مجله زیست فناوری گیاهان دارویی

سال ششم، شماره دوم، پاییز و زمستان، ۱۳۹۹

اثر پلی‌ساکارید استخراج شده از گیاه *Rosa canina* بر متیله شدن انسولین و Pdx1 در رت‌های دیابتی

ثریا سجادی مجد[۱،*]، غلامرضا بهرامی[۲،۳]

چکیده

از آنجایی‌که متیلاسیون DNA نقش مهمی در توسعه پانکراس در زمان جنینی و بلوغ دارد، تنظیم این مکانیسم اپی ژنتیک می-تواند نقش مهمی در درمان دیابت داشته باشد. بنابراین الگوی متیلاسیون ژن های Ins-1 و Pax-4 در رت های دیابتی و درمان شده با ترکیب پلی ساکاریدی استخراج شده از گیاه *Rosa canina* مورد بررسی قرار گرفت. فرکشن پلی ساکاریدی از گیاه *Rosa canina* استخراج شد و با استفاده از تکنیک های NMR، FTIR و MS/MS آنالیز ساختاری انجام شد. ایجاد دیابت در رت‌های نر ویستار با تزریق یک دوز STZ (60 mg/kg) انجام شد. بعد اتمام تیمار رت ها، پانکراس جدا شد و استخراج DNA انجام شد. تیمار بی سولفیت توسط کیت متیلاسیون DNA انجام و میزان متیلاسیون توسط تکنیک MSP بررسی شد. ریل تایم PCR نیز جهت تعیین میزان متیلاسیون ژن ها انجام شد. آنالیز آماری توسط SPSSورژن ۱۹ انجام شد. بر اساس آنالیز ساختاری، ترکیب استخراج شده یک ترکیب پلی ساکاریدی است. نتایج MSP و ریل تایم PCR نشان داد که میزان متیلاسیون فاکتورهای انسولین و Pax-4 در رت‌های دیابتی درمان شده با پلی ساکارید به طور قابل توجهی کاهش می‌یابد. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان متیلاسیون ژن‌های انسولین و Pax-4 در رت های دیابتی نسبت به رت های کنترل افزایش می یابد و درمان رت های دیابتی با پلی ساکارید منجر به کاهش میزان متیلاسیون فاکتورهای انسولین و Pax-4 می شود. بنابراین می توان پیشنهاد نمود که ترکیب پلی ساکاریدی از طریق تنظیم متیلاسیون ژنهای درگیر در فعالیت و بازسازی سلول های جزایر پانکراس می تواند در درمان دیابت موثر باشد.

کلمات کلیدی: دیابت، ترکیب اولیگوساکاریدی، متیلاسیون DNA، بازسازی سلول‌های بتا

---

[۱] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه رازی، کرمانشاه. *نویسنده مسئول، ایمیل: sajadi.s62@gmail.com

[۲] مرکز تحقیقات زیست شناسی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه.

[۳] دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه.

مقدمه

به طور کلی، انتظار بر اینست که تا سال ۲۰۲۵ تقریبا تعداد ۳۰۰میلیون بیمار مبتلا به دیابتدر جهان تشخیص داده شود (Bahreynian et al., 2017). دیابت شیرین یک بیماری شناخته شده همراه با امراض تاخیری مانند رتینوپاتی، نوروپاتی و نفروپاتی می‌باشد. دیابت به طور کلی به دو گروه نوع ۱ با تخریب سلول های بتای پانکراس و نوع ۲ با مقاومت به انسولین و کمبود انسولین تقسیم می‌شود (Hernández-Marco et al., 2009; Sadeghi et al., 2016; Salimnejad et al., 2017; Thomas and Philipson, 2015) تعداد قابل توجهی از داروهای ضد دیابت تاکنون برای درمان دیابت معرفی شده، اما به دلیل عدم توانایی در جلوگیری از دیابت و عوارض آن و ایجاد اثرات جانبی، استفاده از این داروها با محدودیت همراه است (Brownlee, 2006). متیله شدن DNA یک مادیفیکاسیون کووالانسی توالی DNA می باشد که با اثر بر بیان ژن و پایداری ژنومی همراه می‌باشد (Jones, 2012). متیله شدن DNA توسط DNA متیل ترانسفرازها انجام می شود که گروه متیل را از s-آدنوزین متیونین به موقعیت '۵ سیتوزین DNA انتقال داده و ۵-متیل سیتوزین را ایجاد می‌کند (Edwards et al., 2017). نشان داده شده است که مسیر اپی ژنتیک همراه با فاکتورهای ژنتیکی و اثرات محیطی پاسخ های اتو ایمنی را در دیابت نوع ۱ پیش می‌برد (Ling, et al.,2008). فاکتورهای اپی ژنتیک ممکن است به تنهایی نقش مهمی در توسعه دیابت نوع ۲ و در حساسیت به عوارض ناشی از دیابت از طریق تغییرات بیان ژن در اکثر بافت‌ها داشته باشد (Sommese et al., 2017; Park et al., 2008).

