



## تأثیر عصاره آبی گیاه استویا (*Stevia rebaudiana*) بر میزان سرمی واسپین و پروتئین

### شبه آنژیوپروتئین نوع ۳ در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استریتوزوسین

صمد اکبرزاده<sup>۱</sup>، افشار بارگاهی<sup>۲</sup>، علیرضا رهبر<sup>۳</sup>، عادل دانشی<sup>۴</sup>، سعید نجف‌پوربوشهری<sup>۵</sup>، خلیل پورخلیلی<sup>۶</sup>،

سید مجتبی جعفری<sup>۷</sup>، نجمه حاجیان<sup>۸</sup>، بهروز نعیمی<sup>۹</sup>، پرویز فرزادی نیا<sup>۱۰\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۲</sup> مرکز تحقیقات زیست فناوری دریایی خلیج فارس، پژوهشکده علوم زیست پزشکی خلیج فارس، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۳</sup> گروه تغذیه، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۴</sup> گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۵</sup> گروه ایمنی‌شناسی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۶</sup> گروه میکروب و انگل‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

<sup>۷</sup> گروه بیولوژی و علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

(دریافت مقاله: ۹۲/۹/۱۴ - پذیرش مقاله: ۹۲/۱۰/۱۹)

#### چکیده

زمینه: با توجه به شیوع روزافزون بیماری دیابت تا جایی که حدود ۶ درصد جمعیت بالغ دنیا را به خود درگیر کرده است و اهمیت پیشگیری و کنترل این بیماری، نیاز به شیرین کننده‌های کم کالری و البته طبیعی بیش از پیش احساس می‌شود. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که هورمون‌هایی نظیر واسپین و پروتئین شبه آنژیوپروتئین نوع ۳ (Angiotensin-like Protein3, ANGPTL3) با دیابت در ارتباط می‌باشند. هدف این مطالعه بررسی تأثیر گیاه استویا (*Stevia rebaudiana*) که به‌عنوان گیاهی که قند حاصل از آن به‌عنوان قند کم کالری معرفی شده است، بر میزان سرمی هورمون‌های واسپین و پروتئین شبه آنژیوپروتئین -۳ در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استریتوزوسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه از نوع مورد شاهد می‌باشد که بر روی ۴۰ سر موش نر ویستار در محدوده وزنی ۲۵۰-۱۸۰ گرم انجام گردید. موش‌ها به ۵ گروه ۸ تایی تحت عنوان گروه‌های اول، دوم، سوم، چهارم و پنجم تقسیم شدند. به گروه‌های دوم تا پنجم داروی استریتوزوسین با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت درون وریدی تزریق گردید. بعد از ۵ روز رت‌هایی که گلوکز آن‌ها بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر بود به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. گروه اول به‌عنوان کنترل بکر، گروه دوم به‌عنوان کنترل دیابتی و گروه‌های سوم تا پنجم تحت گروه‌های تیمار به‌ترتیب مقادیر ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن عصاره به‌صورت گاواژ به‌مدت سی روز دریافت داشتند. از همه گروه‌ها در روز سی‌ام خونگیری به‌عمل آمد و نمونه‌های سرمی حاصل از خونگیری جهت اندازه‌گیری پارامترهای مختلف شامل واسپین، پروتئین شبه آنژیوپروتئین -۳، تری‌گلیسیرید، کلسترول، HDL، گلوکز، انسولین و آنزیم آلکالین فسفاتاز استفاده گردید. جهت مطالعه بافتی بیوپسی از پانکراس و کبد صورت گرفت. نتایج حاصل از گروه‌های تیمار و کنترل توسط نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۷ مورد ارزیابی قرار می‌گیرد و (P<۰/۰۵) به‌عنوان معنی‌دار تلقی می‌شود.

یافته‌ها: میانگین سطح سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز، شاخص مقاومت انسولینی، میزان گلوکز و تری‌گلیسیرید سرم در گروه‌های دریافت کننده عصاره به‌مقدار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی داشت (P<۰/۰۵). اما میزان انسولین، شاخص عملکرد سلول‌های بتا، واسپین، پروتئین شبه آنژیوپروتئین -۳ و وزن موش‌ها در تمام گروه‌های تیمار تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل دیابتی نداشت. متعاقب دوزهای مختلف عصاره گیاه استویا تغییر خاصی در بافت پانکراس و کبد حاصل نشد.

نتیجه‌گیری: مصرف خوراکی عصاره استویا از طریق کاهش میزان سرمی گلوکز، مقاومت انسولینی و تری‌گلیسیرید قادر است در کاهش قند و چربی خون مؤثر باشد و از جنبه دیگر با کاهش مقادیر آنزیم آلکالین فسفاتاز می‌تواند اثر محافظتی بر بافت کبد داشته باشد. نکته حائز اهمیت این است که جواب احتیاط در دوز مصرفی این گیاه بایستی مد نظر قرار بگیرد.

واژگان کلیدی: استویا، دیابت، انسولین، واسپین، پروتئین شبه آنژیوپروتئین -۳، مقاومت انسولینی، آلکالین فسفاتاز

\*بوشهر، گروه بیولوژی و علوم تشریحی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی

## مقدمه

دیابت یکی از شایع‌ترین بیماری‌های جوامع بشری بوده که حدود ۲۴۶ میلیون نفر یعنی ۶ درصد از جمعیت بالغ دنیا به آن مبتلا هستند. بیماران دیابتی و افراد در معرض آن نقش عمده‌ای در کنترل بیماری خود دارند به طوری که تغذیه و رژیم غذایی مناسب یکی از شروط اساسی کنترل موفق بیماری است (۱).

به دلیل تمایل بالای مصرف محصولات قندی در جهان ضرورت تولید محصولاتی با عدم قابلیت جذب و با قابلیت جذب کم مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به آثار مخرب شکر در افراد دیابتی و پرهیز این افراد از مصرف آن، شیرین کننده‌های مصنوعی کم کالری چون آسپارتام و ساخارین به بازار جهانی عرضه شده است. اما ثابت شده است که عوارض این شیرین کننده‌های مصنوعی بیش از فواید درمانی آن‌هاست (۲).

