ارائه و تفاوت بین گروه‌های مختلف با P<۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

بررسی کیفی RNA استخراج شده

در شکل ۱ RNA استخراج شده بر روی ژل دو درصد نشان داده شده است.



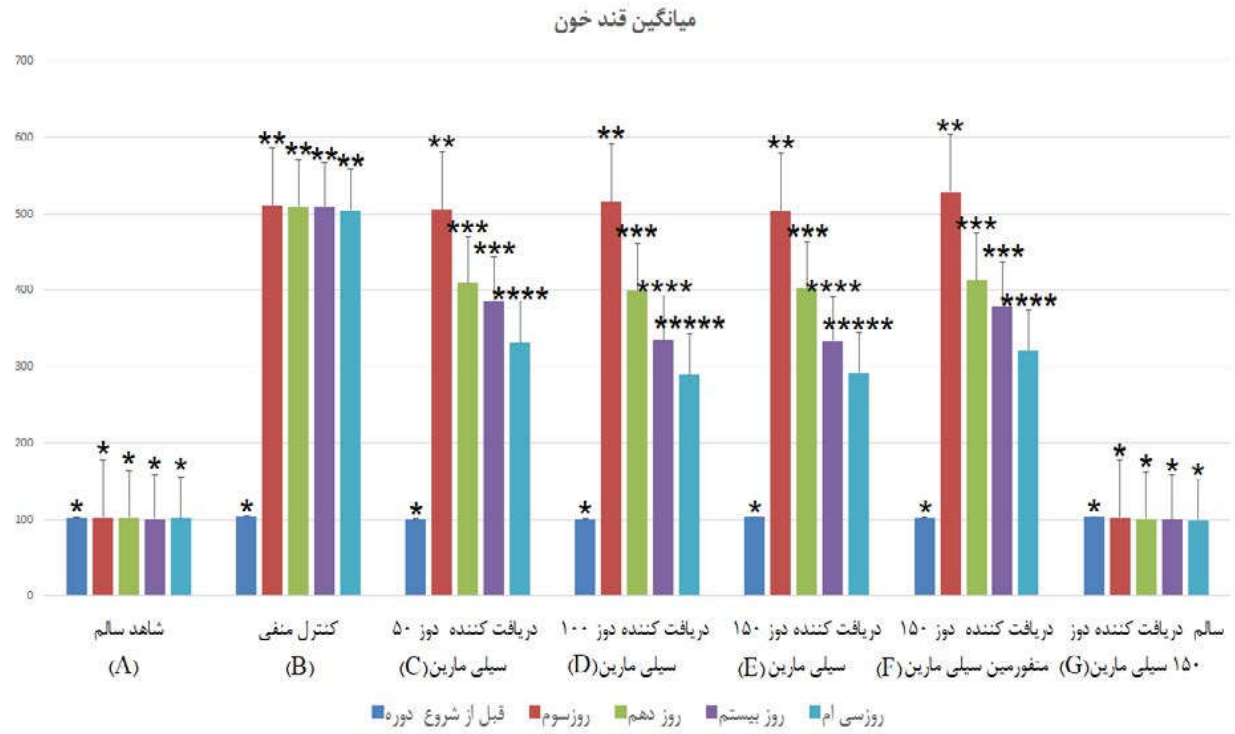
شکل ۱- RNA تام سلولی الکتروفورز شده در ژل آگارز ۲ درصد

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

تغییرهای قند خون رت‌ها

در ابتدا تغییرهای قند خون در گروه‌های مورد مطالعه را مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری قند خون هر ۱۰ روز یک بار قند خون ناشتای رت‌ها (۱۴ ساعت گرسنگی) با خون‌گیری از ناحیه دم و با استفاده از دستگاه گلکومتر اندازه‌گیری شد و نتایج گروه‌های تیمار و شاهد در نمودار ۱ آمده است.



نمودار ۱- تغییرهای قند خون رت‌ها

*تعداد ستاره متفاوت در هر گروه معنی‌دار بودن را نشان می‌دهد. (P-Value< ۰/۰۵)

میزان قند خون با تزریق استرپتوزوتوسین به‌شدت افزایش یافت؛ اما پس از آن با دریافت سیلی‌مارین در طول مدت درمان همان‌طور که مشاهده می‌شود میزان قند خون در هر گروه با توجه‌به میزان دوز دریافتی سیلی‌مارین تغییر یافت. تغییرهای قند خون در گروه‌های تحت درمان (سیلی‌مارین و متفورمین)، گروه شاهد دیابتی (B) و گروه شاهد سالم (A) در طول دوره تیمار نسبت‌به هم تغییرهای معنی‌دار داشته و بیش‌ترین تغییرها در گروه‌های دریافت کننده دوز mg/kg ۱۰۰ (D) و mg/kg ۱۵۰ (E) نسبت‌به سایر گروه‌های تیمار است و تمامی گروه‌ها در انتهای دوره درمان تغییرهای معناداری نسبت‌به شروع دوره دیابتی شدن داشتند (P-Value<۰/۰۵). ولی بین گروه شاهد سالم (A) و گروه سالم دریافت کننده سیلی‌مارین (G) تغییر معناداری مشاهده نشد (P-Value>۰/۰۵).