گیاه *Rosa canina* (Rose hip) گیاه دارویی شناخته شده‌ای است که به طور سنتی برای درمان بیماری‌های التهابی و متابولیک استفاده می‌شود (Nathan and Scholten, 1999; Marty, 1999). بعلاوه، اثرات آنتی اکسیدانی، ضد التهابی و ضد موتاژنیک *R. Canina* در مطالعات زیادی به اثبات رسیده است (Ercisli, 2007). ترکیبات فیتوشیمیایی متنوعی شامل اسیدهای آلی، اسیدهای‌آمینه، فسفولیپیدها، کارتنوئیدها، فلاونوئیدها، تانن‌ها، کربوهیدرات‌ها، اسیدهای چرب اشباع و غیر اشباع، توکوفرول‌ها، مواد معدنی، گالاکتولیپیدها، پکتین، آسکوربیکاسید و کاروتن در میوه *R. canina* وجود دارد (Chrubasik et al., 2008). یکی از ترکیبات استخراج شده از *R. canina* یک اولیگوساکارید جدید است که از واحدهای آرابینان و گالاکوران بسیار استیله و متیله تشکیل شده است. با توجه به ساختار شیمیایی این ترکیب و اثر ضد دیابتی آن، هدف این مطالعه بررسی مکانیسم مولکولی جزء اولیگوساکاریدی *R. canina* بر پروفایل متیله شدن کل ژنوم و بیان آنزیم‌های متیل ترانسفراز در رت‌های دیابتی درمان شده با این دارو است. در این مطالعه، متیله شدن ژن‌های درگیر در فرایند بازسازی سلول‌های بتای پانکراس در موش‌های دیابتی درمان شده با فرکشن اولیگوساکاریدی از گیاه *R. canina* بررسی می‌شود. لازم به ذکر است که این مطالعه به منظور تعیین مکانیسم ملکولی بخش اولیگوساکاریدی

استخراج شده از گیاه *R. Canina* انجام می‌گیرد، به همین دلیل نمونه انتخاب شده نمونه رت دیابتی است.

مواد و روش‌ها

جداسازی، تخلیص و بررسی ساختار اولیگوساکارید استخراج شده از گیاه نسترن وحشی

میوه گیاه نسترن وحشی (*Rosa canina*) در آذر ماه خریداری و توسط‌گیاه‌شناس متخصص شناسایی شد. پالپ میوه با آب شسته و در دمای اتاق، به مدت ۷۲ ساعت خشک شد، سپس توسط یک آسیاب برقی پودر شد. عصاره با روشهای عصاره‌گیری تهیه شد. مراحل خالص‌سازی توسط کروماتوگرافی ستونی با استفاده از غشاهای سفادکس RP-18 و B انجام شد. فرکشن اولیگوساکاریدی بااستفاده ازروش‌های HPLC و اسپکترومتری جرمی LC-MS/MS خالص و ساختار ترکیب مشخص شد.

حیوانات آزمایشگاهی و طراحی آزمایش

در این مطالعه از تعداد ۳۵ رت صحرایی بالغ که از موسسه پاستور خریداری شد، استفاده شد. رت‌ها در حیوانخانه دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه در قفس‌های بزرگ، دمای اتاق ۲۲ درجه سانتیگراد، برنامه منظم روشنایی و تاریکی ۱۲ ساعته، رطوبت نسبی ۴۵-۵۰ درصد و با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. درمان ۶ هفته بود. روش تحقیق مورد زیر نظر کمیته مراقبت از حیوانات در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه انجام شده و مورد تایید قرار گرفت. حیوانات به طور تصادفی به چهار گروه تقسیم شدند:گروه‌نرمال (سالم)، گروه‌کنترل (دیابتی)، گروه درمان با فرکشن گیاه و گروه درمان با متفورمین تقسیم شدند.