بنابراین استفاده از محصولات شیرین شده به وسیله گیاه استویا (*Stevia rebaudiana*) در بسیاری از کشورها به عنوان جایگزینی برای ساکارز (شکر معمولی) و در امریکای جنوبی سال‌ها به عنوان دارویی برای درمان دیابت مورد استقبال قرار گرفته است. گیاه استویا بوته‌ای و بومی نواحی شمالی امریکای جنوبی است. برگ‌های این گیاه دارای دی‌ترین گلیکوزیدهایی است که عامل شیرینی این گیاه است (۳).

مطالعات نشان داده مصرف خوراکی استویا با اینکه ۳۰۰ بار شیرین‌تر از ساکارز است (۲)، قند خون را افزایش نداده (۶-۳) و فاقد کالری می‌باشد (۷). همچنین در مطالعه‌ای که بر روی افراد دچار هایپرلیپیدمیا انجام گردیده، چربی خون این افراد را کاهش داده است (۸). خواص ضد میکروبی (۹ و ۱۰) و ضد التهابی گیاه استویا (۱۱) نیز مورد تأیید واقع

شده است. از این رو امروزه استفاده از این شیرین کننده‌ی طبیعی در محصولات غذایی به‌ویژه برای استفاده افراد مبتلا به دیابت اهمیت زیادی پیدا کرده است تا میل به خوردن مواد شیرین را در آن‌ها نیز پاسخگو باشد. واسپین به‌عنوان یک آدیپوسایتوکاين با اثرات حساس کننده به انسولین در موش‌های دیابتی نوع دو شناخته شده است (۱۲). اخیراً ارتباطی قوی بین واسپین با نوع دو دیابت گزارش شده است. دریافته‌اند که ژنوتیپ AA با افزایش ریسک دیابت همراه است و واسپین را به‌عنوان ژن کاندید برای اختلال متابولیسم گلوکز پیشنهاد می‌کنند (۱۳). در بیماران دیابتی، سطح واسپین ارتباط مستقیمی با غلظت پلاسمایی گلوکز ناشتا دارد (۱۴).

افزایش غلظت سرمی واسپین با چاقی و اختلال حساسیت به انسولین ارتباط دارد (۱۷-۱۵). تجویز واسپین نوترکیب به موش‌های چاق موجب بهبود تحمل نسبت به گلوکز و حساسیت نسبت به انسولین می‌شود (۱۲). محققان دریافته‌اند که پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ از کبد ترشح می‌شوند و بر تنظیم فاکتورهای لیپیدی و قندی تأثیرگذار است و همچنین به‌عنوان یک هورمون مهم در تنظیم مقادیر تری‌گلیسیرید سرم فرض می‌شود. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ نقش مهمی در هایپرلیپیدمی در دیابتی‌ها ایفا می‌کند (۱۸).

بیان پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ در کبد و مقادیر پلاسمایی آن در موش‌های دارای دیابت شیرین افزایش می‌یابد و تیمار این حیوانات با لپتین و انسولین موجب کاهش این پروتئین می‌شود که نشان‌دهنده نقش مهم آن در دیابت است.

تحقیقات شومومورا (Shomomora) و همکاران نشان داد پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ مستقیماً

سلول‌های چربی را هدف می‌گیرد و لیپولیز را افزایش می‌دهد که منجر به افزایش آزادسازی FFA و گلیسرول از سلول‌های چربی می‌شود (۱۹). در حال حاضر انواع مختلفی از داروهای پایین آورنده قندخون برای دیابت تولید شده‌اند ولی بسیاری از این داروها ممکن است با عوارض جانبی مانند هایپوگلیسمی شدید، لاکتواسیدوز، آسیب سلول‌های کبدی، نقص عصبی عمده، اختلالات هضمی، دیس لیپیدمی، سردرد، گیجی و حتی مرگ همراه باشند (۲۰ و ۲۱).

در این راستا مطالعه گیاهان دارویی، راه حل طبیعی برای حل مشکلات درمانی دیابت ارائه می‌نماید. این گیاهان به دلیل سهولت دسترسی، عوارض جانبی و سمیت کمتر و قیمت مناسب به‌عنوان جایگزین‌های مناسب داروهای شیمیایی و یا مکمل درمانی همواره مورد توجه بوده است. WHO استفاده از گیاهان دارویی را تشویق کرده است اما توصیه کرده که درمان‌های سنتی برای دیابت نیاز به ارزیابی‌های بیشتر دارد (۲۲).

تاکنون در زمینه تأثیر گیاهان دارویی بر دیابت تحقیقات وسیعی صورت گرفته است اما رابطه میان تأثیر این داروها منجمله استویا بر میزان سرمی هورمون‌هایی نظیر واسپین، پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ و بافت‌هایی منجمله کبد و پانکراس مورد بررسی قرار نگرفته است. بنابراین منطقی است جهت جایگزینی استویا به‌عنوان شیرین کننده به جای قند طبیعی به اثرات آن بر فاکتورهای مرتبط با دیابت توجه بیشتری گردد.

### مواد و روش‌ها

در این مطالعه موردی-شاهدی تعداد ۴۰ سر موش صحرائی نر از نژاد ویستار با محدوده وزنی ۱۸۰ تا ۲۵۰ گرم مورد مطالعه قرار گرفتند. موش‌ها از مرکز تکثیر و پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی

اصفهان تهیه شدند و پس از انتقال به بوشهر در قفس‌های مخصوص تحت شرایط کنترل شده دما ( $22 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد)، رطوبت ۶۰ تا ۶۵ درصد و تحت شرایط یک دوره تاریکی-روشنایی ۱۲ ساعته با دسترسی آزاد به غذا و آب نگهداری شدند. دو هفته بعد از سازش با محیط حیوان‌خانه، در ابتدا حیوانات توزین و سپس به‌طور تصادفی به ۵ گروه ۸ تایی به‌ترتیب گروه اول تا پنجم تحت عنوان گروه کنترل بکر، گروه کنترل دیابتی، گروه دیابتی کننده عصاره گیاه استویا با مقادیر ۲۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، گروه دیابتی کننده عصاره گیاه استویا با مقادیر ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن و گروه دیابتی کننده عصاره گیاه استویا با مقادیر ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند.

