

The Preprotective effects of Okra Powder (*Abelmoschus esculentus*) on Histological and Histochemical Changes of Pancreatic Beta Cells and Liver Tissue of Diabetic Rat

Erfani Majd N*¹, Soleimani Z¹, Shahriari A², Tabandeh MR²

1. Department of Basic Sciences, Histology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

2. Department of Basic Sciences, Biochemistry and Molecular Biology Section, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

*Corresponding author. Tel: +989161184875, Fax: +98 6133360807, E-mail: naemalbo@yahoo.com

Received: Nov 15, 2016

Accepted: Jan 29, 2017

ABSTRACT

Background and Objective: Since *Abelmoschus esculentus* plant has many medical benefits, the present study aimed to investigate the therapeutic effects of Okra Powder (*Abelmoschus esculentus*) against high-fat diet fed-streptozotocin (HFD/STZ)-induced diabetic rats.

Methods: In this experimental study, 25 Wistar Albino female rats were randomly divided into 5 groups: I: control group; II: healthy rats receiving *A. esculentus* (200 mg/kg); III (HFD/STZ group): Rats fed with high-fat diet (HFD) (60% fat) for 4 weeks and then injected low-dose STZ (35 mg/kg); IV: diabetic rats receiving *A. esculentus* (200mg/kg) and V: diabetic rats receiving metformin (200 mg/kg). At the end of experiment, biochemical parameters, including Fasting Blood Glucose (FBG), insulin levels, Homa-IR index, ALT, AST and lipid profile were measured. Pancreas and Liver samples were removed, and 5-6 μ sections were prepared and stained by H&E and aldehyde fuchsin staining.

Results: All the biochemical parameters, except HDL-C and insulin, were increased in diabetic rats, while these parameters were decreased in Okra supplementation group compared to diabetic rats ($p < 0.05$). Furthermore, Okra improved the histological impairments of pancreas and liver, including vacuolization, and decrease of β -cells as well as hypertrophy and vacuolization of hepatocytes in diabetic rats.

Conclusion: Okra powder improved biochemical parameters, liver structure and restoration of beta cells of pancreas in diabetic rats. Thus, it can be considered a complementary therapy to improve diabetic patients.

Keyword: Diabetes; Histomorphometry; Liver; Beta cells; Okra.

اثرات محافظتی پودر بامیه (*Abelmoschus esculentus*) بر تغییرات هیستومتری و هیستوشیمیایی سلول‌های بتای پانکراس و بافت کبد موش صحرایی دیابتی

نعیم عرفانی مجد^{۱*}، زهرا سلیمانی^۱، علی شهریار^۲، محمدرضا تابنده^۲

۱. گروه علوم پایه، بخش بافت شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز، اهواز، ایران
 ۲. گروه علوم پایه، بخش بیوشیمی و بیولوژی مولکولی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران اهواز، اهواز، ایران
 * نویسنده مسئول. تلفن: ۰۹۱۶۱۱۸۴۸۷۵ فاکس: ۰۶۱۳۳۳۶۰۸۰۷ پست الکترونیک: naeemalbo@yahoo.com

چکیده

زمینه و هدف: از آنجایی که گیاه بامیه دارای خواص دارویی زیادی است، مطالعه حاضر با هدف ارزیابی اثرات درمانی پودر بامیه در موش‌های دیابتی مدل حیره پرچرب همراه با تزریق استرپتوزتوسین^۱ انجام شد.

روش کار: در این مطالعه تجربی ۲۵ سر موش صحرایی ماده با نژاد ویستار به طور تصادفی به ۵ گروه تقسیم شدند: ۱. گروه کنترل؛ ۲. موش‌های سالم دریافت کننده بامیه (۲۰۰ mg/kg)؛ ۳. گروه دیابتی (HFD/STZ)؛ موش‌هایی که با رژیم چاقی با چربی بالا (۶۰٪) به مدت ۸ هفته تغذیه شده و سپس دوز پایینی از استرپتوزتوسین (۳۵ mg/kg) تزریق شد؛ ۴. موش‌های دیابتی دریافت کننده بامیه (۲۰۰ mg/kg)؛ ۵. موش‌های دیابتی تیمار شده با متفورمین (۲۰۰ mg/kg). در پایان آزمایش پارامترهای بیوشیمیایی شامل قند خون ناشتا، سطوح انسولین، شاخص AST، ALT، Homa-IR، و پروفایل لیپیدی اندازه‌گیری شدند. نمونه‌های پانکراس و کبد برداشته شد و برش‌های ۶-۵ میکرومتری تهیه و با H&E و آلدئید فوشین رنگ آمیزی شدند.

یافته‌ها: همه پارامترهای بیوشیمیایی به جز HDL-C و انسولین در موش‌های دیابتی در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافته بود. در حالی که در گروه دریافت کننده پودر بامیه، این پارامترها در مقایسه با گروه دیابتی کاهش یافته بودند. همچنین بامیه سبب بهبود آسیب‌های بافتی پانکراس و کبد شامل واکوئوله شدن و کاهش سلول‌های بتا و هیپرتروفی و واکوئوله شدن هیاتوسیت‌ها در موش‌های دیابتی گردید.

نتیجه‌گیری: پودر بامیه سبب بهبود پارامترهای بیوشیمیایی، ساختار کبد و بازسازی سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های دیابتی گردید و لذا می‌تواند به عنوان یک روش درمانی مکمل در بهبود وضعیت بیماران دیابتی مد نظر قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: دیابت، هیستومورفومتری، کبد، سلول بتا، بامیه

پذیرش: ۱۳۹۵/۱۱/۱۰

دریافت: ۱۳۹۵/۰۸/۲۵

مقدمه

نشان داده‌اند که افزایش اسیدهای چرب، سبب آپوپتوز سلول‌های بتا می‌گردد. از طرف دیگر زمانی که سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس به مدت طولانی در معرض غلظت‌های بالای گلوکز قرار بگیرند، ظرفیت تکثیر و بازسازی آنها، مهار می‌شود [۲]. با توجه به نقش پاتوفیزیولوژی سلول‌های بتا در

دیابت نوع ۲ و چاقی از مهمترین بیماری‌های متابولیکی و اندوکرینی هستند که با هیپرگلیسمی و اختلال در ترشح و عملکرد انسولین (مقاومت انسولینی) همراه می‌باشند [۱]. مطالعات متعددی

^۱ HFD/STZ

پیشرفت دیابت نوع ۲، اهمیت بررسی دقیق این سلول‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد. دو نوع مدل دیابتی وجود دارد که شامل مدل ژنتیکی و مدل دیابت تجربی است. یک نمونه از مدل‌های دیابت تجربی، مدل HFD/STZ در موش صحرایی است [۳]. این مدل ترکیبی از یک رژیم غذایی با چربی بالا و مواد قندی و همچنین تزریق یک دوز مشخصی از STZ می‌باشد که در این مدل به ترتیب رژیم غذایی برای ایجاد هیپرانسولینمی، مقاومت انسولینی و یا عدم تحمل گلوکز و تزریق STZ برای کاهش شدید سلول‌های بتا ضروری هستند [۴]. پانکراس ارگانی است که به میزان زیادی در تنظیم متابولیسم مواد مغذی درگیر است. مطالعات متعددی نشان داده‌اند که بعد از فقدان توده سلول‌های بتای پانکراس به سبب دیابت، تولید مجدد این سلول‌ها می‌تواند اتفاق بیفتد [۵]. بنابراین مطالعه بر روی ساز و کارهایی که می‌توانند سبب بازسازی و ترمیم سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس شوند، یک گام مهم در توسعه استراتژی مؤثر در درمان دیابت است [۶]. کبد یک اندام پیچیده و بزرگ است که نقش اصلی آن طراحی و مدیریت متابولیسم کربوهیدرات، چربی و پروتئین است. آنزیم‌های سرمی آلانین آمینو ترانسفراز^۱ و آسپارات آمینو ترانسفراز^۲ مارکرهای شناخته شده‌ای هستند که به هنگام آسیب کبدی سطوحشان در سرم خون افزایش می‌یابد. استفاده از محصولات داروهای گیاهی و مکمل‌ها برای درمان بیماری دیابت در دهه‌های اخیر به سرعت در حال افزایش است. بامیه^۳ (اکرا) یک گیاه ناحیه گرمسیری (استوایی)، است. بامیه (اکرا) غنی از ترکیبات فلاونوئیدی است [۷] و به واسطه داشتن ذخایر کربوهیدراتی، مواد معدنی و ویتامین‌ها نقش مهمی را در رژیم غذایی انسان بازی می‌کند.