نتایج Real-Time PCR

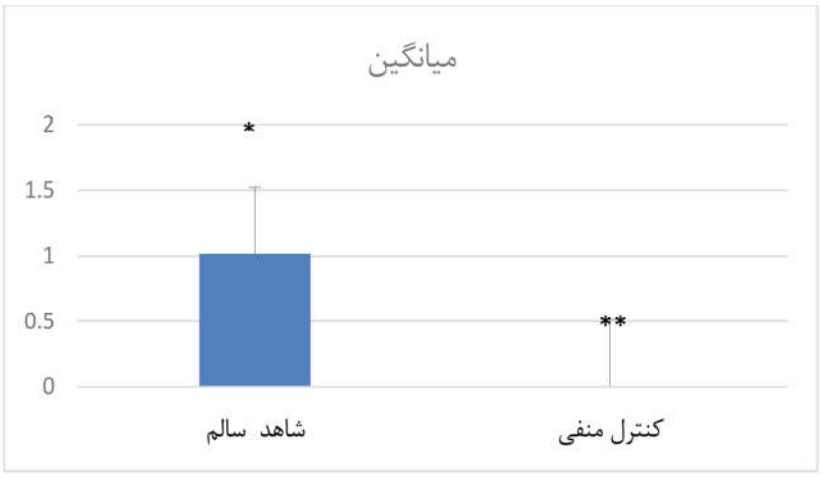
نتایج حاصل از بررسی میزان بیان ژن Neuro D1 در گروه ها A و B

بررسی میزان بیان ژن Neuro D1 در گروه شاهد سالم (A) و گروه شاهد دیابتی به‌عنوان کنترل منفی (B) نشان داد که در سطح آماری ۹۵ درصد میزان بیان ژن Neuro D1 در رت های دیابتی و سالم دارای اختلاف معناداری است.

(P -Value=۰ /۰۰۰)

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]



نمودار ۲- بررسی میزان بیان ژن Neuro D1 در گروه شاهد سالم و کنترل منفی

نتایج حاصل از بررسی میزان بیان ژن NeuroD1 در گروه‌های A-F

بررسی میزان بیان ژن NeuroD1 در گروه‌های (A-F) در نمودار ۳ نشان داده شده است.

نمودار ۳- بررسی میزان بیان ژن NeuroD1 در گروه‌های(A-F)

*وجود تعداد ستاره‌های متفاوت نشان‌دهنده وجود گروه‌های معنی‌دار است.

با توجه‌به نتایج به‌دست آمده بیان ژن NeuroD1 قبل از ایجاد دیابت در همه گروه‌ها بیان داشته و پس از ایجاد دیابت درگروه‌های بیمار به‌شدت افت پیدا کرده و بعد از استفاده از داروهای سیلی‌مارین و متفورمین تا حدودی این کاهش بیان جبران شده است. هم‌چنین میزان بیان این ژن در گروه شاهد دیابتی (B) که دارویی دریافت نکرده است بسیار افت پیدا کرده و نسبت‌به گروه سالم شاهد (A) نتایج معنی‌دار است.

میزان بیان این ژن به‌ترتیب گروه دریافت کننده دوز mg/kg ۵۰ سیلی‌مارین (C)، گروه دریافت کننده دوز mg/kg ۱۵۰

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

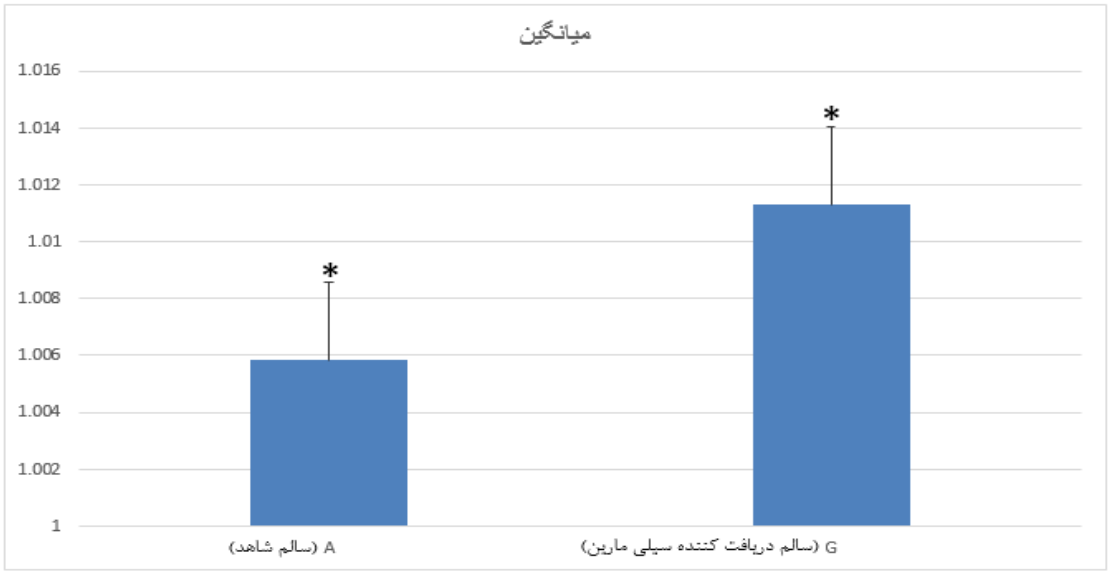
[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

متفورمین (F)، گروه دریافت کننده دوز ۱۵۰ mg/kg سیلی-مارین (E)، دریافت کننده دوز ۱۰۰ mg/kg (D)، بیش‌ترین بیان را داشته‌اند؛ اما میزان بیان گروه‌های D و E نسبت‌به گروه‌های شاهد دیابتی (B) و گروه‌های بیمار دریافت کننده دوز ۵۰ mg/kg سیلی‌مارین (C) و گروه دریافت کننده دوز ۱۵۰ mg/kg متفورمین (F) معنی‌دار بود. (P-Value< ۰/۰۵)؛ اما میزان بیان در گروه‌های شاهد دیابتی (B) و گروه‌های بیمار دریافت کننده دوز ۵۰ mg/kg سیلی‌مارین (C) و گروه دریافت کننده دوز ۱۵۰ mg/kg متفورمین (F) معنی‌دار نبود (P-Value> ۰/۰۵).