### روش ایجاد دیابت و نگهداری موش‌های صحرائی

تمامی اصول نگهداری و کار با حیوانات آزمایشگاهی بر اساس استانداردها رعایت گردید (۲۳). جهت ایجاد دیابت استرپتوزوتوسین به‌صورت تازه و با استفاده از نرمال سالین با رقت ۱/۲ درصد تهیه گردید و با دوز ۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت داخل وریدی از طریق دم تزریق شد. ۵ روز بعد از تزریق با تهیه‌ی نمونه خون وریدی از نوک دم غلظت قندخون با استفاده از دستگاه گلوکومتر مارک Bionime مدل GM300 اندازه‌گیری گردید. موش‌های با سطح قندخون ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر یا بالاتر به‌عنوان دیابتی در نظر گرفته شدند. با توجه به ایجاد حالت پلی‌اوری و حجم زیاد ادرار در حیوانات دیابتی، در هر قفس فقط یک سر حیوان قرار گرفت. همچنین جهت کاهش عوارض پرادراری و سمیت ناشی از ادرار بر حیوانات، پوشال آن‌ها هر روز تعویض گردید.

روش آماده‌سازی عصاره آبی استویا، مداخله و نمونه‌گیری بخش‌های هوایی (ساقه و برگ) گیاه استویا از استان‌های شمالی ایران خریداری گردید. برای عصاره‌گیری، بخش‌های هوایی گیاه در آب مقطر حل گردید و در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد همراه با لرزش آهسته انکوباسیون (incubation) شدند. بخش‌های محلول در آب در دور ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. قسمت‌های غیرمحلول دور ریخته و بخش‌های شناور بر روی آب از طریق دستگاه تقطیر در خلاء دوار تغلیظ شده و برای استفاده پودر شدند. عصاره آبی استویا به صورت خوراکی و با استفاده از سرنگ گاواژ (با حجم ۲ میلی‌لیتر روزانه یک بار ساعت ۹ صبح و به مدت ۳۰ روز به حیوانات گروه‌های مربوطه داده شد. میزان دوز عصاره استفاده شده برای حیوان گروه‌های ۳، ۴ و ۵ به ترتیب ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بود. در گروه‌هایی که عصاره دریافت نمی‌کردند نیز به منظور یکسان کردن استرس گاواژ به حیوان، به میزان ۲ میلی‌لیتر آب مقطر به حیوان از طریق سرنگ گاواژ داده شد. در هنگام گاواژ باید سعی می‌شد تا به حیوان استرس زیادی وارد نشود و ماده داده شده کاملاً در مری ریخته شود. بعد از گذشت ۳۰ روز، موش‌ها پس از ۱۲ ساعت ناشتایی شبانه به وسیله ایزوفلوران بیهوش شدند به طوری که یک تکه پنبه را آغشته به بیهوش کننده کرده و درون ظرف در بسته‌ای قرار داده، سپس حیوان مورد نظر را به مدت زمان مناسب درون ظرف قرار داده تا بی‌هوش شود. بعد از بی‌هوش کردن از هر موش حدود ۳ میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه‌های خونی به آرامی در لوله‌های آزمایش جمع‌آوری و بر روی یخ قرار داده شدند و سپس با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه

روش انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری پارامترهای بیوشیمیایی نظیر گلوکز، تری‌گلیسیرید، کلسترول تام، HDL و آنزیم آلکالین فسفاتاز به وسیله کیت‌های معتبر (کیت شرکت پارس آزمون) توسط دستگاه اتوآنالیزر ۲ selectra (the Netherlands, spankeren, vital science) انجام گردید. گلوکز به روش آنزیمی گلوکز اکسیداز، کلسترول و HDL به روش آنزیمی کلسترول اکسیداز و تری‌گلیسیرید به روش گلیسرول فسفات اکسیداز اندازه‌گیری شد. سطح سرمی انسولین (Alpco insulin ELISA Kit)، واسپین (China, Cat.No:CK-E10961, ELISA Kit) و (AdipoGen Seoul, Korea) ANGPT3 و به روش الیزا مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. برای محاسبه مقاومت انسولینی (HOMA.IR) غلظت گلوکز هر نمونه سرمی (میلی‌مول در لیتر) در غلظت انسولین همان نمونه (میکرویونیت در میلی‌لیتر) ضرب گردید و عدد حاصل بر ۲۲/۵ تقسیم شد.

$$HOMA.IR = \frac{Insulin (\mu U/ml) \times FBS (mmol/l)}{22.5}$$

همچنین برای محاسبه شاخص عملکرد سلول‌های بتای پانکراس (HOMA.B)، غلظت انسولین هر نمونه سرمی (میکرویونیت در میلی‌لیتر) بر غلظت گلوکز منهای ۳/۵ (غلظت گلوکز بر حسب میلی‌مول در لیتر) تقسیم و نتیجه حاصل در ۲۰ ضرب گردید.

## یافته‌ها

## نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروفایل‌های قندی

تمام داده‌ها دارای توزیع نرمال بودند. میانگین سطح سرمی گلوکز ناشتا و شاخص مقاومت انسولینی (HOMA.IR) در گروه‌های دریافت کننده عصاره به مقدار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی داشت.