حمیدوزمان^۴ و همکاران اثرات هایپوگلیسمی عصاره متانولی بامیه را گزارش کردند [۸]. همچنین فان^۵ و همکاران با بررسی عصاره اکرا در موش‌های دیابتی متعاقب رژیم چاقی دریافتند که عصاره اکرا بی‌نظمی‌های متابولیک را بهبود می‌بخشد [۹]. علیرغم اینکه گزارشاتی در خصوص اثرات گیاه بامیه بر روی کاهش قند خون و پروفایل چربی موجود می‌باشد، لیکن مکانیسم‌های اثر آن از طریق بازسازی ساختار بافتی در دسترس نمی‌باشد و تاکنون گزارشی مبنی بر اثرات محافظتی پودر بامیه بر روی تغییرات هیستوشیمیایی و هیستومورفومتری سلول‌های بتای پانکراس و جزایر لانگرهانس متعاقب دیابت نوع ۲ مشاهده نشده است. با توجه به فعالیت‌های هیپوگلیسمی و هیپولیپیدمی این گیاه در کاهش قند خون، انتظار می‌رود در این مطالعه، گیاه بامیه با بهبود پروفایل بیوشیمیایی و همچنین ساختار هیستومورفومتری بافت پانکراس و کبد در موش‌های دیابتی با مدل HFD/STZ، در بهبود دیابت نوع ۲ مؤثر باشد.

روش کار

روش تهیه پودر بامیه

گیاه بامیه در مهر ماه سال ۱۳۹۳ از مزارع زیر کشت این گیاه در مزارع اطراف اهواز تهیه گردید. جنس و گونه گیاه در بخش گیاه‌شناسی دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز مورد تایید قرار گرفت. جهت تهیه پودر بامیه، در ابتدا میوه بامیه تهیه شده با آب شستشو و بلافاصله در سایه خشک گردید. پس از خشک شدن، گیاه توسط آسیاب برقی به خوبی پودر شد.

⁴ Hamiduzzaman

⁵ Fan

¹ ALT

² AST

³ *Abelmoscus esculentus*

القاء دیابت نوع ۲ (HFD/STZ)

برای القاء دیابت نوع ۲، موش‌های مورد مطالعه در گروه‌های ۳، تا ۵ به مدت چهار هفته با رژیم غذایی با چربی بالا^۵ شامل (۶۰٪ چربی حیوانی گوشت گاو) تغذیه شدند [۱۵]. سپس دوز پایینی از STZ (۳۵mg/kg وزن بدن) به صورت داخل سیاهرگی به موش‌ها تزریق شد. لازم به ذکر است که چربی مورد استفاده در این رژیم غذایی، در ابتدا به قطعات بسیار کوچک تبدیل شده و سپس بر روی حرارت ملایم قرار گرفتند و ذوب شدند و در نهایت با غذای استاندارد موش (پلت) که حاوی (۵۶٪ کربوهیدرات، ۱۸/۵٪ پروتئین، ۸٪ چربی، ۱۲٪ فیبر، مواد معدنی و ویتامین به میزان کافی) بود، مخلوط گردید. ۵ روز پس از تزریق استرپتوزوتوسین قند خون ناشتا در موش‌ها با استفاده از گلوکومتر اندازه‌گیری شده و موش‌های دارای قند خون ناشتای بالای ۱۵۰mg/dl به عنوان دیابتی محسوب شدند.

خون‌گیری و آزمایش‌های بیوشیمیایی

پس از اتمام دوره تیمار، موش‌ها با رعایت ملاحظات اخلاقی با کلروفرم بی‌هوش شدند. سپس از قلب موش‌های صحرایی خون‌گیری به عمل آمد. بررسی فعالیت‌های سرمی آنزیم‌های کبدی AST و ALT، سطوح انسولین سرم و پروفایل لیپیدی شامل تری‌گلیسیرید، کلسترول، لیپوپروتئین با چگالی پایین، لیپوپروتئین با چگالی خلی پایین و لیپوپروتئین با چگالی بالا با استفاده از کیت آنزیمی پارس آزمون و دستگاه میکروپلیت بیوتک اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری سطوح سرمی انسولین پلاسما با استفاده از کیت (Koma Biotech INC, SOUT Korea) و دستگاه میکروپلیت بیوتک انجام شد. همچنین شاخص مقاومت به انسولین HOMA-IR با استفاده از فرمول $[۲۲/۵] / \text{گلوکز ناشتا (میلی مول بر لیتر)} \times$

تعیین محتوای فلاونوئیدی^۱ و فنولی^۲ پودر بامیه

تعیین محتوای فلاونوئیدی با استفاده از روش پیشنهاد شده توسط هانگ^۳ و با تغییرات جزئی انجام شد [۱۰]. برای اندازه‌گیری محتوای فنولی از روش معرف فولین‌سیو کالچو^۴ با تغییرات جزئی استفاده شد [۱۱].

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه تجربی تعداد ۲۵ سر موش صحرایی ماده به سن ۳-۲ ماه با وزن ۲۲۰-۲۰۰ گرم، از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز خریداری و سپس به محل انجام آزمایشات این مرکز منتقل شدند. موش‌ها تحت شرایط کنترل شده آزمایشگاهی با دمای ثابت 23 ± 1 درجه سانتی‌گراد و ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، همراه با تهویه مناسب نگهداری شدند و با غذای تجاری (پلت) تغذیه شده و دسترسی آزاد به آب داشتند. موش‌ها به طور تصادفی به ۵ گروه ۵ تایی تقسیم شدند.

گروه ۱. گروه شاهد: موش‌هایی که غذای استاندارد (پلت) را دریافت نمودند.

گروه ۲. گروه شم: موش‌های سالم دریافت کننده پودر بامیه ۲۰۰mg/kg به مدت ۴ هفته [۱۲].

گروه ۳. در این گروه موش‌ها به مدت حداقل ۴ هفته حیره پرچرب (HFD) را دریافت کرده و پس از این مدت داروی استرپتوزوتوسین به میزان ۳۵mg/kg [۱۳] از طریق سیاهرگ دمی تزریق شد.

گروه ۴. موش‌های دیابتی دریافت کننده پودر بامیه ۲۰۰mg/kg به مدت ۴ هفته [۱۲].

گروه ۵. موش‌های دیابتی دریافت کننده متفورمین ۲۰۰mg/kg به مدت ۴ هفته [۱۴].