دوز ۱۰۰ mg/kg داروی سیلی‌مارین تأثیر بسزایی نسبت‌به همه دوزهای تیمار سیلی‌مارین و هم‌چنین داروی متفورمین در بیان ژن NeuroD1 داشته است و اختلاف آن با گروه شاهد سالم معنی‌دار نبود. (P-Value> ۰/۰۵). هم‌چنین گروه دریافت کننده دوزهای ۱۰۰ mg/kg سیلی‌مارین (D) اثردهی بهتری نسبت‌به دوز ۱۵۰ mg/kg (E) داشته است که نشان دهنده عدم وابسته‌به دوز بودن اثردهی سیلی‌مارین است.به‌احتمال دوز ۱۵۰ mg/kg به‌دلیل غلظت بالای آن توسط موش بیش‌تر دفع شده است علی‌رقم این یافته‌ها، نیاز به انجام تحقیقات بیش‌تری است.

نتایج حاصل از بررسی میزان بیان ژن NeuroD1 در گروه های A و G

بررسی میزان بیان ژن NeuroD1 در گروه‌های شاهد سالم (A) و سالم دریافت کننده سیلی‌مارین (G) در نمودار ۴ نشان داده شده است.



نمودار ۴ - بررسی میزان بیان ژنNeuroD1 در گروه‌های A و G

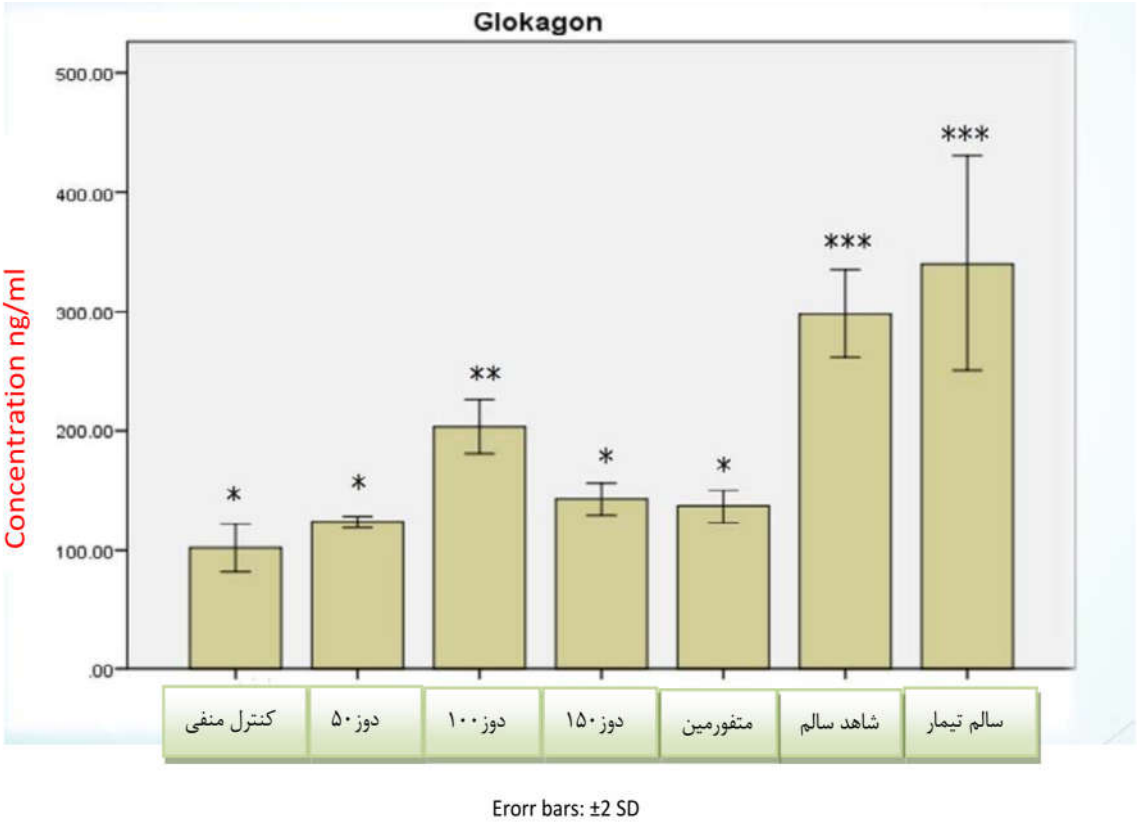
این نتایج نشان داد که میزان بیان ژن NeuroD1 در گروه سالم دریافت کننده دوز ۱۵۰ mg/kg سیلی‌مارین (G) نسبت به گروه سالم شاهد (A) کمی افزایش یافته ولی این افزایش بیان معنی‌دار نبود (P-Value= ۰/۹۴۶)

نتایج کلی سنجش مقادیر گلوکاگون

میانگین مقادیر پلاسمایی گلوکاگون برحسب نانوگرم/میلی‌لیتر بود و با سطح معنی‌داری (p<۰/۰۱) گزارش شد. آنالیز آماری داده‌ها در گلوکاگون نشان داد که دوز۱۰۰، رت‌های سالم و تیمار با کنترل منفی ارتباط معنی‌داری دارد، رت‌های دریافت کننده دوز۵۰ و متفورمین، ۱۵۰ ارتباط معنی‌داری با کنترل منفی ندارد (نمودار ۵).