میزان گلوکز و شاخص مقاومت انسولینی در گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل بکر یافت. میانگین شاخص عملکرد سلول‌های بتای پانکراس تنها در گروه کنترل دیابتی کاهش معناداری را در مقایسه با گروه کنترل بکر دارا بود ولی در گروه‌های تیمار نسبت کنترل دیابتی تغییر معنی‌داری مشاهده نشد، همچنین میزان سرمی انسولین در گروه‌های مختلف فاقد اختلاف معنادار بود (جدول ۱).

$$HOMA.B = \frac{Insulin (\mu U/ml) \times 20}{FBS(mmol/l) - 3.5}$$

## تجزیه و تحلیل آماری

در این مطالعه، بررسی اطلاعات و تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (USA, Il, Chicago, SPSS Inc) و ویرایش ۱۷ و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excell انجام شد. آمارهای توصیفی برای متغیرهای کمی مورد مطالعه به صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شد. توزیع نرمال داده‌ها توسط آزمون Kolmogrov-Smirnov تأیید شد. برای مقایسه میانگین متغیرهای کمی در هر یک از گروه‌های مورد با گروه‌های شاهد از آزمون Independent samples t-test و برای مقایسه میانگین متغیرها بین گروه‌ها از آزمون آماری One-Way ANOVA استفاده گردید. برای بررسی ارتباط بین متغیرهای کمی از تست همبستگی پیرسون استفاده شد. در کلیه آزمون‌های آماری ( $p < 0.05$ ) سطح معنی‌دار تلقی شد.

جدول ۱) میانگین فاکتورهای پروفایل قندی در گروه‌های مختلف

پارامترها	گروه اول (کنترل بکر)	گروه دوم (کنترل دیابتی)	گروه سوم (دوز ۲۵۰)	گروه چهارم (دوز ۵۰۰)	گروه پنجم (دوز ۷۵۰)
گلوکز (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۱۳۷/۷۹±۲۳/۲۲	۵۲۶/۱۶±۱۸۰/۸**	۱۴۲/۵۷±۱۲۸/۰۶*	۱۴۴/۵±۸۴/۷۸*	۲۹۰/۸۶±۱۸۷/۵۴
مقاومت انسولینی (HOMA.IR)	۳/۵۸±۲/۳۲	۱۰/۳۶±۴/۹۱**	۱/۴۹±۰/۹۶*	۴/۱±۳/۵۸*	۶/۸۱±۳/۱۵
شاخص عملکرد پانکراس (HOMA.B)	۴۱/۸۴±۱۷/۶۲	۱۲/۲۱±۹/۲۳**	۲۱/۸۲±۷/۱۶	۳۳/۶۶±۱۵/۸	۲۵/۴۱±۲۶/۱۵
انسولین (میکرویونیت در میلی‌لیتر)	۹/۴۳±۵/۴۱	۱۴/۰۲±۷/۴۲	۴/۸۶±۴/۴۲	۱۳/۴۶±۹/۹۴	۱۱/۰۲±۸/۲۳

\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ( $P < 0.05$ ). \*\* نشان‌دهنده اختلاف معنادار گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل بکر ( $P < 0.05$ ).

## نتایج حاصل از اندازه‌گیری پروفایل‌های لیپیدی

بررسی پروفایل لیپیدی نشان داد میانگین سطح سرمی تری‌گلیسیرید در گروه‌های دریافت کننده عصاره به مقدار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی داشت.

البته میانگین سطح سرمی این فاکتور در گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری در مقایسه با گروه کنترل بکر داشت. میزان کلسترول تام و HDL در میان گروه‌های مختلف فاقد اختلاف معنادار بود (جدول ۲).

جدول ۲) میانگین پروفایل‌های لیپیدی در گروه‌های مختلف

پارامترها	گروه اول (کنترل بکر)	گروه دوم (کنترل دیابتی)	گروه سوم (دوز ۲۵۰)	گروه چهارم (دوز ۵۰۰)	گروه پنجم (دوز ۷۵۰)
تری‌گلیسرید (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۹/۶۷±۸/۹۱	۹۱/۱۶±۲۵/۳۰**	۳۶/۲۹±۲۱/۰۷*	۳۸/۳۳±۱۴/۹۶*	۵۳/۷۱±۳۶/۶۷
کلسترول (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۷۶/۱۷±۱۱/۷۲	۹۱/۳۳±۱۵/۶۴	۱۰۴/۲۲±۳۵/۱۶	۱۰۳±۲۹/۳۱	۸۵/۲۹±۲۴/۲۷
HDL-C (میلی‌گرم در دسی‌لیتر)	۴۱/۱±۵/۸۸	۵۲/۹۳±۷/۵۴	۵۴/۰۶±۱۶/۶۷	۵۲/۳۳±۱۷/۰۷	۴۴/۰۹±۹/۴۵

\*: نشان‌دهنده اختلاف معنادار گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی (P<۰/۰۵). \*\*: نشان‌دهنده اختلاف معنادار گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل بکر (P<۰/۰۵).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری واسپین، پروتئین شبه آنژیوپوئین-۳، آکالین فسفاتاز و وزن در گروه‌های مختلف میانگین سرمی واسپین، پروتئین شبه آنژیوپوئین-۳ و همچنین وزن موش‌ها در گروه‌های مختلف فاقد اختلاف معنادار بود، اما میانگین سطح سرمی آکالین فسفاتاز در گروه‌های دریافت کننده عصاره به مقدار

۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل دیابت داشت ولی میزان آکالین فسفاتاز در گروه کنترل دیابتی در مقایسه با کنترل بکر افزایش داشت (جدول ۳).