^۱ Flavonoids Content (FC)^۲ Phenolic Content (PC)^۳ Huang^۴ Folin-Ciocalteu^۵ HFD

بررسی قرار گرفت. همچنین در بررسی‌های میکرومتری مساحت هیپاتوسیت‌ها و هسته اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری مساحت‌ها در ۵ میدان دید و در ۵ برش بافتی کبد با بزرگنمایی $\times 40$ و با استفاده از نرم افزار Dino Capture2 انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از SPSS-16 مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. داده‌ها به صورت میانگین \pm خطای استاندارد ارائه شدند. جهت مقایسه میانگین‌ها در گروه‌های تحت مطالعه از آزمون آنووا^۳ و پس‌آزمون LDS استفاده شد و در مواردی که $p < 0.05$ بود، معنی‌دار تلقی شد.

یافته‌ها

تجزیه و تحلیل محتوای فلاونوئیدی و ترکیبات فنولی گیاه بامیه

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که غلظت ترکیبات فنولی عصاره گیاه بامیه ۱۴۱ میلی گرم اسیدگالیک بر گرم وزن خشک عصاره و غلظت محتوای فلاونوئیدی آن ۱۴۷ میلی گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک عصاره می باشد.

وزن بدن

در تحقیق حاضر، در پایان هفته چهارم از تغذیه موش‌ها با رژیم غذایی با چربی بالا (HFD)، میانگین وزن موش‌های HFD تغییر معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان نداد. در حالی که بعد از تزریق استرپتوزوسین در گروه‌های HFD، وزن موش‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (نمودار ۱). موش‌های دیابتی که پودر بامیه و متفورمین را به مدت ۴ هفته دریافت کرده بودند، افزایش معنی‌دار وزن را در مقایسه با موش‌های دیابتی نشان دادند ($p < 0.05$) (نمودار ۱).

انسولین ناشتا (میکرویونیت بر میلی لیتر) [محاسبه گردید [۹].

مطالعات بافت شناسی

جهت انجام مطالعات بافت‌شناسی پس از شکافتن حفره شکم، بافت‌های پانکراس و کبد، خارج گردیدند. نمونه‌هایی از بافت‌های پانکراس و کبد به ضخامت حداکثر نیم سانتیمتر در یکی از ابعاد آن برداشته و به منظور تثبیت در فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شدند.

جهت مطالعات میکروسکوپی، به روش معمول تهیه مقاطع بافتی، برش‌هایی به ضخامت ۶-۵ میکرومتر تهیه شدند و با روش هماتوکسیلین-ائوزین^۱ و رنگ آمیزی هیستوشیمیایی آلدئیدفوشین^۲ به منظور تشخیص بهتر سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس رنگ‌آمیزی شدند [۱۶]. رنگ‌آمیزی هیستوشیمیایی آلدئیدفوشین برای تشخیص بهتر سلول‌های بتا از سایر سلول‌های جزایر لانگرهانس مورد ارزیابی قرار گرفت [۱۶]. در مطالعات هیستولوژی بخش آندوکرینی پانکراس، تغییرات سلول‌های ترشح‌کننده انسولین (سلول‌های بتا)، میزان واکوئوله شدن سیتوپلاسم و واکنش هیستوشیمیایی سلول‌های بتا مورد ارزیابی قرار گرفت و در مطالعات میکرومتری، تعداد و اندازه جزایر لانگرهانس و تعداد سلول‌های ترشح‌کننده انسولین محاسبه گردید. تعداد و اندازه جزایر لانگرهانس با استفاده از لنز Digital Dino-Lite و نرم افزار Dino Capture2 شمارش گردید. تعداد سلول‌های بتا در ۵ میدان دید و در ۵ برش بافتی در هر یک از جزایر موجود با بزرگنمایی $\times 40$ و با میکروسکوپ نوری شمارش گردید و در نهایت میانگین تعداد سلول‌های بتا در هر جزیره محاسبه گردید [۱۷]. در مطالعات هیستولوژی کبد، شکل و اندازه هیپاتوسیت‌ها و هسته‌های آنها و نظم و آرایش هیپاتوسیت‌ها در اطراف سیاهرگ مرکزی مورد

¹ H&E

² Aldehyde Fuchsin

³ ANOVA

شاخص‌های سرمی

نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که در رت‌های دیابتی HFD/STZ سطوح قند خون ناشتا و شاخص HOMA-IR در مقایسه با گروه کنترل به صورت معنی‌داری افزایش یافته است ($p < 0.05$) (نمودار ۲- جدول ۱). در گروه‌های تیمار شده با پودر بامیه و متفورمین، میزان قند خون در مقایسه با گروه دیابتی به صورت معنی‌داری کاهش یافته بود ($p < 0.05$) (نمودار ۲).

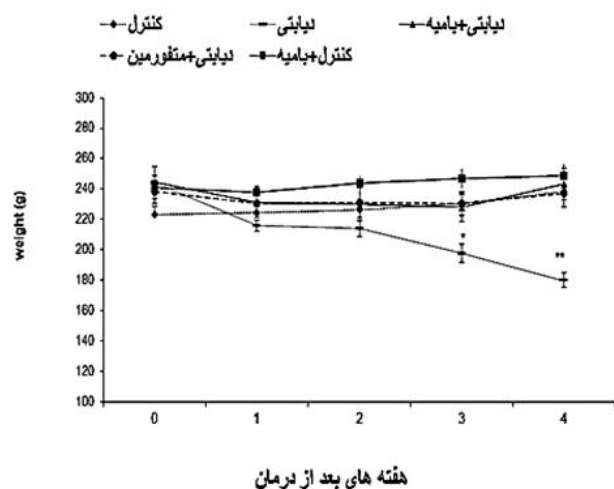
شاخص HOMA-IR در گروه‌های تیمار شده با پودر بامیه و متفورمین، به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$) (نمودار ۳). سطوح انسولین سرم، الگوی متفاوتی را نشان داد به این ترتیب که در گروه موش‌های دیابتی HFD/STZ نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری را نشان داد ($p < 0.05$) (جدول ۱). در حالی که در موش‌های دیابتی تیمار شده با پودر بامیه به طور معنی‌داری افزایش یافته بود. متفورمین اثرات قابل توجهی بر روی سطوح انسولین سرم نداشت (جدول ۱).

پروفایل لیپیدی

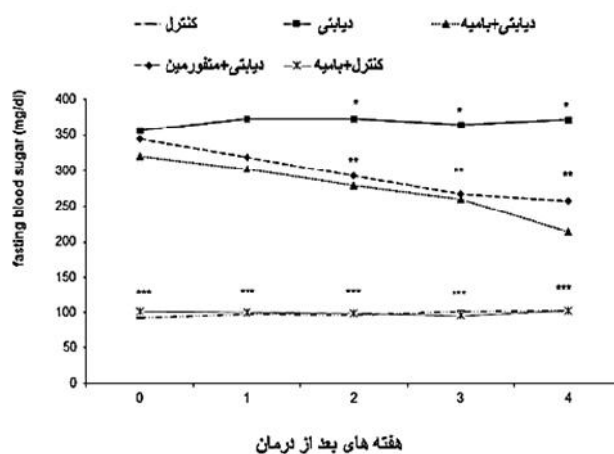
در مطالعه حاضر افزایش معنی‌داری در پروفایل لیپیدی سرم از جمله TG، TC، LDL-C، VLDL-C و کاهش معنی‌دار HDL-C، در موش‌های دیابتی HFD/STZ نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید ($p < 0.05$) (جدول ۱). میزان فاکتورهای تری‌گلیسیرید و کلسترول و LDL-C در گروه‌های دریافت کننده بامیه و متفورمین به طور معنی‌داری کمتر از گروه دیابتی بود ($p < 0.05$)، اما میزان HDL-C و VLDL-C در این دو گروه تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان نداد (نمودار ۵). تیمار موش‌های سالم با پودر بامیه اثرات معنی‌داری بر روی پروفایل لیپیدی سرم نداشت (جدول ۱).