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]



نمودار ۵- تغییرها در سطوح پلاسمایی گلوکاگون در رت‌ها

*وجود تعداد ستاره‌های متفاوت نشان‌دهنده وجود گروه‌های معنی‌دار است (P-Value< ۰/۰۵).

بحث

علت اصلی دیابت آن است که در بدن یا انسولین ساخته نمی-شود و یا این که مقدار آن به‌قدری ناچیز است که نیازهای بدن را برآورده نمی‌سازد. در دیابت نوع I سلول‌های بتا پانکراس که انسولین ترشح می‌کنند تخریب شده. در نتیجه انسولین ساخته نمی‌شود و در جریان خون وجود ندارد یا مقدار آن بسیار کم است در حال حاضر بیماران مبتلا به دیابت نوع یک با تزریق روزانه انسولین، قند خود را کنترل می‌کند (۱۶).

که در این مطالعه از عصاره دانه خار مریم که حاوی ترکیب-های شیمیایی متعدد شامل چندین لیگنان فلاونوئیدی است که در مجموع به آن سیلی‌مارین می‌گویند که دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی است، استفاده شد. سیلی‌مارین به-خاطر اثرهای آنتی‌اکسیدانی از تخریب سلول‌های سازنده انسولین جلوگیری و سبب بهبود بافت آسیب دیده پانکراس می‌شود. در تأیید این نظریه، مطالعات تجربی و کلینیکی متعدد نشان داده‌اند ترکیب‌های دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان دارای اثرهای مطلوبی بر روی اختلال‌های متابولیکی ناشی از افزایش قند خون دارند. گیاه خار مریم باعث افزایش عملکرد آنزیم‌های دفع کننده رادیکال‌های آزاد در کبد می‌شود. این آنزیم‌ها شامل سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالازها است (۱۹،۱۸).

سیلی‌مارین یک ترکیب فلاونوئیدی و دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی است که اثرهای محافظتی آن بر روی پراکسیداسیون اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۲۰). پیش‌تر نشان داده شده است که سیلی‌مارین مانع از افزایش گلوکز پلاسما و پراکسیداسیون لیپید پانکراس در دیابت ناشی از آلوکسان در موش صحرایی است (۲۱-۲۳). علاوه‌بر این مکانیسم‌های محافظت کننده از سیلی‌مارین شامل تعدادی از

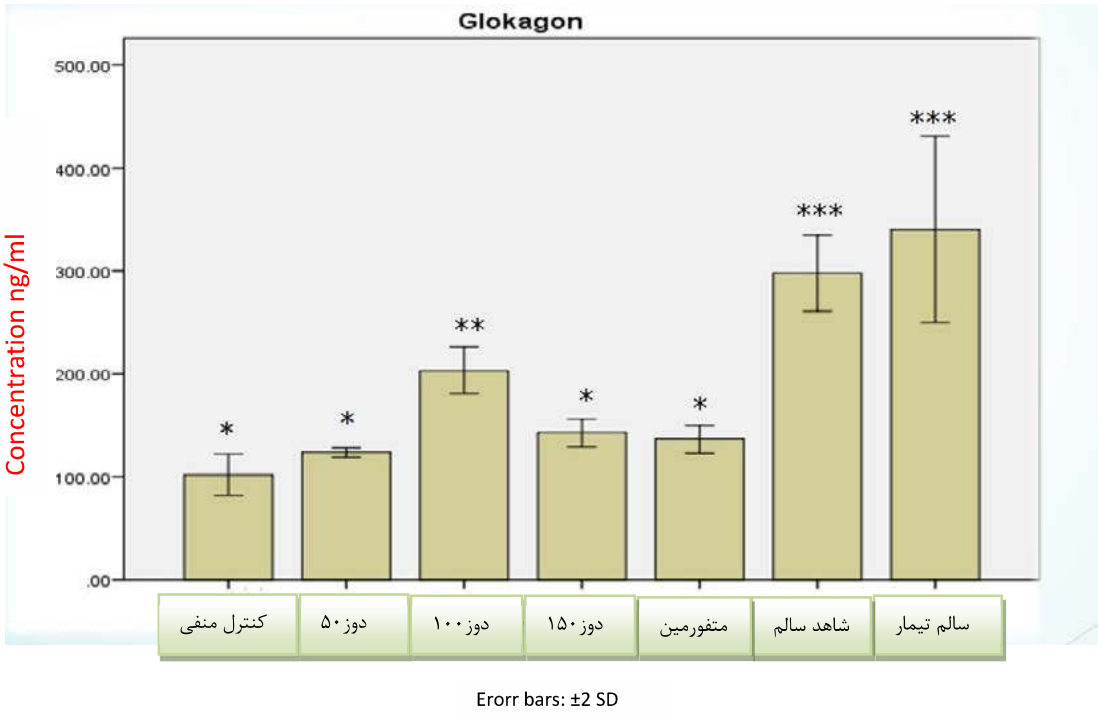
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