دیابت بعد از ۱۶ساعت ناشتا با تزریق داخل صفاقی استرپتوزوتوسین به میزان ۶۰ میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن در بافر سیترات با pH=4.4 ایجاد شد. ۷۲ ساعت پس از ترزیق قند خون غیر ناشتا با استفاده از دستگاه GlucoD اندازه‌گیری شد و قند خون بالاتر از ۳۰۰ mg/dl به عنوان دیابتی در نظر گرفته شد.

شناسایی پروموتور ژن و پرایمرها

به منظور پیدا کردن پروموتور ژن های Pax4 و Ins1 از سایت NCBI استفاده شد. بدینصورت که در بخش جستجو نام ژن و گونه را وارد کرده و بخش gene انتخاب می نماییم. سپس سکونس مربوط به هر ژن را به صورت FASTA انتخاب می کنیم. برای پیدا نمودن پروموتور ژن ۲۰۰۰ نوکلئوتید قبل از شروع ژن را جستجو می کنیم. سپس نواحی CG، TATA و CAAT را در سکونس مورد نظر بررسی می کنیم. در صورت بالا بودن نواحی CG و وجود نواحی TATAو CAAT سکونس مورد نظر را به عنوان پروموتور در نظر گرفته و طراحی پرایمر با نرم افزارهای NCBI، Oligo v7.6، AllelID 7.5 و Oligo analyzerانجام شد.

استخراج DNA و بی‌سولفیت کردن ژن‌ها

به منظور استخراج DNA، بافت پانکراس از رت‌های دیابتی، سالم و دیابتی درمان شده بعد از ۸ هفته تیمار استخراج شد. به طور خلاصه بلافاصله بعد از جدا نمودن پانکراس نمونه‌ها در ازت مایع نگهداری شدند. در زمان استخراج، بافت هموژنیزه شده و DNA با استفاده از

روش سالتینگ اوت و کلروفرم استخراج شد. DNA استخراج شده در آب مقطر استریل حل شد و میزان غلظت و بازده DNA استخراج شده با استفاده از نانودراپ بررسی شد. به منظور بی سولفیت نمودن DNA ابتدا غلظت تمام نمونه ها نرمالیزه شد و ۵۰۰ نانوگرم DNA ژنومی از هر بافت با استفاده از روش کیت EpiTect Bisulfite kit (Qiagene) تمام DNA مربوط به نمونه‌ها تیمار بی سولفیت شد.

qRT-PCR و Methyl specific polymerase chain reaction (MSP)

نمونه‌های DNA بی سولفیت از بافت‌های پانکراس گروه‌های دیابتی و غیر دیابتی با استفاده از کیت امپلیکون با استفاده از پرایمرهای طراحی شده متیله و غیر متیله تکثیر یافت. دمای annealing هر کدام از ژن‌ها متفاوت و از ۵۲ تا ۵۸ درجه سانتیگراد بود. دمای اکستنشن تمام موارد ۷۲ درجه سانتیگراد و به مدت ۱۰ دقیقه بود. به منظور انجام واکنش Real Time PCR حجم نهایی هرمیکروتیوپ ۲۰ میکرولیتر لحاظ شدکه حاوی ۱۰ پیکومول از پرایمرهای جلوبر و برگشتی مربوط به هر ژن، ۳۵ نانوگرم محصول PCR،۱۰میکرولیتر Master mix و آب RNase free بود.

مقدار mRNA به صورت نسبی و بر اساس فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{Fold difference} = 2^{-\Delta(\Delta CT)}$$

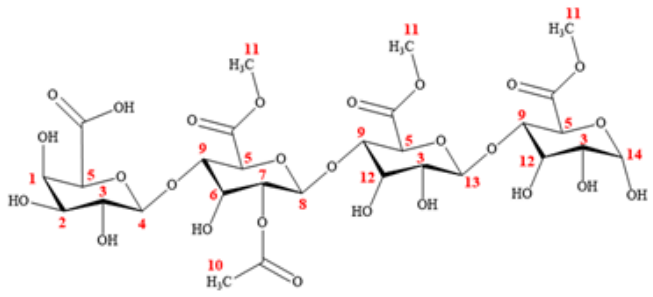
آنالیزآماری

داده‌ها به صورت mean±SEM بیان شد و با استفاده از نرم افزار آماری SPSS19 آنالیز آماری انجام شد. تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه برای ارزیابی تفاوت بین گروه‌های تجربی استفاده شد. همچنین از آزمون Tukey برای Anova یک طرفه استفاده شد. $p<0.05$ ازلحاظ آماری معنی داراست.