فعالیت سرمی آنزیم‌های کبدی

یافته‌های تحقیق حاضر، افزایش معنی‌دار ($p < 0.05$) میانگین فعالیت هر دو آنزیم ALT و AST را در گروه موش‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل نشان داد (جدول ۱). کاهش فعالیت این دو آنزیم در گروه‌های دیابتی که پودر بامیه و متفورمین مصرف کرده بودند در مقایسه با گروه دیابتی مشاهده شد. کاهش فعالیت آنزیم AST در گروه تیمار شده با پودر بامیه نسبت به گروه دیابتی معنی‌دار بود ($p < 0.05$) (جدول ۱). در حالی که آنزیم ALT کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان نداد. در



نمودار ۱. تغییرات میانگین \pm خطای معیار وزن بدن در موش‌های صحرايي ديابتي HFD/STZ تحت درمان با پودر باميه و متفورمين. * نشان‌دهنده اختلاف معنی دار بين گروه‌ها است ($p < 0.05$)



نمودار ۲. تغییرات میانگین \pm خطای معیار گلوکز خون در موش‌های صحرايي ديابتي HFD/STZ تحت درمان با پودر باميه و متفورمين. تعداد متفاوت * نشان‌دهنده اختلاف معنی دار در هر هفته می باشد ($p < 0.05$)

فعالیت هر دو آنزیم در گروه دریافت کننده متفورمین تفاوت معنی داری نسبت به گروه دیابتی مشاهده نگردید (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین و خطای استاندارد (Mean±SD) پارامترهای بیوشیمیایی سرم در رت‌های دیابتی HFD/STZ تحت درمان با پودر بامیه

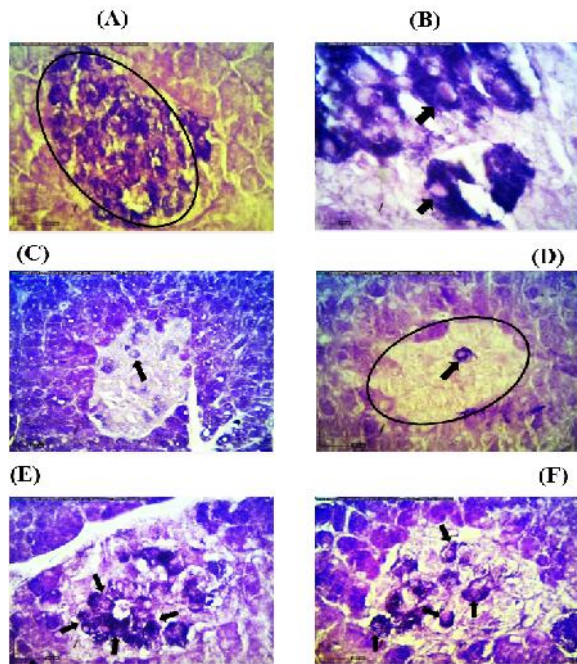
فاکتورها	گروه‌ها	کنترل ساده	کنترل بامیه	دیابتی	دیابتی/متفورمین	دیابتی/بامیه
انسولین (pg/ml)	۸۷/۰۸ ± ۹/۲	۶۵/۸۳ ± ۹/۴۸	۴۷/۹ ± ۳/۲	۵۱/۰۵ ± ۶/۰۹	۶۲/۰۶ ± ۳/۹۶	c
شاخص Homa-IR (mmol/μu/l)	۱۰/۵۶ ± ۳/۳۲	۸/۶۲ ± ۰/۵۴	۲۱/۷۷ ± ۱/۴۵	۱۵/۸۶ ± ۴/۸۲	۱۷/۸۰ ± ۴/۴۷	c
تری گلیسیرید (TG) (mg/dl)	۴۶/۹۹ ± ۲/۳۲	۵۳/۸۵ ± ۴/۵۴	۹۳/۲۲ ± ۲۵/۱۲	۵۷/۰۳ ± ۳/۹۶	۵۲/۸۳ ± ۱/۹۲	a
کلسترول (TC) (mg/dl)	۱۱۷/۹۰ ± ۹/۰۵	۱۰۰/۳۷ ± ۲/۴۶	۱۴۰/۱۳ ± ۱۹/۵	۹۷/۶۰ ± ۲/۳۲	۹۸/۸۹ ± ۵/۰۲	a
LDL-C (mg/dl)	۷۹/۴۳ ± ۹/۵۴	۷۲/۲۰ ± ۶/۷۰	۹۱/۱۵ ± ۱۸/۱۷	۶۵/۳۴ ± ۸/۴۸	۶۳/۷۹ ± ۴/۸۷	a
VLDL-C (mg/dl)	۹/۳۹ ± ۰/۴۶	۱۰/۷۷ ± ۰/۹۰	۱۶/۹۱ ± ۵/۰۲	۱۱/۴۰ ± ۰/۷۹	۱۲/۱۶ ± ۱/۶۳	ab
HDL-C (mg/dl)	۲۸/۹۴ ± ۱/۴۱	۲۵/۰۶ ± ۰/۳۴	۲۲/۰۳ ± ۳/۰۴	۲۲/۹۰ ± ۱/۱۵	۲۲/۹۳ ± ۱/۰۱	b
آلانین آمینو ترانسفراز (ALT) (U/L)	۹/۴۶ ± ۱/۰۸	۱۰/۳۲ ± ۱/۰۸	۲۰/۷۵ ± ۲/۸۴	۱۷/۸۶ ± ۲/۸۴	۱۳/۶۳ ± ۳/۲۸	ab
آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST) (U/L)	۳۷/۲۱ ± ۷/۰۵	۳۱/۴۲ ± ۱/۸۰	۵۷/۳۱ ± ۷/۲۶	۴۲/۰۸ ± ۲/۹۱	۳۵/۱۳ ± ۵/۳۹	a

حروف نامتشابه a-c در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در بین گروه‌ها می باشد (p < ۰/۰۵).

جزایر آندوکرینی پانکراس

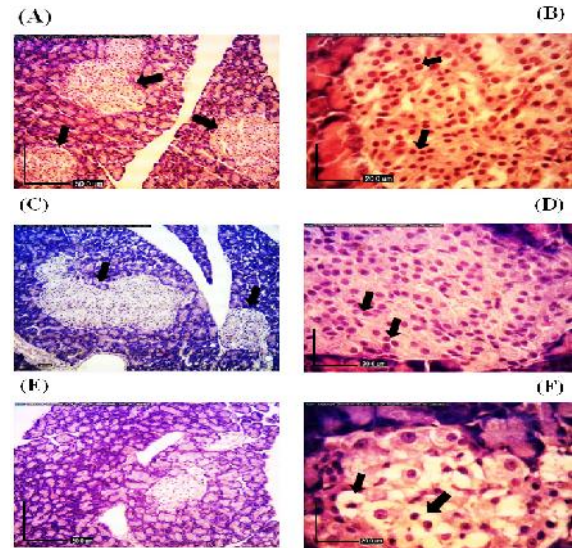
نتایج مشاهدات میکروسکوپی جزایر لانگرهانس پانکراس در موش‌های مورد مطالعه در گروه‌های مختلف در اشکال ۱ تا ۳ نشان داده شده است. همانطور که در اشکال مشخص است، جزایر پانکراسی در موش‌های گروه شاهد (شکل ۱: A-B) و گروه شم (شکل ۱: C-D)، ساختار طبیعی را نشان می‌دهند و در مقابل جزایر پانکراسی در گروه موش‌های دیابتی HFD/STZ، واکوئوله شدن سیتوپلاسم سلول‌های بتا، کوچک شدن اندازه جزایر و کاهش معنی‌دار سلول‌های بتا را نشان می‌دهد (شکل ۱: E-F) (p < ۰/۰۵). شدت تغییرات مذکور در گروه‌های درمان شده با متفورمین و پودر بامیه، کاهش یافته بود (شکل ۲: A-B) و (شکل ۲: C-D).