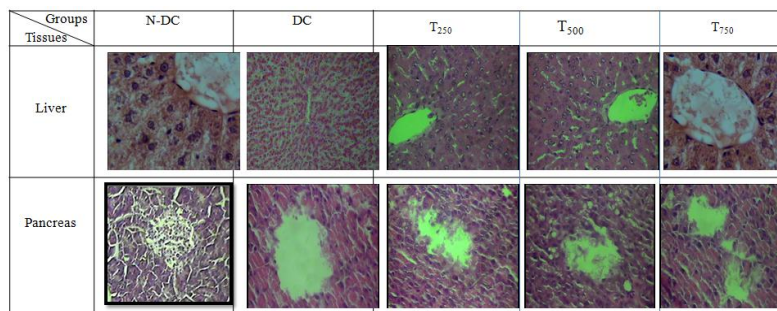
جدول ۳) میانگین وزن و سطح سرمی آنزیم آکالین فسفاتاز، واسپین و پروتئین شبه آنژیوپوئین-۳ در گروه‌های مختلف

پارامترها	گروه اول (کنترل بکر)	گروه دوم (کنترل دیابتی)	گروه سوم (دوز ۲۵۰)	گروه چهارم (دوز ۵۰۰)	گروه پنجم (دوز ۷۵۰)
پروتئین شبه آنژیوپوئین-۳ (نانوگرم در میلی‌لیتر)	۵۱/۴۷±۱۴۳/۲	۷۹/۷۳±۱۴۷/۱۷	۴۸/۵۴±۱۳۲/۵	۷۰/۰۴±۱۳۴/۱	۱۵/۵۱±۹۴/۵۷
واسپین (نانوگرم در میلی‌لیتر)	۱۲۲۰±۸۷/۹۳	۱۱۶۲/۵±۹۱/۷۶	۱۱۵۹/۵±۱۸۹/۰۶	۱۰۸۳±۱۶۵/۱۷	۱۱۵۸/۵۷±۱۲۴/۲۸
آکالین فسفاتاز (واحد در لیتر)	۳۵۳/۳۳±۴۶/۶۲	۱۲۷۲±۴۸۱/۴۸**	۷۵۸/۸۶±۳۲۴/۸*	۹۴۳/۵±۳۲/۴۸*	۱۰۸۴±۷۲۸/۵۸
وزن (گرم)	۲۵۰/۳۳±۳۸/۰۵	۲۵۲/۴۲±۳۷/۵۵	۲۵۴/۴۲±۲۳/۴۵	۲۵۵/۸۳±۴۲/۷۵	۲۲۳/۸۵±۳۰/۳۳

\*: نشان‌دهنده اختلاف معنادار گروه‌های تیمار در مقایسه با گروه کنترل دیابتی (P<۰/۰۵). \*\*: نشان‌دهنده اختلاف معنادار گروه کنترل دیابتی در مقایسه با گروه کنترل بکر (P<۰/۰۵).

متعاقب مصرف دوزهای مختلف گیاه استویا تغییر خاصی بر روی بافت پانکراس و بافت کبد در مقایسه با گروه کنترل دیابتی ایجاد نکرد، ولی در گروه کنترل

دیابتی نسبت به کنترل بکر تغییرات قابل ملاحظه بود (شکل ۱).



شکل ۱) فتومیکروگراف بافت پانکراس و بافت کبد در گروه‌های مختلف

انواع مختلف مواد هایپوگلیسمیک خوراکی همراه با انسولین برای درمان دیابت شیرین وجود دارد با این وجود درمان با داروهای کاهنده قندخون رضایت‌بخش

بحث آسیا و آفریقا نواحی هستند که شیوع دیابت شیرین در آن‌ها دو الی سه برابر نرخ حاضر است. تصور می‌شود

خشتی محلول در آب، قندهای آزاد، آمینواسیدها، لیپیدها و روغن‌های اساسی هستند (۲۵).

تحقیقات نشان داده است استویزوئید (یک دی‌ترین گلیکوزیدی که در گیاه *Stevia rebaudiana* وجود دارد) محرک ترشح انسولین از کلنی سلول‌های بتای موش می‌باشد (۲۶ و ۲۷) و دارای اثر ضدهایپرگلیسمی در حیوانات دیابتی است (۲۸ و ۲۹). تحقیقات چن (Chen) و همکاران نشان داد استویزوئید پس از تیمار رت‌ها با استرپتوزوتوسین موجب کاهش هایپرگلیسمی می‌شود (۳۰). تحقیقات جونبی (Junbi) و همکاران نشان داد رژیم‌های غذایی حاوی پروتئین گلوتن همراه با استویا با کاهش مقادیر گلوکز، کلسترول LDL و تری‌گلیسیرید موجب معکوس شدن اثرات دیابت می‌شوند و به‌عنوان یک کاندیدای مهم در بهبود مشکلات ناشی از دیابت می‌باشند (۳۱).

در مطالعه ما متعاقب مصرف استویا فقط تری‌گلیسیرید از پارامترهای لیپیدی کاهش یافت که می‌تواند ناشی از این باشد که تغییرات تری‌گلیسیرید نسبت به بقیه لیپیدها سریع‌تر انجام می‌شود و احتمالاً اگر مدت زمان مصرف استویا در افراد دیابتی افزایش یابد می‌تواند تغییرات مؤثری را روی لیپیدها اعمال نماید. تاکنون مکانیسم عمل استویزوئید به‌طور کامل توجه نشده است. تصور می‌شود مصرف خوراکی آن موجب افزایش حساسیت انسولینی سلول‌های موش‌های صحرایی مقاوم به انسولین می‌شود و اثرات ضدهایپرگلیسمی و محرک انسولین را در موش‌های دارای دیابت نوع ۲ اعمال می‌کند (۲۸ و ۳۲) که در این میان اثرات محرک انسولین اصلی‌ترین ویژگی آن محسوب می‌شود. استویزوئید موجب افزایش مصرف گلوکز در سلول‌های بافت عضله شده و گلوکونوزن کبدی را کاهش می‌دهد (۳۰ و ۳۳).

نیست. داروهایی نظیر بیگوانیدها و سولفونیل اوره‌ها در حال حاضر برای کاهش هایپرگلیسمی در دیابت به‌کار می‌روند. این داروها عوارض جانبی داشته و هنوز مدیریت دیابت بدون هرگونه عوارض جانبی یک چالش در جامعه پزشکی است، بنابراین جستجوی رده جدیدی از ترکیبات ممکن است بتواند نقش اساسی را در برطرف‌سازی مشکلات افراد دیابتی داشته باشند (۲۴).