نتایج

ساختارفرکشن استخراج شده از گیاه نسترن وحشی

بر اساس مطالعات انجام شده از آنالیز پروتون و کربن NMR، فرکشن ایزوله شده اولیگوساکاریدی با ساختار شبه پکتینی است و وزن مولکولی پایین می باشد. پکتین مادیفای شده از واحدهای آرابینان و گالاکتوران با قطبیت بالا تشکیل شده است. آنالیز LC-MS/MS نشان داد که واحد اول یک گالاکتورونیک اسید با m/z برابر با ۱۷۶ می‌باشد که بعد از آن یک گالاکتورونیک اسید مادیفای شده با گروه استیل در موقعیت دوم و یا سوم و یک متیل کربونیل در موقعیت ۵ قرار دارد. بقیه واحدها نیز از گالاکتورونیک اسید مادیفای شده با متیل کربونیل و با اتصالات ۱-۴ تشکیل شده است (Rahimi et al., 2020) (شکل ۱).



شکل ۱- ساختار فرضی

جدول ۱- اثر اولیگوساکارید بر میزان وزن بدن و قند خون اولیگوساکارید استخراج شده از گیاه نسترن وحشی بر اساس آنالیزهای اسپکتروسکوپی (NMR, FRIR و LC-MS/MS)

گروه	وزن بدن(g)		قند خون(mg/dl)	
	۰ h	۶weeks	۷۲ h	۶ weeks
کنترل	۲۴۴/۴۳±۱۶/۱۱	۲۹۳/۳۳±۱۱/۴۱	۱۰۹/۴۳±۵/۲۸	۱۰۶/۱۸±۵/۴۳
دیابتی	۲۵۲/۳۷±۱۳/۱۰	۲۰۱/۸۴±۱۴/۹۰	۳۵۹/۶۵±۲۹/۱۳	۵۲۱/۱۶±۳۵/۱۱
پلی ساکارید	۲۵۷/۱۵±۱۰/۷۷	۳۱۲/۴۲۱±۱۷/۱۲	۳۵۱/۴۱±۲۰/۱۲	۱۲۶/۱۵±۳۸/۱۱
متفورمین	۲۵۸/۲۵±۱۹/۱۲	۲۷۹/۱۶±۲۱/۲۷	۳۶۳/۰۰±۳۷/۶۴	۲۹۴/۲۲±۴۲/۱۵
P-value	۰/۱۳۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰

اثر RCO بر میزان قند خون و وزن بدن

اثر RCO بر میزان قند، وزن و فاکتورهای بیوشیمیایی رت های دیابتی شده با STZ درجدول ۱ خلاصه شده است. بر اساس داده های بدست آمده در جدول ۱، قند خون و وزن رت‌های دیابتی بعد از ۳ و ۶ هفته درمان با ترکیب RCO تقریبا به حالت نرمال رسیده بود ($P\leq0.05$).

شناسایی پروموتور ژن ها طراحی پرایمر

با استفاده از سایت NCBI پروموتور ژن ها Pax4 و Ins1 شناسایی شد و پرایمرهای متیله و غیر متیله طراحی شد (جدول ۲).

جدول ۲- توالی ژنی پرایمر پروموتور متیله و غیر متیله

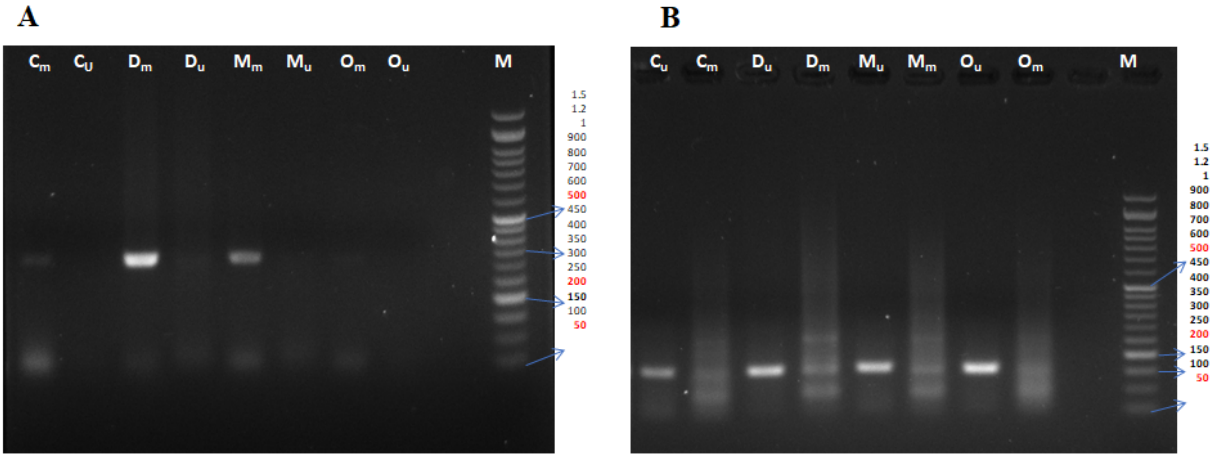
Gene	Un-methylated primer	Methylated primer
Ins-1	F: TAGGTTTAAGTAGAGTTGTTGAT R: CTACCCCCTAAACTTTACCA	F: TAGGTTTAAGTAGAGTTGTTGAC R: CTACCCCCTAAACTTTACCG
Pax-4	F: TTAAAAGATAAGGGTGGATT R: CTTAAACAACAAAAACAATAACA	F: TTAAAAGATAAGGGTGGATC R: TTAAACAACGAAAACAATAACG