در رنگ‌آمیزی آلدئیدفوشین (تصویر ۳) در گروه شاهد سلول‌های بتا دارای گرانول‌های مشخص ارغوانی- بنفش هستند که تمام سیتوپلاسم سلول‌های بتا را فرا گرفته‌اند. همچنین تعداد سلول‌های بتا در گروه شاهد قابل توجه است (شکل ۳: A-B). موش‌های گروه دیابتی کاهش معنی‌داری را در تعداد و بقای سلول‌های بتا و همین‌طور کاهش گرانول‌های ترشحی ارغوانی- بنفش در جزایر لانگرهانس نشان می‌دهند (شکل ۳: C-D).

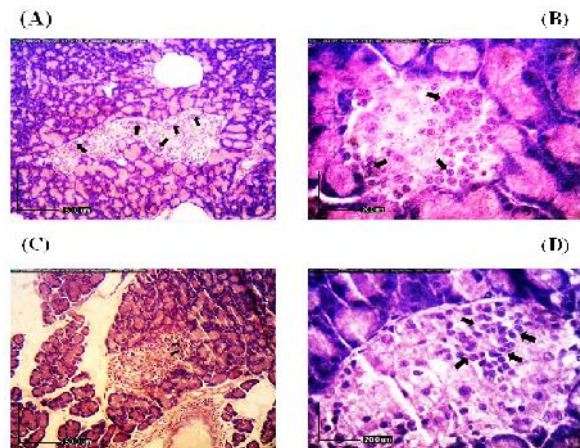


شکل ۳: رنگ آمیزی آلدئیدفوشین جزایر لانگرهانس پانکراس در گروه‌های مختلف. گروه کنترل (A-B): (A: H&E, ×10); (B: H&E, ×40). گروه دیابتی (C-D): کاهش قابل توجه تعداد سلول‌های بتا و همچنین کاهش گرانول‌های ارغوانی درون سیتوپلاسم سلول‌های بتا نسبت به گروه کنترل (فلش سیاه C-D). (C: H&E, ×10); (D: H&E, ×40). گروه دیابتی دریافت کننده متفورمین (E) و گروه دیابتی دریافت کننده پودر بامیه (F): افزایش تعداد سلول‌های بتا و همچنین افزایش گرانول‌های ترشحی نسبت به گروه دیابتی قابل توجه است (فلش سیاه E). (H&E, ×40)

نتایج مطالعات میکرومتری نشان داد که تعداد جزایر، میانگین قطر جزایر و همچنین تعداد سلول‌های بتا در جزایر بزرگ و کوچک، در موش‌های دیابتی به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل کاهش یافته بود (جدول ۳-۲) ($p < 0.05$). تعداد کل جزایر لانگرهانس در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (جدول ۲) ($p < 0.05$). در گروه تیمار شده با متفورمین، افزایش معنی‌دار تعداد جزایر مشاهده گردید (جدول ۲) ($p < 0.05$). تعداد جزایر موش‌های تیمار شده با پودر بامیه تفاوت معنی‌داری را با گروه دیابتی نشان نداد (جدول ۲). تعداد سلول‌های بتا در جزایر بزرگ و کوچک در گروه‌های تیمار شده با پودر بامیه و متفورمین، افزایش معنی‌داری را نسبت به گروه کنترل نشان داد (جدول ۳-۲) ($p < 0.05$). میانگین اندازه قطر بزرگ



شکل ۴: تغییرات بافتی جزایر لانگرهانس پانکراس موش های دیابتی در مقایسه با گروه های کنترل - شش. گروه کنترل (A-B): جزایر لانگرهانس پانکراسی با ساختار طبیعی در بین آسینی های سروزی قرار دارند (فلش سیاه A) (A: H&E, ×10). سلول های بتا نیز ساختار طبیعی خود را دارند (فلش سیاه B) (B: H&E, ×40). گروه کنترل دریافت کننده پودر بامیه (شش C-D): ساختار طبیعی جزایر لانگرهانس (فلش سیاه C). (C: ×10). (D: H&E, ×40). سلول های بتا (فلش سیاه D). به خوبی مشخص هستند. گروه دیابتی (E-F): اندازه کوچکتر جزایر لانگرهانس نسبت به گروه کنترل قابل مشاهده است (E: H&E, 10×). همچنین واکوئوله شدن سیتوپلاسم سلول های بتا قابل مشاهده است (فلش سیاه F). (F: ×40). (H&E).



شکل ۵: تغییرات بافتی جزایر لانگرهانس پانکراس در موش های دیابتی دریافت کننده متفورمین و پودر بامیه. گروه دیابتی دریافت کننده متفورمین (A-B): افزایش تعداد سلول های بتا نسبت به گروه دیابتی قابل توجه است (فلش سیاه A-B). (A: H&E, ×10); (B: H&E, ×40). گروه دیابتی دریافت کننده پودر بامیه (C-D): افزایش تعداد سلول های بتا نسبت به گروه دیابتی قابل توجه است (فلش سیاه C-D). (C: ×40); (D: H&E, ×10)

۲). در جزایر کوچک، میانگین اندازه قطرهای بزرگ و کوچک در گروه دیابتی کاهش معنی‌داری یافت ($p < 0.05$) و در گروه‌های درمان شده با پودر بامیه و متفورمین، افزایش معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۳).

در جزایر بزرگ، در همه گروه‌ها مشابه با هم بود و تفاوت معنی‌داری را نشان نداد در حالی که اندازه قطر کوچک در گروه‌های دیابتی به طور معنی‌داری کاهش یافت ($p < 0.05$). میانگین اندازه قطر کوچک در گروه‌های تیمار شده با پودر بامیه و متفورمین تفاوت معنی‌داری با گروه دیابتی نشان نداد (جدول

جدول ۲. مقایسه میانگین و خطای استاندارد (Mean±SD) مشخصه‌های مورد مطالعه جزایر بزرگ لانگرهانس در گروه‌های مختلف

گروه‌ها	کنترل	کنترل بامیه	دیابتی	دیابتی/متفورمین	دیابتی/بامیه
تعداد جزایر در $\times E$	۶/۷۷ ± ۱/۴۷	۶/۳۹ ± ۱/۲۵	۳/۳۳ ± ۰/۳۹	۴/۷۰ ± ۰/۷	۳/۹۶ ± ۰/۵۱
تعداد سلول بتا $\times E$	۲۶۴/۹۱ ± ۱۶/۹۲	۲۵۳/۹۱ ± ۱۳/۰۷	۱۱۹/۴۳ ± ۱۵/۱۵	۱۹۲/۲۹ ± ۱۶/۵۵	۱۷۲/۶۱ ± ۱۴/۹۱
قطر بزرگ (μ)	۳۵۲/۸۰ ± ۲۶/۰۹	۳۶۰/۲۱ ± ۲۶/۸۹	۳۰۷/۸۶ ± ۲۳/۵۷	۳۰۷/۷۴ ± ۳۰/۲۴	۳۲۲/۹۷ ± ۲۲/۰۸
قطر کوچک (μ)	۱۴۶/۲۴ ± ۷/۲۱	۱۴۸/۱۵ ± ۷/۲۵	۹۶/۰۵ ± ۵/۶۰	۱۱۴/۷۳ ± ۱۱/۷۷	۱۱۱/۶۱ ± ۶/۷۱