وقایع مختلف بیوشیمیایی است. نشان داده شده است که سیلی‌مارین از طریق تحریک پلی‌مراز I و رونویسی rRNA سنتز RNA ریبوزومی (rRNA) را افزایش می‌دهد (۲۴-۲۶). saitoh و همکاران در سال ۲۰۰۷با بررسی سلول‌ها بنیادی جنینی و تمایز آن‌ها به سلول‌های انسولین‌ساز به این نتیجه رسیدند که بیان همزمان PDX-1 و Neurod-1 منجر به تبدیل سلول‌های بنیادی جنینی به سلول‌های انسولین‌ساز می‌شود (۲۷). valenzuela و همکاران نیز در تحقیقی دیگر به این نتیجه رسیدند که از این رو سیلی‌مارین که یک آنتی-اکسیدان قوی است باعث کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود و اثرهای دفاعی زیادی برای بدن دارد هم‌چنین گلوتاتیون را کاهش می‌دهد (۲۸). soto و همکاران در تحقیقی دیگر در سال ۲۰۰۳ نشان دادن سیلی‌مارین باعث افزایش فعالیت پانکراسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود: و افزایش گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود، این آنزیم‌ها باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد و سموم حاصل از استرپتوزوتوسین می‌شود (۱۶). سلول‌های انسولین ساز با بیان مداوم این ژن در سلول‌های بنیادی جنینی توسط Blyszczuk و همکاران تولید شدند. آن‌ها تلاش کردند تا نشان دهند با استفاده از روش ساده ترانسفکشن ژن Pax4 می‌توان سلول‌های بنیادی جنینی را به سلول‌های انسولین‌ساز تمایز داد. در این روش آن‌ها ابتدا اجسام جنینی را از سلول-های بنیادی جنین به‌وجود آوردند و سپس از اجسام جنینی به‌وجود آمده سلول‌های منفرد را برای ترانسفکت ژن Pax4 جداسازی کردند. سلول‌های بنیادی جنینی ترانسفکت شده بعد از چهار روز به سلول‌های ترشح کننده انسولین تمایز یافتند. در طی این مدتی که اجسام شبه جنینی به‌صورت قطره‌های آویزان هستند ژن‌های مخصوص آندودرم در آن‌ها بیان می‌شوند (۲۹). در تحقیق ما هم بیان ژن Pax4 به‌وسیله داروی سیلی‌مارین افزایش یافته که این نتایج بیانگر است که سیلی‌مارین باعث ترمیم و افزایش سلول‌های جزایر به‌واسطه پیش‌سازهای آن‌ها می‌شود. collombat و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مقاله‌ای تحت عنوان بیان بیش از حد ژن Pax4 در پانکراس موش و تبدیل سلول‌های بنیادین به سلول‌های آلفا و پس از آن به سلول‌های بتا به این نتیجه رسیدند که بیان نابجا و بیش ازحد ژن Pax4 بر پانکراس در حال تکوین موش‌های تراریخته منجر به پیدایش جزایر لانگرهانس بزرگ می‌شود که این جزایر به‌طور عمده از سلول‌های بتا تشکیل شده‌اند (۳۰). این نتایج نشان دهنده این است که بیان این ژن باعث افزایش سلول‌های بتا و آلفا می‌شود که نتایج به‌دست آمده از الایزا ما هم گویای این نتیجه است. soto و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای تحت عنوان اثر سیلی‌مارین در بیان ژن Pdx-1 و گسترش سلول‌های بتای پانکراس در یک مدل پانکراتومی که توسط soto و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی ۷۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار انجام شد، به این نتیجه رسیدند که ممکن است سیلی-مارین تکثیر سلول‌های تولیدکننده انسولین را افزایش دهد (۳۱). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق گویایی تأثیر سیلی‌مارین بر بهبود سلول‌های تخریب شده بافت پانکراس و هم‌چنین افزایش معنی‌دار بیان ژن Neuro D1 و افزایش وزن رت‌ها و کاهش قند خون افزایش گلوکاگون خون در رت‌های تیمار با دوزهای مختلف سیلی-مارین نسبت‌به گروه کنترل منفی شده است. از سوی دیگر collombat و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی نقش Mafa در سلول‌های بتا پانکراس دریافتند که بیان ژن Mafa همراه با ژن PDX-1 و Neuro D1 به‌طور قابل توجهی باعث بیوسنتز انسولین می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که این ژن‌ها نقش بسیار مهمی در سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس دارند و می‌توانند یک هدف درمانی جدید برای دیابت باشد (۳۰). با توجه‌به نتایج به‌دست آمده بیان ژن NeuroD1 قبل از ایجاد دیابت در همه گروه‌ها بیان داشته و پس از ایجاد دیابت درگروه‌های بیمار به‌شدت افت پیدا کرده و بعد از استفاده از داروهای سیلی‌مارین و متفورمین تا حدودی این کاهش بیان جبران شده است. هم‌چنین میزان بیان این ژن در گروه شاهد دیابتی (B) که دارویی دریافت نکرده است بسیار افت پیدا کرده و نسبت‌به گروه سالم شاهد (A) نتایج معنی‌دار است. در نهایت zhao و همکاران در سال ۲۰۱۶ با بررسی تأثیر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]



نمودار ۵- تغییرها در سطوح پلاسمایی گلوکاگون در رت‌ها

*وجود تعداد ستاره‌های متفاوت نشان‌دهنده وجود گروه‌های معنی‌دار است (P-Value< ۰/۰۵).

بحث

علت اصلی دیابت آن است که در بدن یا انسولین ساخته نمی-شود و یا این که مقدار آن به‌قدری ناچیز است که نیازهای بدن را برآورده نمی‌سازد. در دیابت نوع I سلول‌های بتا پانکراس که انسولین ترشح می‌کنند تخریب شده. در نتیجه انسولین ساخته نمی‌شود و در جریان خون وجود ندارد یا مقدار آن بسیار کم است در حال حاضر بیماران مبتلا به دیابت نوع یک با تزریق روزانه انسولین، قند خود را کنترل می‌کند (۱۶).