اثر RCO بربیان ژن های Pax4 و Ins1

برای آنالیز متیلاسیون DNA در پروموتور ژن‌های Pdx-1، Pax4، Ins1، Neurog1وNKx6.1، بعد از استخراج، DNA توسط کیت بی سولفیت DNA (Qiagene) تیمارشد. سپس تکثیر پروموتور ژن‌ها با استفاده از پرایمرهای جدول ۲ انجام گرفت. طول آمپلیکون در پروموتورهای متیله ژن‌های Pax4 و Ins1 به ترتیب، برابر با ۳۵۱ و ۱۵۴ جفت باز می باشد. طول قطعات تکثیر یافته در پروموتور غیر متیله ژن‌های Pax4 و Ins1 به ترتیب، برابر با ۳۵۲ و ۱۵۴ می باشد. شرایط تکثیر قطعات به صورت زیر می باشد: مرحله دینیچر شدن در ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه، مراحل دینیچره، اتصال پرایمرو اکستنشنبه میزان ۳۷ سیکل شامل مراحل دمایی ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، دماهای ۵۱ تا ۵۶ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۷۲ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و اکستنشن نهایی ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد. شکل ۲ محصولات PCR ژن‌های تکثیر یافته را نشان می دهد.

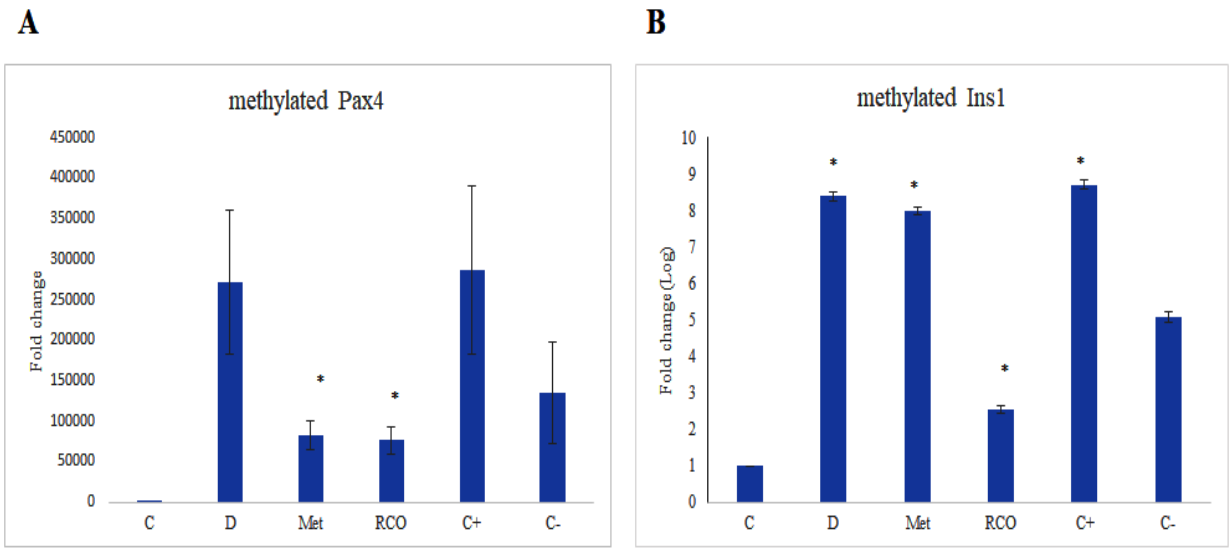
همانطورکه در شکل ۱ نشان داده شد است، میزان متیلاسیون Pax4 در رت‌های دیابتی افزایش یافته ولی در رت‌های درمان شده با متفورمین و اولیگوساکارید، به ترتیب میزان باندهای متیله کاهش می‌یابد (شکل ۱-الف). در انسولین، باند مربوط به پروموتور متیله ژن Ins-1 در رت‌های دیابتی افزایش یافته ولی در رت‌های درمان شده با اولیگوساکارید و متفورمینبه ترتیب کاهش می‌یابد. بیان پروموتور غیر متیله در همه گروه‌ها تقریبا مشابه است، هر چند در رت‌های دیابتی درمان شده با اولیگوساکارید بیان آن بیشتر شده است. جالب است که بیان پروموتور غیر متیله انسولین در رت‌های دیابتی نسبت به گروه نرمال بیشتر بود که احتمالا به دلیل مکانیسم جبرانی بیان این ناحیه در رت‌های دیابتی بیشتر شده است(شکل ۱-ب).