حروف نامتشابه a-c در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در بین گروه‌ها می باشد ($p < 0.05$)

جدول ۳. مقایسه مشخصه‌های مورد مطالعه در جزایر کوچک لانگرهانس در گروه‌های مورد مطالعه

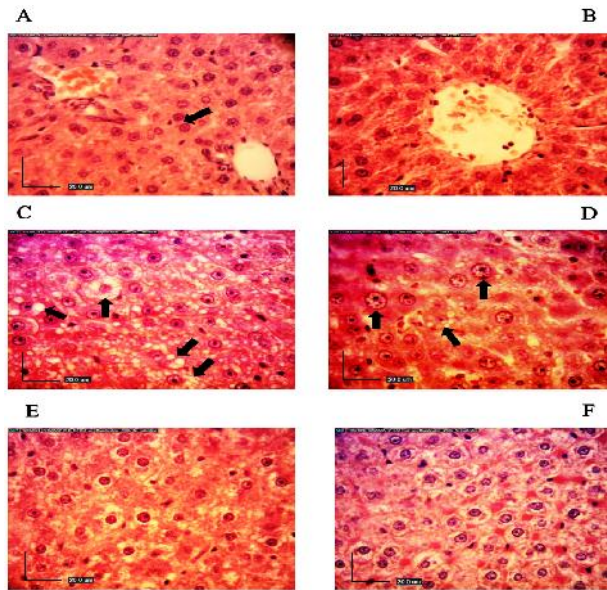
گروه‌ها	کنترل ساده	کنترل بامیه	دیابتی	دیابتی/متفورمین	دیابتی/بامیه
تعداد سلول بتا $\times E$	۴۴/۵۰ ± ۲/۱۳	۴۷/۱۶ ± ۲/۱۱	۲۲/۰۸ ± ۱/۸۹	۳۰/۴۱ ± ۳/۰۱	۲۹/۲۷ ± ۰/۹
قطر بزرگ (μ)	۱۳۰/۲۳ ± ۷/۸۰	۱۳۷/۱۵ ± ۸/۳۱	۹۹/۹۹ ± ۴/۸۳	۱۲۴/۷۷ ± ۵/۴۷	۱۲۷/۰۲ ± ۱۳/۶۶
قطر کوچک (μ)	۸۸/۱۳ ± ۴/۱۰	۹۱/۱۵ ± ۵/۰۰	۶۷/۹۳ ± ۱/۹۶	۸۳/۷۵ ± ۳/۲۹	۷۴/۳۸ ± ۹/۰۰

حروف نامتشابه a-c در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در بین گروه‌ها می باشد ($p < 0.05$)

بافت شناسی کبد

هیپرتروفی سلول‌های کبدی (هیپاتوسیت) همراه با بزرگ شدن و یوکروماتین شدن شدید هسته‌ها و وجود قطرات کوچک چربی در سیتوپلاسم هیپاتوسیت‌ها مشاهده گردید. در گروه‌های تیمار شده با پودر بامیه و متفورمین تغییرات مشاهده شده کمتر بود (شکل ۴). نتایج مطالعه میکرومتری نشان داد که مساحت هیپاتوسیت‌ها و هسته آنها، در گروه دیابتی افزایش معنی‌داری نسبت به گروه کنترل داشته است ($p < 0.05$). مساحت هیپاتوسیت‌ها و

هسته‌ها در گروه‌های تیمار شده با پودر بامیه و متفورمین تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه دیابتی نشان داد به طوری که در گروه موش‌های دیابتی دریافت کننده بامیه، مساحت هیپاتوسیت‌ها مشابه با گروه کنترل بود ($p < 0.05$) (جدول ۴).



شکل ۴. ساختار طبیعی بافت کبد در گروه کنترل (A) و گروه شم (B) (H&E, $\times 40$). گروه دیابتی (C-D): هیپر تروفی سلول‌های هپاتوسیت و روشن و واکوتوله شدن سیتوپلاسم آنها. هیپر تروفی هسته و روشن شدن آن، تجمع قطرات لیپیدی در سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها قابل توجه می‌باشد (فلش سیاه D). (H&E, $\times 40$). گروه دیابتی در یافت کننده متفورمین (E) و گروه دریافت کننده بامیه (F): هیپر تروفی و واکوتوله شدن سلول‌های هپاتوسیت تا اندازه‌ای بهبود را نشان می‌دهد (H&E, $\times 40$).

جدول ۴. مقایسه مساحت هپاتوسیت و هسته در گروه‌های مورد مطالعه

گروه‌ها	کنترل ساده	کنترل بامیه	دیابتی	دیابتی/متفورمین	دیابتی/بامیه
مساحت هپاتوسیت (μm^2)	۱۹۲/۴۰ ± ۵/۵۶	۱۸۵/۱۵ ± ۱۵/۸۰	۳۳۱/۲۶ ± ۲۹/۶۳	۲۵۶/۲۹ ± ۴۳/۶۴	۲۰۰/۰۶ ± ۱۳/۰۵
مساحت هسته (μm^2)	۴۴/۲۷ ± ۱/۸۷	۴۱/۶۱ ± ۰/۵۳	۷۲/۸۷ ± ۵/۹۲	۶۱/۲۸ ± ۴/۳۱	۵۱/۶۷ ± ۷/۳۴

حروف نامتشابه a-c در هر ردیف بیانگر وجود اختلاف معنی دار در بین گروه‌ها می‌باشد ($p < 0.05$)

بحث

در مطالعه حاضر موش‌های دیابتی HFD/STZ، سطوح بالای قندخون و شاخص HOMA-IR و کاهش سطوح انسولین را نشان می‌دهند که در مجموع نشان‌دهنده پیشرفت دیابت در این جانوران می‌باشد. مصرف پودر بامیه موجب کاهش سطح قند خون و شاخص HOMA-IR، و بهبود مقاومت انسولینی در موش‌های دیابتی HFD/STZ گردید. مطابق با یافته‌های مطالعه حاضر، سابیتا^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۱، فعالیت ضد دیابتی و ضد هیپرلیپیدمی پودر دانه و پوست بامیه را در موش‌های دیابتی شده با STZ گزارش کردند [۱۸]. همچنین در مطالعه‌ای دیگر، تومادا^۲ و همکاران گزارش کردند

که پلی ساکاریدهای موجود در گیاه بامیه دارای فعالیت هیپوگلیسمی در موش‌های سالم می‌باشند [۱۹]. مکانیسم‌های متعددی برای عملکرد ضد دیابتی بامیه گزارش شده‌اند. غلظت بالای فیبر و پلی ساکارید در میوه‌های بامیه، به واسطه مهار سرعت جذب گلوکز از مسیر روده ای، سبب کاهش قند خون می‌گردد [۲۰]. نتیجه اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کبدی AST و ALT، افزایش معنی‌دار این آنزیم‌ها را در موش‌های دیابتی HFD/STZ نسبت به گروه کنترل نشان داد.