که در این مطالعه از عصاره دانه خار مریم که حاوی ترکیب-های شیمیایی متعدد شامل چندین لیگنان فلاونوئیدی است که در مجموع به آن سیلی‌مارین می‌گویند که دارای قدرت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی است، استفاده شد. سیلی‌مارین به-خاطر اثرهای آنتی‌اکسیدانی از تخریب سلول‌های سازنده انسولین جلوگیری و سبب بهبود بافت آسیب دیده پانکراس می‌شود. در تأیید این نظریه، مطالعات تجربی و کلینیکی متعدد نشان داده‌اند ترکیب‌های دارای خاصیت آنتی‌اکسیدان دارای اثرهای مطلوبی بر روی اختلال‌های متابولیکی ناشی از افزایش قند خون دارند. گیاه خار مریم باعث افزایش عملکرد آنزیم‌های دفع کننده رادیکال‌های آزاد در کبد می‌شود. این آنزیم‌ها شامل سوپر اکسید دسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالازها است (۱۹،۱۸).

سیلی‌مارین یک ترکیب فلاونوئیدی و دارای خاصیت آنتی-اکسیدانی است که اثرهای محافظتی آن بر روی پراکسیداسیون اکسیداتیو به اثبات رسیده است (۲۰). پیش‌تر نشان داده شده است که سیلی‌مارین مانع از افزایش گلوکز پلاسما و پراکسیداسیون لیپید پانکراس در دیابت ناشی از آلوکسان در موش صحرایی است (۲۱-۲۳). علاوه‌بر این مکانیسم‌های محافظت کننده از سیلی‌مارین شامل تعدادی از

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

وقایع مختلف بیوشیمیایی است. نشان داده شده است که سیلی‌مارین از طریق تحریک پلی‌مراز I و رونویسی rRNA سنتز RNA ریبوزومی (rRNA) را افزایش می‌دهد (۲۴-۲۶). saitoh و همکاران در سال ۲۰۰۷با بررسی سلول‌ها بنیادی جنینی و تمایز آن‌ها به سلول‌های انسولین‌ساز به این نتیجه رسیدند که بیان هم‌زمان PDX-1 و Neurod-1 منجر به تبدیل سلول‌های بنیادی جنینی به سلول‌های انسولین‌ساز می‌شود (۲۷). valenzuela و همکاران نیز در تحقیقی دیگر به این نتیجه رسیدند که از این رو سیلی‌مارین که یک آنتی-اکسیدان قوی است باعث کاهش رادیکال‌های آزاد می‌شود و اثرهای دفاعی زیادی برای بدن دارد هم‌چنین گلوتاتیون را کاهش می‌دهد (۲۸). soto و همکاران در تحقیقی دیگر در سال ۲۰۰۳ نشان دادن سیلی‌مارین باعث افزایش فعالیت پانکراسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود: و افزایش گلوتاتیون پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز می‌شود، این آنزیم‌ها باعث از بین رفتن رادیکال‌های آزاد و سموم حاصل از استرپتوزوتوسین می‌شود (۱۶). سلول‌های انسولین ساز با بیان مداوم این ژن در سلول‌های بنیادی جنینی توسط Blyszczuk و همکاران تولید شدند. آن‌ها تلاش کردند تا نشان دهند با استفاده از روش ساده ترانسفکشن ژن Pax4 می‌توان سلول‌های بنیادی جنینی را به سلول‌های انسولین‌ساز تمایز داد. در این روش آن‌ها ابتدا اجسام جنینی را از سلول-های بنیادی جنین به‌وجود آوردند و سپس از اجسام جنینی به‌وجود آمده سلول‌های منفرد را برای ترانسفکت ژن Pax4 جداسازی کردند. سلول‌های بنیادی جنینی ترانسفکت شده بعد از چهار روز به سلول‌های ترشح کننده انسولین تمایز یافتند. در طی این مدتی که اجسام شبه جنینی به‌صورت قطره‌های آویزان هستند ژن‌های مخصوص آندودرم در آن‌ها بیان می‌شوند (۲۹). در تحقیق ما هم بیان ژن Pax4 به‌وسیله داروی سیلی‌مارین افزایش یافته که این نتایج بیانگر است که سیلی‌مارین باعث ترمیم و افزایش سلول‌های جزایر به‌واسطه پیش‌سازهای آن‌ها می‌شود. collombat و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مقاله‌ای تحت عنوان بیان بیش از حد ژن Pax4 در پانکراس موش و تبدیل سلول‌های بنیادین به سلول‌های آلفا و پس از آن به سلول‌های بتا به این نتیجه رسیدند که بیان نابجا و بیش ازحد ژن Pax4 بر پانکراس در حال تکوین موش‌های تراریخته منجر به پیدایش جزایر لانگرهانس بزرگ می‌شود که این جزایر به‌طور عمده از سلول‌های بتا تشکیل شده‌اند (۳۰). این نتایج نشان دهنده این است که بیان این ژن باعث افزایش سلول‌های بتا و آلفا می‌شود که نتایج به‌دست آمده از الایزا ما هم گویای این نتیجه است. soto و همکاران در سال ۲۰۱۴ در مطالعه‌ای تحت عنوان اثر سیلی‌مارین در بیان ژن Pdx-1 و گسترش سلول‌های بتای پانکراس در یک مدل پانکراتومی که توسط soto و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی ۷۲ سر موش صحرایی نژاد ویستار انجام شد، به این نتیجه رسیدند که ممکن است سیلی-مارین تکثیر سلول‌های تولیدکننده انسولین را افزایش دهد (۳۱). نتایج به‌دست آمده از این تحقیق گویایی تأثیر سیلی‌مارین بر بهبود سلول‌های تخریب شده بافت پانکراس و هم‌چنین افزایش معنی‌دار بیان ژن Neuro D1 و افزایش وزن رت‌ها و کاهش قند خون افزایش گلوکاگون خون در رت‌های تیمار با دوزهای مختلف سیلی-مارین نسبت‌به گروه کنترل منفی شده است. از سوی دیگر collombat و همکاران در سال ۲۰۰۹ با بررسی نقش Mafa در سلول‌های بتا پانکراس دریافتند که بیان ژن Mafa همراه با ژن PDX-1 و Neuro D1 به‌طور قابل توجهی باعث بیوسنتز انسولین می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که این ژن‌ها نقش بسیار مهمی در سلول‌های جزایر لانگرهانس پانکراس دارند و می‌توانند یک هدف درمانی جدید برای دیابت باشد (۳۰). با توجه‌به نتایج به‌دست آمده بیان ژن NeuroD1 قبل از ایجاد دیابت در همه گروه‌ها بیان داشته و پس از ایجاد دیابت درگروه‌های بیمار به‌شدت افت پیدا کرده و بعد از استفاده از داروهای سیلی‌مارین و متفورمین تا حدودی این کاهش بیان جبران شده است. هم‌چنین میزان بیان این ژن در گروه شاهد دیابتی (B) که دارویی دریافت نکرده است بسیار افت پیدا کرده و نسبت‌به گروه سالم شاهد (A) نتایج معنی‌دار است. در نهایت zhao و همکاران در سال ۲۰۱۶ با بررسی تأثیر