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد میزان گلوکز سرم، مقاومت انسولینی و تری‌گلیسیرید در گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری در مقایسه با کنترل بکر پیدا می‌کند ولی استویا در مقادیر ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن موجب کاهش گلوکز سرم، مقاومت انسولینی و تری‌گلیسیرید در رت‌های دیابتی می‌شود. شاخص عملکرد پانکراس (HOMA.B) در گروه کنترل دیابت کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل بکر نشان می‌دهد. HOMA.B در گروه‌های تیمار نسبت به کنترل دیابتی افزایش غیرقابل معناداری یافت که این امر نشان‌دهنده افزایش غیرقابل توجه عملکرد سلول‌های بتا در گروه‌های تیمار می‌باشد. میانگین سرمی واسپین و پروتئین شبه آنژیوپوتین ۳- در گروه‌های مختلف فاقد اختلاف معنادار با یکدیگر است. میزان سرمی آنزیم آلکالین فسفاتاز در گروه کنترل دیابتی افزایش معناداری در مقایسه با کنترل بکر داشت ولی در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به‌مقدار ۲۵۰ و ۵۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل دیابتی داشت. عصاره خشک برگ‌های گیاه استویا (*Stevia rebaudiana*) حاوی فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، کلروفیل‌ها و گزانتوفیل‌های محلول در آب، اسیدهای هیدروکسی سینامیک، الیگوساکاریدهای

بوشهر انجام گرفت دلالت بر عدم تفاوت معنی دار واسپین نسبت به گروه کنترل داشت (۳۸ و ۳۹).

تن (Tan) و همکاران افزایش سطح واسپین در گردش را در زنان چاق PCOS گزارش کردند و ابراز داشتند که تجویز مت‌فرمین به میزان ۸۵۰ میلی‌گرم طی دوبار در روز به مدت ۶ ماه سطح واسپین را کاهش می‌دهد (۱۶). مطالعه دیگری بیان می‌دارد که میزان واسپین در چاقی و مقاومت انسولینی افزایش می‌یابد و با تزریق واسپین به موش‌های چاق تحمل گلوکز و حساسیت انسولینی بهبود می‌یابد (۱۵). نتایج این تحقیق بیانگر عدم تأثیر استویا بر میزان سرمی پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ می‌باشد.

اینوکا (Inukai) و همکاران گزارش کردند که میزان mRNA پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ در حدود ۲/۲ برابر در کبد موش‌های دیابتی شده با استرپتوزوتوسین افزایش می‌یابد و با تجویز انسولین به سطح نرمال برمی‌گردد، همچنین ابراز داشته‌اند که بیان این پروتئین در دو حالت کاهش انسولین و حالت مقاومت انسولین در افراد دیابتی افزایش می‌یابد (۱۸).

با توجه به مطالعات مذکور، عدم تغییرات واسپین و پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ متعاقب مصرف استویا را می‌توان چنین توجیه کرد که اولاً ممکن است اثرات استویا بر روی تغییر پارامترهای مرتبط با دیابت از طریق تغییر واسپین و پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ نباشد و ثانیاً احتمال دارد مدت زمان تیمار برای تغییر هورمون‌های مذکور کافی نبوده است. بنابراین نتایج این تحقیق نشان می‌دهد استویا تأثیری بر میزان سرمی واسپین و پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ ندارد ولی در دوزهای کم تا متوسط می‌تواند از طریق کاهش مقاومت انسولینی موجب کاهش میزان گلوکز و تری‌گلیسیرید در موش‌های صحرایی دیابتی شود. در

در مطالعه ما متعاقب مصرف دوزهای ۲۵۰ و ۵۰۰ گیاه استویا کاهش گلوکز و مقاومت انسولینی ایجاد گردید ولی میزان انسولین تغییر خاصی در هیچ‌کدام از گروه‌های درمانی نسبت به گروه کنترل دیابتی و حتی در گروه کنترل دیابتی نسبت به گروه کنترل بکر نداشت که احتمالاً می‌تواند ناشی از این باشد که دیابت ایجاد شده طی مطالعه ما بایستی ملایم یا متوسط باشد و دلیل تأیید کننده بیشتر آن موضوع عدم تغییر برگشت‌پذیری بافت‌های پانکراس در گروه‌های درمانی مختلف می‌باشد. با وجود اختلاف نظرهایی که در زمینه مکانیسم عمل استویزوتید وجود دارد، اکثر محققان معتقدند استویزوتید میزان گلوکز خون را به حد طبیعی می‌رساند. بررسی‌های متعدد نشان دادند ترکیبات استویا موجب کاهش معنادار قند در دیابتی‌ها می‌شوند و موجب افزایش قندخون در وضعیت هایپوگلیسمی می‌شوند که نیاز کار تجربی در این زمینه را بهبود می‌بخشد (۳۴).

عصاره استویا اثرات آنتی‌اکسیدانی و خنثی‌کنندگی رادیکال آزاد را نشان می‌دهند و اثرات محافظتی را بر عملکرد تخریبی رادیکال‌های هیدروکسیل در DNA اعمال می‌کنند (۳۵ و ۳۶). نتایج این تحقیق بیانگر عدم تأثیر استویا بر میزان سرمی واسپین و پروتئین شبه آنژیوپوتین-۳ می‌باشد. سیگر (Seeger) و همکاران طی مطالعه‌ای عدم رابطه واسپین با حساسیت انسولینی، گلوکز، انسولین و مقاومت انسولینی را گزارش کرده‌اند (۳۷). گالسلیک (Gulcelik) و همکاران نشان دادند که بین غلظت سرمی واسپین در بیماران دیابتی و گروه کنترل تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (۱۷). طی دو مطالعه مختلفی که بر روی وابستگان درجه یک افراد دارای دیابت نوع ۲ با قندخون نرمال و افراد BMI با PCOS نرمال در شهر

این راستا لازم است اثرات مصرف طولانی مدت استویا بر پارامترهای متعدد مرتبط با دیابت در افراد دیابتی مورد مطالعه قرار گیرد تا فواید، سمیت و عوارض جانبی استویا بیشتر روشن شود.