شکل ۱- محصولات PCR پروموتور ژن های متیله و غیر متیله Pax-4 (۳۵۰ و ۳۵۱ جفت باز) (A)، Ins-1 (۱۵۳ و ۱۵۴). Cm:گروه کنترل متیله؛ Cu:گروه کنترل غیر متیله ؛ Dm :گروه دیابتی متیله، Du:گروه دیابتی غیرمتیله; ؛ Mm: گروه متفورمین متیله؛Mu : گروه متفورمین غیرمتیله؛ Ou : گروه اولیگوساکاریدی غیر متیله؛ Om: گروه اولیگوساکاریدی غیرمتیله.



اثر RCO برسطح بیان ژن های Pax4 و Ins1

به منظور بررسی اثر فرکشن کربوهیدراتی استخراج شده (۱۰ mg/ml) بر بیان پروموتورهای بی‌سولفیت شده ژن‌ها، qRT-PCR با استفاده از پرایمرهای طراحی شده متیله و غیر متیله انجام گرفت. همانطور که در شکل ۲ مشخص می باشد. میزان بیان methylated Pax4 در گروه دیابتی به طور قابل توجهی افزایش یافت ولی در گروه متفورمین و اولیگوساکارید کاهش یافت ($p<0.05$). میزان بیان unmethylated Ins1 در رت‌های گروه دیابتی کاهش یافت و در گروه‌های متفورمین و اولیگوساکارید افزایش یافت.



شکل ۲- سطح بیان NRG3 غیر متیله، NKx6.1 متیله، Pax4 متیله، انسولین متیله و Pdx-1متیله در گروه کنترل (C)، دیابتی (D)، متفورمین (M) و اولیگوساکارید (RCO)

بحث

در این مطالعه میزان متیلاسیون پروموتور ژن های موثر در فعالیت و بازسازی سلول های بتا شامل In1 و Pax-4در رت های سالم، دیابتی و دیابتی درمان شده با متفورمین و ترکیب اولیگوساکاریدی استخراج شده از گیاه *Rosa canina* بررسی شد. بر اساس مطالعات انجام شده عوامل اپی ژنتیک از جمله متیلاسیون DNA، تغییرات هیستون و بیان miRNA می‌تواند بر روی پیشرفت دیابت نوع ۱ و ۲ اثر بگذارد. به عنوان مثال، افزایش متیلاسیون DNA پروموتور PGC-1α در جزایر پانکراس بیماران مبتلا به دیابت نوع ۲ در مقایسه با افراد غیر دیابتی به اثبات رسیده است. با توجه به اینکه افزایش سطح PGC-1α با کاهش ترشح انسولین همراه می باشد، این مطالعه نشان می دهد که متیلاسیون DNA بیان ژن هایی در جزایر پانکراس افراد دیابتی را کنترل می کند که در ارتباط با ترشح انسولین هستند (Ling et al., 2008). بر اساس مطالعات قبلی هایپرگلیسمی باعث القای تغییرات اپی ژنتیک و بنابراین افزایش بیان ژن های پیش برنده التهاب در سلول‌های عروقی می‌شود که همراه با افزایش خطر عوارض دیابت می باشد (El-Osta et al., 2008; Brasacchio et al., 2009; Miao et al., 2004; Miao et al., 2008) به عبارت دیگر هایپرگلیسمی از طریق متیلاسیون DNA بیان ژن‌های خاصی از جمله انسولین را در جزایر پانکراس تنظیم می‌کند (Hall et al., 2018; Bahrami et al., 2020). با توجه به نقص ترشح انسولین در بیماری دیابت، به نظر می‌رسد که تنظیم بیان آن توسط متیلاسیون DNA نقش مهمی در پیشرفت دیابت داشته باشد. در این ارتباط یانگ و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان داد که متیلاسیون DNA در نواحی CG پروموتور ژن‌های انسولین در بیماران دیابتی در مقایسه با افراد سالم افزایش یافته است و این