آمینوترانسفرازهای ALT و AST که به طور معمول در سلول‌های کبدی وجود دارند، جزء کاربردترین آنزیم‌ها در تشخیص آسیب‌های کبدی محسوب می‌شوند و هنگامی که کبد دچار آسیب می‌شود، با تغییر در نفوذپذیری غشای هپاتوسیت‌ها، این

^۱ Sabitha

^۲ Tomada

آنزیم‌ها از سلول‌ها آزاد و وارد جریان خون می‌شوند. مصرف خوراکی پودر بامیه باعث کاهش فعالیت‌های آنزیم‌های کبدی ALT و AST می‌شود. مطالعات پیشین گزارش کرده‌اند که پودر دانه و پوست میوه بامیه دارای اثرات محافظتی بر روی بافت کبد می‌باشد [۱۲]. احتمالاً مصرف پودر بامیه به دلیل وجود خواص آنتی‌اکسیدانی بالا و ترکیبات فلاونوئیدی موجود در پوست و دانه‌اش باعث فعال نمودن سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت آن گردیده و رادیکال‌های آزاد تشکیل شده به واسطه ایجاد دیابت را خنثی نموده و با بهبود ساختار هیپاتوسیت‌ها و کاهش آسیب‌های کبدی ناشی از دیابت موجب بهبود سطوح سرمی آنزیم‌های عملکردی کبد به ویژه ALT و AST می‌شود.

در مطالعه حاضر موش‌های HFD/STZ علاوه بر افزایش قند خون، افزایش معنی‌داری در فاکتورهای بیوشیمیایی سرم از جمله TG، TC، LDL-C، VLDL-C و کاهش معنی‌دار HDL-C را نسبت به گروه کنترل نشان دادند. گزارشات حاکی از آن است که در بیماری دیابت نوع ۲ HFD/STZ، علاوه بر تغییرات چشمگیر در متابولیسم گلوکز، تغییرات شدیدی نیز در متابولیسم چربی ایجاد می‌شود [۲۱]. حضور بالای سطوح تری‌گلیسرید باعث افزایش اسیدهای چرب در دسترس و اکسیداسیون آنها می‌شود. اکسیدشدن اسیدهای چرب اضافی باعث کاهش انسولین و متعاقب آن کاهش گلوکز خروجی کبد شده و نهایتاً منجر به هیپرگلیسمی و مقاومت انسولینی می‌شود [۲۲]. میوه‌های گیاه بامیه میزان بالایی فیبر دارند. فیبر موجود در بامیه غنی از پلی‌ساکاریدها است که با اتصال به اسیدهای چرب مانع جریان مداوم آنها در خون می‌شود. رژیم غنی از فیبر میزان تری‌گلیسرید را با مهار لیپوژنز در کبد کاهش می‌دهد. روی^۱ و همکاران با بررسی ویژگی‌های عملکردی عصاره بامیه

دریافتند که پلی‌ساکاریدهای بامیه دارای خاصیت هیپوگلیسمی در موش سالم هستند و با اتصال به اسیدهای صفراوی از جریان مداوم آن جلوگیری می‌کنند [۲۳]. بررسی‌های بافت‌شناسی بافت پانکراس، نشان داد که اندازه جزایر و به ویژه تعداد سلول‌های ترشح‌کننده انسولین، در جزایر لانگرهانس پانکراس موش‌های دیابتی HFD/STZ کاهش یافته است. بونورا^۲ و همکاران نشان دادند که هیپرگلیسمی منجر به کاهش تدریجی در عملکرد سلول‌های بتا و افزایش آپوپتوز در سلول‌های جزایر پانکراسی می‌شود [۲۴]. در دیابت نوع ۲، افزایش اسیدهای چرب در گردش و گلوکز خون، منجر به تجمع داخل سلولی تری‌گلیسیریدها در درون سلول‌های جزایر و متعاقب آن نقص ترشحی سلول‌های بتا می‌شود [۲۵]. تجمع داخل سلولی تری‌گلیسیریدها و افزایش تراکم لیپیدها در درون جزایر پانکراسی با تشکیل رادیکال‌های آزاد در درون جزایر، آپوپتوز سلول‌های بتا را القا می‌کند.

یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که پودر بامیه می‌تواند سلول‌های بتا را از آسیب‌های ایجاد شده ناشی از رژیم چاقی با چربی بالا HFD و همچنین STZ محافظت کند. همچنین رنگ آمیزی آلدئید فوشین نشان داد که پودر بامیه علاوه بر محافظت از سلول‌های بتا در جزایر پانکراسی می‌تواند سبب بازسازی و ترمیم سلول‌های بتای آسیب دیده شود. نتایج پژوهش‌های به عمل آمده نشان می‌دهد که تکمیل رژیم غذایی با آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی نظیر فلاونوئیدها و ترکیبات فنولی، حالت دیابتیک ایجاد شده به وسیله STZ را کاهش می‌دهد [۲۶]. با توجه به این موضوع که پانکراس در اولین خط پس از جذب روده‌ای قرار دارد، بنابراین می‌تواند غلظت‌های بالایی از پلی‌ساکاریدها و فلاونوئیدهای جذب شده را به دست آورد. لذا ممکن است بافت پانکراس یک هدف برای اثرات مفید فلاونوئیدها و

² Bonora¹ Roy

حیوانی انجام شد نشان داد که موسیلاژ نه تنها باعث کاهش پروفایل لیپیدها می شود، بلکه سبب حفاظت هپاتوسیت‌ها نیز می گردد [۲۷].

نتیجه گیری

درمان موش‌های دیابتی HFD/STZ با پودر بامیه، هموستاز گلوکز و حساسیت انسولینی را بهبود می بخشد که این یافته بر اساس سنجش میزان انسولین سرم و سنجش قند خون قابل ارائه می باشد. درمان با پودر بامیه باعث بهبود وضعیت قند خون از طریق محافظت از سلول‌های بتای پانکراس و بازسازی سلول‌های بتا و متعاقب آن تنظیم آنزیم‌های کلیدی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در بافت کبد موش‌های دیابتی می شود. وجود ترکیبات متنوع و فعال زیستی از قبیل فلاونوئیدها، ترکیبات فنولی، آنتی اکسیدان‌هایی نظیر کوئرستین و مقادیر بالای فیبر در میوه بامیه، باعث به وجود آمدن خواص ضد دیابتی و دارویی در گیاه بامیه شده‌اند از این رو میوه بامیه می تواند جهت بهبود و مدیریت دیابت نوع ۲ با مدل HFD/STZ مورد توجه قرار بگیرد. از سویی دیگر با توجه به این که مستندات کافی در خصوص مناسبترین دوز مصرف پودر بامیه در جهت بهبود بیشتر آسیب‌های بافتی مرتبط با بیماری دیابت وجود ندارد و همچنین با توجه به اینکه طول دوره درمان با پودر بامیه در مطالعه حاضر کوتاه مدت بوده است، لذا پیشنهاد می شود در تحقیقات بعدی اثر دوزهای مختلف پودر بامیه در گروه‌های مختلف و در یک دوره درمانی طولانی تر مورد بررسی قرار گیرد.