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

اکستانید-۴ بر بیان Neurod-1 و Glut-2 در سلول‌های تولیدکننده انسولین مشتق از سلول‌های بنیادی جنینی در موش به این نتیجه رسیدند که اکستانید-۴ به‌طور قابل‌توجهی رونویسی ژن Neurod1 و Glut2 را تسهیل کرد و قادر به ایجاد تمایز سلول‌های بنیادی جنینی به سلول‌های تولیدکننده اندوکرین و انسولین شد (۳۲). نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از آن بود که سیلی مارین باعث بهبود بافت پانکراس و بیان ژن Neuro D1 و در نتیجه باعث افزایش سطح گلوکاگون می شود.

نتیجه‌گیری

نتیجه‌گیری در این تحقیق نشان داده شد که سیلی‌مارین باعث بهبود بافت پانکراس و بیان ژن Neuro D1 و در نتیجه باعث افزایش سطح گلوکاگون می‌شود. نتایج به‌دست آمده از این تحقیق گویایی تأثیر سیلی‌مارین بر بهبود سلول‌های تخریب شده بافت پانکراس و هم‌چنین افزایش معنی‌دار بیان ژن Neuro D1 و افزایش وزن رت‌ها و کاهش قند خون افزایش گلوکاگون خون در رت‌های تیمار با دوزهای مختلف سیلی‌مارین نسبت‌به گروه کنترل منفی شده است. در نتیجه شواهد ارائه شده در این تحقیق حاکی از آن است که سیلی‌مارین نه‌تنها باعث کاهش دیابت ایجاد شده با استرپتوزتوزسین می‌شود بلکه باعث بهبودی پانکراس و بازگرداندن آن به عملکرد طبیعی اش نیز می‌شود.

سپاسگزاری

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد و تحت حمایت معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد شهرکرد است و مؤلفین این تحقیق مراتب سپاس خود را نسبت‌به معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که امکان اجرای این طرح را فراهم کردند، ابراز می‌دارند.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

منابع

1. Sobolová L, Škottová N, Večeřa R, Urbánek K. Effect of silymarin and its polyphenolic fraction on cholesterol absorption in rats. Pharma research. 2006;53(2):104-12.

2. Das-Munshi J, Stewart R, Ismail K, Bebbington PE, Jenkins R, Prince MJ. Diabetes, common mental disorders, and disability: findings from the UK National Psychiatric Morbidity Survey. Psychosom med. 2007;69(6):543-50.

3. Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. Nature. 2007;450(7170):712.

4. Sharifirad G, Kamran A, Entezari M. The effect of diabetic diet education on FBS and BMI of patients with type II diabetes mellitus. J Ardabil University Med Sciences. 2007;7(4):375-80.

5. Schlachterman A, Forsmark CE. Pancreatic function testing for the early diagnosis of chronic pancreatitis. Gastrointestinal endo. 2017;86(6):1056-8.

6. Hao L, Wang L-S, Liu Y, Wang T, Guo H-L, Pan J, et al. The different course of alcoholic and idiopathic chronic pancreatitis: A long-term study of 2,037 patients. PloS one. 2018;13(6):e0198365.

7. Pinent M, Castell A, Baiges I, Montagut G, Arola L, Ardévol A. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2008;7(4):299-308.

8. Turrell G, Hewitt B, Patterson C, Oldenburg B, Gould T. Socioeconomic differences in food purchasing behaviour and suggested implications for diet-related health promotion. J Human Nutrition Dietetics. 2002;15(5):355-64.

9. Schwitzgebel VM. Programming of the pancreas. Molecular cellular Endo. 2001;185(1-2):99-108.

10. Zhu Y, Li Y, Dai C, Sun L, You L, De W, et al. Inhibition of Lincpint expression affects insulin secretion and apoptosis in mouse pancreatic β cells. internati j biochem cell biology. 2018;104171-9.

11. Meusel L-AC, Kansal N, Tchistiakova E, Yuen W, MacIntosh BJ, Greenwood CE, et al. A systematic review of type 2 diabetes mellitus and hypertension in imaging studies of cognitive aging: time to establish new norms. Frontiers in aging neuroscience. 2014;6148.

12. Sandovici I, Hammerle CM, Ozanne SE, Constância M. Developmental and environmental epigenetic programming of the endocrine pancreas: consequences for type 2 diabetes. Cell Molecular Life Sciences. 2013;70(9):1575-95.

13. Voroneanu L, Nistor I, Dumea R, Apetrii M, Covic A. Silymarin in type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J diabetes research. 2016;2016.

14. Sakai I, Izumi S-i, Murano T, Okuwaki S, Makino T, Suzuki T. Presence of aldose reductase inhibitors in tea leaves. Japanese J Pharmacology. 2001;85(3):322-6.

15. Velussi M, Cernigoi AM, Dapas F, Caffau C, Zilli M. Long-term (23 months) treatment with an anti-oxidant drug (silymarin) is effective on hyperinsulinemia, exogenous insulin need and malondialdehyde levels in cirrhotic diabetic patients. J hepatology. 1997;26(4):871-9.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

16. Soto C, Recoba R, Barron H, Alvarez C, Favari L. Silymarin increases antioxidant enzymes in alloxan-induced diabetes in rat pancreas. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology. 2003;136(3):205-12.

17. Hosseinpour Feizi M, Saed S, Babaei E, Montazeri V, Halimi M. Evaluation of Nucleostemin Gene Expression as a New Molecular Marker in Breast Tumors. J Kerman Uni Med Sciences. 2012;19(2).

18. Abenavoli L, Capasso R, Milic N, Capasso F. Milk thistle in liver diseases: past, present, future. Phytotherapy Research. 2010;24(10):1423-32.

19. Soto C, Raya L, Pérez J, González I, Pérez S. Silymarin induces expression of pancreatic Nkx6. 1 transcription factor and β-cells neogenesis in a pancreatectomy model. Molecules. 2014;19(4):4654-68.

20. Tuorkey MJ, El-Desouki NI, Kamel RA. Cytoprotective effect of silymarin against diabetes-induced cardiomyocyte apoptosis in diabetic rats. Biomedical and Environmental Sciences. 2015;28(1):36-43.

21. Stolf AM, Cardoso CC, Acco A. Effects of silymarin on diabetes mellitus complications: a review. Phytotherapy research. 2017;31(3):366-74.

22. Rahimi R, Karimi J, Khodadadi I, Tayebinia H, Kheiripour N, Hashemnia M, et al. Silymarin ameliorates expression of urotensin II (U-II) and its receptor (UTR) and attenuates toxic oxidative stress in the heart of rats with type 2 diabetes. Biomedicine Pharmacotherapy. 2018;101244-50.

23. Pradhan S, Girish C. Hepatoprotective herbal drug, silymarin from experimental pharmacology to clinical medicine. Indian J Med Research. 2006;124(5):491-504.

24. Comelli MC, Mengs U, Schneider C, Prosdocimi M. Toward the definition of the mechanism of action of silymarin: activities related to cellular protection from toxic damage induced by chemotherapy. Integrative cancer therapies. 2007;6(2):120-9.

25. Katiyar SK, Mantena SK, Meeran SM. Silymarin protects epidermal keratinocytes from ultraviolet radiation-induced apoptosis and DNA damage by nucleotide excision repair mechanism. PloS one. 2011;6(6):e21410.

26. Lettéron P, Labbe G, Degott C, Berson A, Fromenty B, Delaforge M, et al. Mechanism for the protective effects of silymarin against carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation and hepatotoxicity in mice: evidence that silymarin acts both as an inhibitor of metabolic activation and as a chain-breaking antioxidant. Biochem pharmacol. 1990;39(12):2027-34.

27. Saitoh K, Yamato E, Miyazaki S, Miyazaki J-I. Both Pdx-1 and NeuroD1 genes are requisite for the maintenance of insulin gene expression in ES-derived differentiated cells. Diabetes research clinical practice. 2007;77(3):S138-S42.

28. Valenzuela A, Aspillaga M, Vial S, Guerra R. Selectivity of silymarin on the increase of the glutathione content in different tissues of the rat. Planta medica. 1989;55(05):420-2.

29. Blyszczuk P, Czyz J, Kania G, Wagner M, Roll U, St-Onge L, et al. Expression of Pax4 in embryonic stem cells promotes differentiation of nestin-positive progenitor and insulin-producing cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 2003;100(3):998-1003.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]

). Collombat P, Xu X, Ravassard P, Sosa-Pineda B, Dussaud S, Billestrup N, et al. The ectopic expression ` Pax4 in the mouse pancreas converts progenitor cells into α and subsequently β cells. Cell.)09;138(3):449-62.

. Soto C, Raya L, Juárez J, Pérez J, González I. Effect of Silymarin in Pdx-1 expression and the oliferation of pancreatic β-cells in a pancreatectomy model. Phytomedicine. 2014;21(3):233-9.

'. Zhao Q, Yang Y, Hu J, Shan Z, Wu Y, Lei L. Exendin-4 enhances expression of Neurod1 and Glut2 in sulin-producing cells derived from mouse embryonic stem cells. Archives medical science: AMS.)16;12(1):199.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2025-07-05]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1399.10.38.3.8]