افزایش همراه با کاهش بیان سطح mRNA انسولین و افزایش سطح HbA1c می‌باشد (El-Osta et al., 2008). نتایج حاصل از مطالعه حاضر نشان داد که میزان بیان DNA انسولین متیله در پانکراس جدا شده از رت های دیابتی بیشتر از رت‌های سالم بود که در رت‌های درمان شده با اولیگوساکارید میزان انسولین متیله کاهش یافت. این در حالیست که میزان بیان انسولین غیر متیله انسولین در رت‌های دیابتی و درمان شده تغییر چندانی نداشته است ولی در رت‌های دیابتی درمان شده با اولیگوساکارید افزایش قابل توجهی داشته است.

فاکتور Pax-4 فاکتور مهمی در رشد و شکل پذیری پانکراس می‌باشد و یکی از فاکتورهای اصلی در تخصصی شدن سلول‌های بتا می‌باشد. جالب است که بیان Pax-4 در سلول‌های آلفای پانکراس چه در دوره جنینی و چه بلوغ باعث القای نئوژنز و تبدیل به سلول های شبه بتا می‌شود (Napolitano et al., 2015). بنابراین تنظیم بیان Pax-4 می‌تواند نقش مهمی در تعیین سرنوشت پانکراس به سمت تولید سلول‌های بتا و درمان دیابت داشته باشد. نتایج حاصل از بیان Pax-4 در رت‌های دیابتی و درمان شده نشان می‌دهد که بیان Pax-4 متیله به میزان قابل توجهی در رت‌های دیابتی نسبت به گروه کنترل افزایش می‌یابد و در رت‌های دیابتی درمان شده با اولیگوساکارید بیان آن حتی کمتر از گروه نرمال می‌شود.

بر اساس نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر، اثرات درمانی ترکیب اولیگوساکاریدی استخراج شده از گیاه نسترن وحشی در دیابت در نتیجه تنظیم متیلاسیون فاکتورهای درگیر در فعالیت و بازسازی سلول های بتا مانند In1 و Pax-4 می‌باشد و به نظر می‌رسد که تنظیم متیلاسیون DNA فاکتورهای مورد بررسی و فاکتورهای دیگر، نقش مهمی در بازسازی سلول‌های بتا و در نتیجه درمان دیابت داشته باشد.

سپاسگزاری

تحقیقات این مقاله توسط دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه حمایت می شود. ما از همکاران در دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی که آزمایشات در آنجا انجام گرفت کمال تشکر را داریم.

منابع

Bahreynian, M., et al., Burden of disease attributable to vitamin A deficiency in Iranian population aged less than five years: findings from the global burden of disease study 2010. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 2017. 16(1): p. 1-7.

Hernández-Marco, R., et al., Oxidant/antioxidant status and hyperfiltration in young patients with type 1 diabetes mellitus. Pediatric Nephrology, 2009. 24(1): p. 121-127.

Sadeghi, A., et al., The effect of diabetes mellitus on apoptosis in hippocampus :cellular and molecular aspects. International journal of preventive medicine, 2016. 7.

Salimnejad, R., et al., Protective effect of hydroalcoholic extract of Teucrium polium on diabetes-induced testicular damage and serum testosterone concentration. International Journal of Reproductive BioMedicine, 2017. 15(4): p. 195.

Chrubasik, C ,.et al., A systematic review on the Rosa canina effect and efficacy profiles. Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives, 2008. 22(6): p. 725-733.

Rahimi, M ,.et al., Characterization and anti-diabetic effects of the oligosaccharide fraction isolated from Rosa canina in STZ-Induced diabetic rats. Carbohydrate research, 2020. 489: p. 107927.

El-Osta, A., et al., Transient high glucose causes persistent epigenetic changes and altered gene expression during subsequent normoglycemia. The Journal of experimental medicine, 2008. 205(10): p. 2409-2417.

Brasacchio, D., et al., Hyperglycemia induces a dynamic cooperativity of histone methylase and demethylase enzymes associated with gene-activating epigenetic marks that coexist on the lysine tail. Diabetes, 2009. 58(5): p. 1229-1236.