سپاس و قدردانی از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر و مرکز تحقیقات سلامت خلیج فارس به خاطر تأمین مالی و همکاری‌های لازم قدردانی می‌گردد.

## References:

- Kochhar A, Dhindsa S, Sachdeva R. Effect of Stevia Leaf (*Stevia rebaudiana*) Powder Supplementation and Nutrition Counselling on Anthropometric Parameters and Gain in Knowledge of the Subjects. *Ethno-Med* 2008; 2: 107-13.
- Agarwal V, Kochhar A, Sachdeva R. Sensory and Nutritional Evaluation of Sweet Cereal Products Prepared Using Stevia Powder for Diabetics. *Ethno-Med* 2009; 3: 93-8.
- Gregersen S, eppesen PB, Hols JJ, et al. Antihyperglycemic effects of stevioside in Type 2 diabetic subjects. *Metabolism* 2004; 53: 73-6.
- Sonkar S, Nigam S. Development of stevia products and their effect on blood glucose level of diabetic patients. *Plant Archives* 2010; 10: 907-10.
- Anton SD, Martin CK, Han H, et al. Effects of stevia, aspartame, and sucrose on food intake, satiety, and postprandial glucose and insulin levels. *Appetite* 2010; 55: 37-43.
- Atteh JO, Onagbesan OM, Tona K, et al. Evaluation of supplementary stevia (*Stevia rebaudiana*, bertonii) leaves and stevioside in broiler diets: effects on feed intake, nutrient metabolism, blood parameters and growth performance. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2008; 92: 640-9.
- Agarwal V, Kochhar A, Sachdeva R. Sensory and Nutritional Evaluation of Sweet Milk Products Prepared Using Stevia Powder for Diabetics. *Ethno Med* 2010; 4: 9-13.
- Da Silva GES, Assef AH, Albino CC, et al. Investigation of the tolerability of oral stevioside in Brazilian hyperlipidemic patients. *Braz Arch Biol Technol* 2006; 49: 583-7.
- Jayaraman S, Saravanan Manoharan M. In-vitro Antimicrobial and antitumor activities of Stevia Rebaudiana (Asteraceae) Leaf Extracts. *Trop J Pharm Res* 2008; 7: 1143-9.
- Ghosh S, subudli E, Nayak S. Antimicrobial assay of stevia rebaudiana bertonii leaf extracts against 10 pathogenes. *Int J Integr Biol* 2008; 2: 27-31.
- Yun Jeong II, Hyo Jung Lee, Chang Hyun Jin, et al. Anti-inflammatory activity of stevia rebaudiana in LPS-induced RAW 264.7 cells. *J Food Science and Nutrition* 2010; 15:14-18.
- Hida K, Wada J, Eguchi J, et al: Visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor: a unique insulin-sensitizing adipocytokine in obesity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10610-5.
- Kemp K, Rose B, Illig T, et al. Vaspilin (SERPINA12) genotypes and risk of type2 diabetes: result from the MONICA/KORA studies. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2010; 118: 184-9.
- YE Y, Hou XH, Pan XP, et al. Serum vaspilin level in relation to postprandial plasma glucose concentration in subjects with diabetes. *Chin med J* 2009; 122: 2530-3.
- Youn BS, Klötting N, Kratzsch J, et al. Serum vaspilin concentrations in human obesity and type2 diabetes. *Diabetes* 2008; 57: 372-7.
- Tan BL, Heutling D, Chen J, et al. Metformin decrease the adipokine vaspilin in overweight women with polycystic ovary syndrome concomitant with improvement in insulin sensitivity and a decrease in insulin resistance. *Diabetes* 2008; 57: 1501-7.
- Gulcelik NE, Karakaya J, Gedik A, et al. Serum vaspilin levels in type2 diabetic women in relation to microvascular complications. *Eur J Endocrinol* 2009; 160: 65-70.
- Inukai K, Nakashima Y, Watanabe M, et al. "ANGPTL3 is increased in both insulin-deficient and -resistant diabetic states." *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 317: 1075-9.
- Shimamura M, Matsuda M, Kobayashi S, et al. Angiopoietin-like protein 3, a hepatic secretory factor, activates lipolysis in adipocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 301: 604-9.
- Neustadt J, Pieczenik SR. Medication-induced mitochondrial damage and disease. *Mol Nutr Food Res* 2008; 52: 780-8.
- Nathan DM, Buse JB, Davidson MB, et al.

- Management of hyperglycemia in type 2 diabetes: A consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: A consensus statement from the American diabetes association and the European association for the study of diabetes. *Diabetes Care* 2006; 29: 1963-72.
22. WHO Expert Committee on Diabetes Mellitus: Second report. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1980; 646: 1-80.
  23. Radzikowski C. Protection of animal research subjects. *Sci Eng Ethics* 2006; 12: 103.
  24. Noora S, Gunasekaran AS, Manickam MA, et al. Antidiabetic activity of Aloe vera and histology of organs in streptozotocin induced diabetic rats. *Curr Sci* 2008; 94: 1070-6.
  25. Komissarenko NF, Derkach AI, Kovalyov IP, et al. Diterpene glycosides and phenylpropanoids of *Stevia rebaudiana* Bertoni. *Rastifelye Resumy* 1994; 30: 53-64.
  26. Jeppesen PB, Gregersen S, Hermansen K. Stevioside and steviol stimulate insulin secretion from isolated mouse islets. *Diabetologia* 1996; A125: 472.
  27. Jeppesen PB, Gregersen S, Poulsen CR, et al. Stevioside acts directly on pancreatic beta cells to secrete insulin: actions independent of cyclic adenosine monophosphate and adenosine triphosphate-sensitive K<sup>+</sup>-channel activity. *Metabolism* 2000; 49: 208-14.
  28. Jeppesen PB, Gregersen S, Alstrup KK, et al. Stevioside induces antihyperglycaemic, insulinotropic and glucagonostatic effects in vivo: studies in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rats. *Phytomedicine* 2002; 9: 9-14.
  29. Jeppesen PB, Gregersen S, Rolfsen SE, et al. Anti-hyperglycemic and blood pressure reducing effects of stevioside in the diabetic Goto-Kakizaki (GK) rat. *Metabolism* 2003; 52: 372-8.
  30. Chen TH, Chen SC, Chan P, et al. Mechanism of the hypoglycaemic effect of stevioside, a glycoside of *Stevia rebaudiana*. *Planta Med* 2005; 71: 108-13.
  31. Junbi Hend HA, Amer Afaf HB. Biological properties of Stevia sweetener and egg replacers' products on serum biochemical markers of diabetic rats. *International Journal of Nutrition and Metabolism* 2010; 2: 82-7.
  32. Chang JC, Wu MC, Liu IM, et al. Increase of insulin sensitivity by stevioside in fructose-rich chow-fed rats. *Horm Metab Res* 2005; 37: 610-6.
  33. Lailerd N, Saengsirisuwan V, Sloniger JA, et al. Effects of stevioside on glucose transport activity in insulin-sensitive and insulin-resistant rat skeletal muscle. *Metabolism* 2004; 53: 101-7.
  34. Singh SD, Rao GP. Stevia: The herbal sugar of 21st century. *Sugar Tech* 2005; 7: 17-24.
  35. Shukla S, Mehta A, John J, et al. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of *C. bounducella* seeds. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 1848-51.
  36. Shukla S, Mehta A, Bajpai VK, et al. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of *S. rebaudiana* Bert. *Food Chem Toxicol* 2009; 47: 2338-43.
  37. Seeger J, Ziegelmeier M, Bachmann A, et al. Serum Levels of the Adipokine Vaspin in Relation to Metabolic and Renal Parameters. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 247-51.
  38. Akbarzadeh S, Nabipour I, Jafari SM, et al. Serum visfatin and vaspin levels in normoglycemic first-degree relatives of Iranian patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Research and Clinical Practice* 2012; 95: 132-8.
  39. Akbarzadeh S, Ghasemi S, Kalantarhormozi M, et al. Relationship among plasma adipokines, insulin and androgens level as well as biochemical glycemic and lipidemic markers with incidence of PCOS in women with normal BMI. *Gynecological Endocrinology* 2012; 28: 521-4.

Original Article

# The effects of aqueous extract of stevia plant (*Stevia rebaudiana*) on serum concentration of vaspin and Angiopoietin-like Protein-3 in streptozotocin induced diabetic rats

*S. Akbarzadeh*<sup>1</sup>, *A. Barghahi*<sup>2</sup>, *AR. Rahbar*<sup>3</sup>, *A. Daneshi*<sup>2</sup>,  
*S. Najafpour Bushehri*<sup>3</sup>, *K. Pourkhalili*<sup>4</sup>, *SM. Jafari*<sup>5</sup>, *N. Hajian*<sup>1</sup>,  
*B. Naeimi*<sup>6</sup>, *P. Farzadinia*<sup>7\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

<sup>2</sup> The Persian Gulf Marine Biotechnology Research Center, The Persian Gulf Biomedical Research Institute, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

<sup>3</sup> Department of Nutrition, Faculty of Public Health, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

<sup>4</sup> Department of Physiology, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

<sup>5</sup> Department of Immunology, Faculty of Paramedical, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

<sup>6</sup> Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

<sup>7</sup> Department of Biology and Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, Iran

(Received 5 Dec, 2013      Accepted 9 Jan, 2014)

## Abstract

**Background:** Considering the importance of the prevalence of diabetes which involves approximately 6% of the world's adult population, the need for low-calorie natural sweetener is felt more than ever. Recent studies have shown that hormones such as vaspin and Angiopoietin-like Protein3 (ANGPTL3) are associated with diabetes. The purpose of this study is to evaluate the effect of Stevia (*Stevia rebaudiana*) plant (as a low calorie sugar) on serum concentration of vaspin and ANGPTL3 in diabetic rats.

**Materials and Methods:** In this case-control study, forty male wistar rats weighing 180-250 g were divided into 5 equal groups: control, diabetic control and doses of 250, 500 and 750 mg/kg/BW/day of Stevia extract treatment. Diabetes was induced by intravenous injection of Streptozotocin (60 mg/kg). After 5 days, the rats with glucose above 300 mg/dl were considered as diabetic. The Stevia treatment groups received 250, 500 and 750 mg of Stevia extract for thirty days. At the end of experiment, blood samples were obtained measurement of vaspin, ANGPTL3, triglycerides, cholesterol, HDL, glucose, insulin and ALP. Histological study of the pancreas and liver biopsy were also performed. The results of the treatment and control groups were analyzed by SPSS software and  $P < 0.05$  was considered statistically significant.

**Results:** The level of alkaline phosphatase, insulin resistance index, glucose and triglyceride were decreased significantly in the groups 250 and 500 compared with the diabetic control group ( $p \leq 0.05$ ). However, insulin levels, HOMA.B, vaspin, ANGPTL3 and weight of the rats in all treatment groups were not significantly different from the control diabetic group. There were no histological changes in pancreatic and liver tissue following Stevia treatment.

**Conclusion:** Administration of Stevia extract via reduction in serum glucose, triglyceride and insulin resistance can be effective in lowering the blood sugar and lipid, also lowering concentrations of serum alkaline phosphatase may have a protective effect on the liver. However it should be considered the appropriate dosage of Stevia extract treatment is very important.

**Key words:** Stevia, Diabetes, Insulin, vaspin, Angiopoietin-like Protein3, insulin resistance, alkaline phosphatase

\*Address for correspondence: Department of Biology and Anatomical Sciences, Faculty of Medicine, Bushehr University of Medical Sciences, Bushehr, IRAN. E-mail: bazyy\_par@yahoo.com

Website: <http://bpums.ac.ir>

Journal Address: <http://ismj.bpums.ac.ir>