فیبر موجود در پودر بامیه باشد [۶]. ریفای^۱ و همکاران با بررسی‌های ایمونوهیستوشیمی بر روی بخش‌های آندوکرینی پانکراس رت‌های دیابتی شده و تحت درمان با کوئرستین، مشاهده کردند که درمان با کوئرستین باعث بهبود تغییرات مورفولوژی از جمله افزایش معنی‌دار تعداد سلول‌های بتا می گردد [۵]. نتایج حاصل از مطالعات بافت‌شناسی ساختار کبد، هیپرتروفی و روشن شدن هسته و سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها و وجود میکرووزیکول‌های کوچک در سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها، را در گروه‌های دیابتی نشان داد. بررسی بافت کبد نیز در موش‌های دریافت کننده پودر بامیه نشان می دهد که آسیب کبدی ناشی از دیابت در این گروه‌ها کمتر شده است. میزان واکوئوله شدن سیتوپلاسم هپاتوسیت‌ها و هسته و وجود میکرووزیکول‌ها در رت‌هایی که پودر بامیه را هر روز دریافت کرده بودند نسبت به گروه دیابتی تا حدودی کاهش یافته بود. هم‌خوانی نتایج بیوشیمیایی با نتایج بافت شناسی کبد حاکی از اثر پودر بامیه بر کاهش اثرات سوء دیابت و همچنین رژیم غذایی پرچرب بر بافت کبد می باشد. فیبر و کربوهیدرات موجود در میوه بامیه، باعث کاهش پارامترهای لیپیدی و متعاقب آن کاهش تجمعات لیپیدی و واکوئوله شدن در ساختار سیتوپلاسم و هسته سلول‌های کبدی می گردد [۲۰]. مطالعه بوبان^۲ و همکاران که بر روی اثر هیپولیپیدمیک چندین گیاه حاوی موسیلاژ در مدل

¹ Rifaai

² Boban

References

- 1- Bermúdez-Pirela VJL, Cano C, Medina MT, Souki A, Lemus MA, Leal EM, et al. Metformin plus low-dos glimeperide significantly improves homeostasis model assessment for insulin resistance (HOMA(IR)) and beta-cell function (HOMA(beta-cell)) without hyperinsulinemia in patients with type 2 diabetes mellitus. Am J Ther. 2007 Mar-Apr; 14: 194–202.
- 2- Donath MY, Halban PA. Decreased beta-cell mass in diabetes: significance, mechanisms and therapeutic implications. Diabetologia. 2004 Feb; 47: 581–589.

- 3- Skovso S. Modeling type 2 diabetes in rats using high fat diet and streptozotocin. *J Diabetes Investig.* 2014 May; 5: 349–358.
- 4- Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin induced diabetes. *Diabetologia.* 2008 Feb; 51: 216–226.
- 5- Rifaai RA, El-Tahawy NF, Saber EA, Ahmed A. Effect of quercetin on the endocrine pancreas of the experimentally induced diabetes in male albino rats: A histological and immunohistochemical study. *Diabetes Metab J.* 2012 Mar; 3(3): 2-11
- 6- Pinent M, Castell A, Baiges I, Montagut G, Arola L, Ardevol A. Bioactivity of flavonoids on insulin-secreting cells. *Compr Rev Food Sci.* 2008 Sep; 7: 299-308.
- 7- Arapitsas P. Identification and quantification of poly phenolic compounds from okra seeds and skins. *Food Chem.* 2008 Oct; 110: 1041–5.
- 8- Hamiduzzaman MD, Moniruzzaman ASM. Evaluation of biological activities of *Abelmoschus esculentus* (Malvaceae). *Int J curr Sci.* 2014 Jan; 10: 14-20.
- 9- Fan S, Zhang Y, Sun Q, Yu L, Li M, Zheng B, et al. Extract of okra lowers blood glucose and serum lipids in high-fat diet-induced obese C57BL/6 mice. *J Nutr Biochem.* 2014 Mar; 25 (7): 702-709.
- 10- Huang DJ, Lin CD, Chen HJ, Lin YH. Antioxidant and anti proliferative activities of sweet potato (*Ipomoea batatas* [L.] LamTainong 57') constituents. *Botl Bull Acad Sinica.* 2004 Mar; 45: 179-186.
- 11- Heim KE, Tagliaferro AR, Bobilya DJ. Flavonoid antioxidants: Chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J Nut Biochem.* 2002 Oct; 13(10): 572-584.
- 12- Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K. Anti diabetic and anti hyperlipidemic potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in streptozotocin induced diabetic rats. *J Pharm Bioall Sci.* 2011 Jul; 3: 397–402.
- 13- Mahmoud AM, Ahmed OM, Abdel-Moneim A, Ashour MB. Upregulation of PPAR mediates antidiabetic effects of citrus flavonoids in type 2 diabetic rats. *Int J Bioassays.* 2013 Mar; 2(5): 756-761.
- 14- Kabiri N, Tabandeh M, Fatemi Tabatabaie, SR. Beneficial effects of pioglitazone and metformin in murine model of polycystic ovaries via improvement of chemerin gene up-regulation. *Daru.* 2014 Apr; 22(39): 2-10.
- 15- Binh DV, Dung NTK, Thao LTB, Nhi NB, Chi PV. Macro- and microvascular complications of diabetes induced by high-fat diet and low-dose streptozotocin injection in rat model. *Diabetes.* 2013 Feb; 2: 50- 55.
- 16- Bancroft JD, Gamble M. *Theory and practice of histological techniques*, 5nd ed. New York: Churchill livingstone, 2002: 206-208.
- 17- Mohammadi J, Mirzaei A, Azizi A, Rouzbehi A, Delaviz H. The effects of hydroalcoholic extract of *Juglans regia* leaf on histological changes of Langerhans islet in diabetic rat model. *Iranian South Med J.* 2012 Des; 15(4): 293-301.
- 18- Sabitha V, Ramachandran S, Naveen KR, Panneerselvam K. Investigation of in vivo antioxidant property of *Abelmoschus esculentus* (L) moench fruit seed and peel powders in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ayurveda Integr Med.* 2011 Sep; 3(4): 188-93.
- 19- Tomoda M, Shimizu N, Gonda R, Kanari M, Yamada H, Hikino H. Anticomplementary and hypoglycemic activity of okra and hibiscus mucilages. *Carbohydr Res.* 1989 Jul; 190(2): 323-8.
- 20- Sreeshma LS, Bindu R Nair. Biochemical changes associated with fruit development in *Abelmoschus esculentus* cv. Arka Anamika. *Int J Agr Tech.* 2013 Mar; 9(2): 373-382.
- 21- Pushparaj PN, Low HK, Manikandan J, Tan BKH, Tan CH. Anti-diabetic effects of *Cichorium intybus* in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethno pharmacol.* 2007 Dec; 111: 430-434.
- 22- Belfiore F, Iannello S. Insulin resistance in obesity: metabolic mechanisms and measurement methods. *Mol Genet Metab.* 1998 Oct; 65:121–8.
- 23- Roy A, Shrivastava SL, Mandal SM. Functional properties of Okra *Abelmoschus esculentus* L. (Moench): traditional claims and scientific evidences. *Plant Sci Today.* 2014 Jun; 1 (3): 121-130.
- 24- Bonora E. Protection of pancreatic beta-cells: Is it feasible? *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2008 Jan; 18, 74-83.

-
- 25- Kim H, Ahn Y. Role of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor in the Glucose-Sensing Apparatus of Liver and β -Cells. *Diabetes*. 2004 Feb; 53: 60-65.
- 26- Yazdanparast R, Ardestani A, Jamshidi S. Experimental diabetes treated with *Achillea santolina*: Effect on pancreatic oxidative parameters. *J Ethnopharmacol*. 2007 Jan; 112: 13-18.
- 27- Boban PT, Nambisan B, Sudhakaran PR. Hypolipidaemic effect of chemically different mucilages in rats: a comparative study. *Br J Nutr*. 2006 Dec; 96(6): 1021-9.