Miao, F., et al., In vivo chromatin remodeling events leading to inflammatory gene transcription under diabetic conditions. Journal of Biological Chemistry, 2004. 279(17): p. 18091-18097.

Miao, F., et al., Lymphocytes from patients with type 1 diabetes display a distinct profile of chromatin histone H3 lysine 9 dimethylation: an epigenetic study in diabetes. Diabetes, 2008 . :(۱۲)۵۷p. 3189-3198.

Hall, E., et al., The effects of high glucose exposure on global gene expression and DNA methylation in human pancreatic islets. Molecular and cellular endocrinology, 2018. 472: p. 57-67.

Bahrami, G., et al., Anti-diabetic effect of a novel oligosaccharide isolated from Rosa canina

Thomas, C.C. and L.H. Philipson, Update on diabetes classification. Medical Clinics, 2015. 99(1): p. 1-16.

Brownlee, M., The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. diabetes, 2005. 54(6): p. 1615-1625.

Jones, P.A., Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. Nature Reviews Genetics, 2012. 13(7): p. 484-492.

Edwards, J.R., et al., DNA methylation and DNA methyltransferases .Epigenetics & chromatin, 2017. 10(1): p. 1-10.

Ling, C., et al., Epigenetic regulation of PPARGC1A in human type 2 diabetic islets and effect on insulin secretion. Diabetologia, 2008. 51(4): p. 615-622.

Park, J.H., et al., Development of type 2 diabetes following intrauterine growth retardation in rats is associated with progressive epigenetic silencing of Pdx1. The Journal of clinical investigation, 2008. 118(6): p. 2316-2324.

Sommese, L., et al., Clinical relevance of epigenetics in the onset and management of type 2 diabetes mellitus. Epigenetics, 2017. 12(6): p. 401-415.

Nathan, M. and R. Scholten, The complete german commission e monographs: Therapeutic guide to herbal medicines. 1999, American College of Physicians.

Marty, A.T ,.PDR for herbal medicines. Jama: The Journal of the American Medical Association, 1999. 281(19): p. 1853-1854.

Ercisli, S., Chemical composition of fruits in some rose (Rosa spp.) species. Food chemistry, 2007. 104(4): p. 1379-1384.

Napolitano, T., et al. Pax4 acts as a key player in pancreas development and plasticity. in Seminars in cell & developmental biology. 2015. Elsevier.

via modulation of DNA methylation in Streptozotocin-diabetic rats. DARU Journal of Pharmaceutical Sciences, 2020. 28(2): p. 581-590.

Journal of Medicinal Plants Biotechnology
2021 Vol 6, No 2, Autumn & Winter

Effect of isolated polysaccharide from *Rosa canina* on the methylation of insulin and Pax4 in diabetic rats

Soraya Sajadimajd[1,*], Gholamreza Bahrami[2,3]

Abstract

Since DNA methylation plays a causal role in pancreatic remodeling and development, thus modulation of this epigenetic mechanism is essential in treatment of diabetes. This provoked us to examine the effect of a known anti-diabetic agent, an isolated polysaccharide, on the methylation pattern of Ins-1 and Pax-4 in diabetic rats. Here, a polysaccharide fraction was isolated from *Rosa canina* and analyzed using NMR, FTIR and MS/MS techniques. Diabetes was established by using intraperitoneal injection of STZ in male Wistar rats. After treatment, pancreas was removed and DNA was extracted and bisulfite treated by a DNA methylation kit. PCR and real-time PCR were used to determine the levels of methylated and/or unmethylated Ins-1 and Pax-4 genes. The levels of blood glucose and weight body were normalized in diabetic rats exposed to isolated polysaccharide. The level of unmethylated Ins-1 was upregulated in diabetic rats which is downregulated in metformin and polysaccharide-treated ones. In diabetic rats, the content of methylated Pax-4 was increased while it was decreased in polysaccharide-treated group. Interestingly, the methylation pattern of Pax-4 in metformin group was the same as diabetic ones. Data clearly indicated that polysaccharide can reduce the level of blood glucose by modulating the methylation pattern of Pax-4 and Ins-1. This study sheds light on the importance of DNA methylation modulation as a promising therapeutic strategy in diabetes.

Keywords: Diabetes, DNA methylation, Polysaccharide, Rosa canina

[1]Department of Biology, Faculty of Science, Razi University, Kermanshah, Iran. *Corresponding author, Email: sajadi.s62@gmail.com
[2] Medical Biology Research Center, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.
[3]School of Pharmacy, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran.