DOI: 10.22055/ivj.2024.434558.2673

مطالعه اثرات فراکسیون‌های سم عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* بر مقادیر گلوکز و هورمون‌های انسولین، گلوکاگون و کورتیزول در رت

نوید کوشکی[۱]، محمد راضی‌جلالی[۲*]، سیدرضا فاطمی‌طباطبایی[۳] و هدیه جعفری[۴]

[۱] دانشجوی دکتری تخصصی کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۴] استادیار انگل شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۱/۹

چکیده

عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* به عنوان خطرناک‌ترین عقرب در مناطق جنوب و جنوب غربی ایران شناخته شده است. این عقرب می‌تواند موجب بیماری و حتی مرگ در انسان و حیوانات شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات متابولیک و اندوکرین فراکسیون-های مختلف سم عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* بود. برای این منظور سم عقرب به روش شوک الکتریکی استحصال و پس از جداسازی فاز محلول به کمک کروماتوگرافی ستونی توسط ژل سفادکس G-50، تعداد ۶ فراکسیون بر اساس جذب نوری در طول موج ۲۸۰ nm جداسازی شد. سپس ۷۲ سر رت نر نژاد ویستار در ۸ گروه مساوی شامل کنترل (NS)، سم خام (۱۰۰۰ µg/kg)، فراکسیون‌های I (۱۲۰ µg/kg)، II (۴۳۰ µg/kg)، III (۸۰ µg/kg)، IV (۱۸۰ µg/kg)، V (۶۰ µg/kg) و VI (۱۳۰ µg/kg) تقسیم و طبق مقادیر فوق به ترتیب با سرم فیزیولووژی، سم خام و فراکسیون‌های مختلف از طریق داخل صفاقی مورد تزریق قرار گرفتند. آنگاه در زمان ۱، ۳، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از تزریق، غلظت گلوکز به روش آنزیمی و مقادیر هورمون‌های انسولین، گلوکاگون و کورتیزول به روش الیزا با استفاده از کیت‌های اختصاصی رت مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد تزریق سم خام و تمامی فراکسیون‌ها موجب افزایش معنی‌دار گلوکز نسبت به گروه کنترل گردید. همچنین افزایش معنی‌دار کورتیزول و گلوکاگون متعاقب تزریق در سم خام و فراکسیون‌های II و VI مشاهده گردید. همچنین میانگین انسولین در گروه‌های دریافت کننده سم خام و فراکسیون‌های II و VI کاهش معنی‌داری را نشان داد. این یافته‌ها نشان داد که تزریق فراکسیون‌های مختلف سم عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* می‌تواند با اثر بر هورمون های تنظیم کننده گلوکز روند متابولیسم را تحت تأثیر قرار داده و موجب تغییراتی در فرآیندهای متابولیسمی شود. شناسایی این اثرات با توجه به اثرات وسیع این هورمون‌ها در متابولیسم و همچنین تغییرات ناشی از فراکسیون‌های سم می‌تواند به درشناسایی هر چه دقیق‌تر مکانیسم‌های سمیت و نیز اتخاذ روش‌های درمانی اختصاصی در موارد عقرب گزیدگی کمک کننده و مفید باشد.

کلمات کلیدی: *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس*، فراکسیون، انسولین، گلوکاگون، کورتیزول، گلوکز

مقدمه

سالانه حدود ۵۰ هزار مورد عقرب‌گزیدگی در ایران ثبت می‌شود. مطالعات اپیدمیولوژیک نیز نشان داده است که عقرب گزیدگی بیش‌ترین نوع مسمومیت را در کشور تشکیل می‌دهد. این پدیده نیز بیش‌تر در جنوب غرب کشور رخ می‌دهد (Pipelzadeh et al, 2007). عقرب‌ها از شاخه بندپایان (Phylum Arthropdoa)، رده عنکبوتیان

* نویسنده مسئول: محمد راضی‌جلالی، استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: jalali_m@scu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

(Class Archnida) و راسته اسکورپیوندیا (Order Scropionida) هستند. دستگاه سمی آن‌ها در انتهای دم قرار گرفته و شامل دو غده سمی است که در پوشش ضخیم کیتینی جای گرفته است (Di Nicola et al, 2024).

عقرب‌ها نقش مهم و جدی در سلامت جامعه، به ویژه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری، ایفا می‌کنند (Elmourid et al, 2023; Gueron et al, 2000). بیش از ۱۵۰۰ گونه عقرب در سراسر دنیا شناخته شده است. *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* یکی از انواع خطرناک است که در جنوب و جنوب غرب ایران پراکنده و یکی فراوان‌ترین عقرب‌های موجود در خوزستان است (Radmanesh 1990). این عقرب، همچون سایر عقرب‌ها، می‌تواند سلامت انسان‌ها را به خطر اندازد. سم این عقرب مخلوطی از توکسین‌های مختلف، پپتیدها، آنزیم‌ها، آمین‌ها، لیپیدها و سایر ترکیبات فعال زیستی ناشناخته است (Hmed et al, 2015; Ortiz et al, 2015; Shahbazzade et al, 2007; Srairi et al, 2008). این سموم عمدتا کانال‌های یونی (Cl، K، Ca و Na) را مسدود یا دچار تغییر می‌کنند. توکسین-هایی که دارای زنجیره بلند (۶۰ تا ۷۰ اسیدآمینه) با چهار پیوند دی‌سولفیدی درون زنجیره‌ای هستند بر روی کانال-های سدیمی عمل می‌کنند و توکسین‌های با زنجیره کوتاه (۳۰ تا ۴۰ توالی اسیدآمینه) با سه پیوند دی‌سولفیدی، عمدتا روی کانال‌های کلر و پتاسیم اثر می‌گذارند (Biggen et al, 2000; Catterall et al, 2007; Goudet et al, 2002). این عمل منجر به طولانی شدن پتانسیل عمل و یا تحریک پی-درپی سلول‌های عصبی و تجمع یون‌های کلسیم یا سدیم در سلول می‌شود و در نهایت منجر به آزاد شدن غیرفعال نروترانسمیترها از بافت‌های تحت تأثیر می‌گردد (Hill et al, 1981) و ممکن است منجر به عوارض گوناگون همولیتیک، نوروتوکسیک و سایتوتوکسیک گردد. همچنین سم این عقرب با ایجاد آسیب‌های بافتی و عروقی، و به واسطه آزادسازی مقادیر زیادی از کتکول آمین‌ها اختلالات اندوکرینی و متابولیکی را ایجاد می‌کنند (Petricevich et al, 2010).

مواجهه با سم این عقرب می‌تواند منجر به آسیب‌های متعدد به دستگاه قلبی-عروقی، عصبی و ریوی (Amaral et al, 1993; Ismail et al, 1992) و ایجاد علایم بالینی متنوع نظیر درد، تعریق، تب و افزایش فشار خون و اختلالات عصبی و حتی ایجاد اختلال در پوست گردد (Radmanesh et al, 1998). همچنین در موارد شدیدتر هماچوری ناشی از اثر همولیتیک سم نیز به چشم می‌خورد (Radmanesh, 1990).

در بسیاری موارد عقرب گزیدگی منجر به آزادسازی مقادیر زیادی کتکول‌آمین‌ها و نیز هورمون‌های تنظیم کننده متابولیسم (گلوکاگون و کورتیزول) و کاهش ترشح انسولین و مقاومت انسولینی می‌گردد (Devarbhavi and Murthy 2013). در این شرایط متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین-ها و چربی‌ها به سمت کاتابولیسم می‌رود و متعاقبا هایپرگلیسمی ایجاد می‌گردد که با پیش آگهی ضعیف در موارد عقرب گزیدگی همراه است (Bahloul et al, 2018).

با توجه به اهمیت هورمون‌های مورد مطالعه در تنظیم محیط داخلی بدن و احتمال اثر سم این عقرب بر فرآیند تولید هورمون‌ها از یک سو و تغییرات حیاتی ناشی از آن‌ها از سوی دیگر، در این مطالعه تغییرات این هورمون‌ها پس از تزریق سم خام و بدنبال آن فراکسیون‌های جدا شده از آن در رت مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه پیامدهای بیماری‌زا، و روندهای ناشی از گزش با این عقرب، مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌های حاصل از این مطالعه می‌تواند به اتخاذ تدابیر درمانی مناسب یاری رساند.

مواد و روش کار

این مطالعه روی ۷۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار سالم با میانگین وزنی ۲۰ ±۲۰۰ گرم انجام شد. موش‌ها به صورت تصادفی به ۸ گروه مساوی تقسیم شدند. میزان LD_{50} سم خام ۶/۲ mg/kg در نظر گرفته شد و تزریق هر فراکسیون بر اساس درصد حضور آن در سم خام بر حسب ۱۰۰۰ میکروگرم سم خام محاسبه و انجام شد. میزان دوز هر یک از فراکسیون‌ها بر اساس مطالعات قبلی و Table 1

تعیین گردید (Khataminia, 2020; Yazdkhasti, 2021).
گروه‌های مورد مطالعه و میزان دریافت سم به صورت تزریق داخل صفاقی عبارتند از:
گروه اول (C): دریافت ۰/۵ ml سرم فیزیولوژی
گروه دوم (F0): دریافت ۱۰۰۰ µg سم خام
گروه سوم (FI): دریافت FI به میزان ۱۲۰ µg/kg
گروه چهارم (FII): دریافت FII به میزان ۴۳۰ µg/kg
گروه پنجم (FIII): دریافت FIII به میزان ۸۰ µg/kg
گروه ششم (FIV): دریافت FIV به میزان ۱۸۰ µg/kg
گروه هفتم (FV): دریافت FV به میزان ۶۰ µg/kg
گروه هشتم (FVI): دریافت FVI به میزان ۱۳۰ µg/kg

Table 1: Protein contents and yields of *Hemiscorpius lepturus* venom fractions

Parameter	FI	FII	FIII	FIV	FV	FVI
Protein (mg)	8.04	28.81	5.36	12.06	4.02	8.71
Efficiency (%)	12	43	8	18	6	13

پس از خرید و جمع‌آوری حدود ۱۰ هزار عقرب، با استفاده از دستگاه شوک الکتریکی با ولتاژ ۱۲-۶ v سم‌گیری انجام شد (موسسه رازی اهواز). بعد از هر بار سم‌گیری، سموم استحصال شده در دمای ۲۰- °C نگهداری شدند. سپس با استفاده از دستگاه خشک کننده در خلاء در دمای ۵۶ °C و فشار ۰/۰۳ اتمسفر به مدت ۴۸ ساعت لیوفیلیزه شدند. آنگاه به کمک دستگاه سانتریفیوژ (به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۳ هزار در دقیقه) هموژنیزه گردید. پس از آن محلول رویی که حاوی پروتئین‌های سم است از رسوب سم جدا شده و مایع شفاف به دست آمده جهت آزمایشات بعدی در فریزر ۲۰- درجه سلسیوس نگهداری شدند.

جهت آماده سازی ستون، ۱۰ گرم رزین سفادکس G50 (فارماسیا، سوئد)، در بافر آمونیوم ۲۰ میلی‌مولار با PH=8.5 مخلوط شده و ستون طبق پروتکل‌های استاندارد آماده شدند. پس از آن ستون با سه برابر حجم آمونیوم استات ۲۰ میلی‌مولار شستشو داده شده و متعادل گردید. مقدار ۵۰ میلی‌گرم سم آماده شده به ستون تزریق گردیده و اجزاء با سرعت جریان ۰/۳ میلی‌لیتر در دقیقه توسط دستگاه خشک کننده در خلاء در مدت زمان ۱۸ ساعت جمع‌آوری شدند. طول موج شناسایی به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر ماوراء بنفش در طول موج ۲۸۰ nm جمع‌آوری شدند و کروماتوگرام نهایی منحنی جذب لوله‌ها با نرم افزار Unicorn به دست می‌آید. اجزاء تهیه شده در دستگاه خشک کن انجمادی در دمای ۵۶ °C- و فشار ۰/۰۴ اتمسفر به مدت ۲۴ ساعت لیوفیلیزه شده و با روش برادفورد تعیین غلظت شدند.

برای تعیین غلظت پروتئین فراکسیون‌های به دست آمده، از روش برادفورد استفاده شد. در این روش معرف رنگی کوماسی بلو با اسیدهای آمینه بازی و آروماتیک موجود در پروتئین واکنش داده و بر اساس تغییر بیش‌ترین جذب نوری کوماسی برلیانت بلو G-250 از ۴۵۰ نانومتر به ۵۹۵ نانومتر در هنگام اتصال به پروتئین عمل می‌نماید (Bradford, 1976).

جهت بررسی کیفیت فراکسیون‌های جمع‌آوری شده از روش SDS-PAGE استفاده شد. بعد از آماده‌سازی ژل پلی‌آکریل‌آمید ۱۸ درصد در مدت زمان ۱۰ ساعت با جریان ۳۰ میلی‌آمپر الکتروفورز شده و سپس رنگ‌آمیزی کوماسی برلیانت بلو R250 به مدت ۲۴ ساعت صورت گرفت. بعد از آن رنگ‌بری با ۳۰ درصد استیک اسید و ۱۰ درصد متانول انجام شد و در پایان نتایج با سیستم مستند سازی ژل (Gel Documentation system) ثبت گردید.

در زمان‌های ۱، ۳، ۲۴ و ۷۲ ساعت پس از اتمام تزریق سم و فراکسیون‌ها، از کلیه گروه‌ها (هر بار از ۳ سر رت) پس از بیهوش نمودن با ۶۰ mg/kg پنتوباربیتال سدیم به صورت تزریق داخل صفاقی، از طریق داخل قلبی خون-گیری شد. نمونه‌های خون در کنار هپارین جمع‌آوری شده و پس از سانتریفوژ به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور پلاسما جداسازی شد.

به منظور اندازه‌گیری شاخص‌های هورمونی شامل مقادیر انسولین، گلوکاگون، کورتیزول به روش الایزا با استفاده از کیت‌های اختصاصی رت (سانديا‌گو، آمریکا) و همچنین مقادیر گلوکز به روش گلوکز اکسیداز با استفاده از اتوآنالایزر (BT-1500، Biotecnica، ایتالیا) اندازه‌گیری شدند.

داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۴ و آزمون آنالیز واریانس و آزمون تکمیلی Tukey مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری نیز کوچک‌تر و مساوی ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج حاصل از تزریق فراکسیون‌های سم و سم خام در مقایسه با گروه شاهد به تفکیک به شرح زیرمی‌باشد:

گلوکز

همان طور که از Table 2 قابل مشاهده است، تزریق سم خام و تمامی فراکسیون‌ها منجر به افزایش معنی‌دار میزان گلوکز نسبت به گروه کنترل شد (P≤ ۰/۰۵).

Table 2: Mean ± Standard Deviation of Glucose (mg/dl) after injection of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom fractions in Different Groups and Times

Group	Sampling time			
	1 h	3 h	24 h	72 h
C	101.66±3.51	94.00±7.00	92.00±7.81	91.00±4.52
F0	154.75±6.44**	130.75±2.21**	120.5±5.91*	118±4.32*
FI	125.33±10.14*	128±10.14**	124.33±4.72*	125.33±2.51*
FII	131.33±4.50**	127.00±3.60*	123.33±2.08*	123.00±4.24*
FIII	118.00±2.64*	125.33±1.52*	118.66±5.50*	119.66±5.68*
FIV	117.00±3.60*	118.00±5.56*	113.00±6.08*	116.66±8.02*
FV	122.00±5.29*	118.66±7.23*	122.66±5.50*	123.00±6.55*
FVI	138.33±4.16**	138.33±3.05**	133.66±6.11**	135.00±7.09*

*P≤0.05 compare with control group **P≤0.001 compare with control group

انسولین

Table 3 نشان داد که تزریق سم خام در تمامی زمان‌ها و تزریق فراکسیون‌های II و VI در ساعت ۱ و ۳ پس از تزریق منجر به کاهش سطح انسولین گردید که این کاهش نیز از نظر آماری معنی‌دار بود.

Table 3: Mean ± standard deviation of insulin (pg/ml)after injection of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom fractions in different groups and times

Group	Sampling time			
	1 h	3 h	24 h	72 h
C	11.48±0.70	11.62±0.63	12.70±1.07	12.94±1.23
F0	8.83±0.66*	4.28±0.78**	7.92±0.47*	8.12±0.23*
F1	11.02±0.50	12.02±0.50	12.62±0.43	12.96±0.50
FII	9.91±0.19*	8.99±0.23*	10.21±0.47	11.08±0.48
FIII	10.06±56.95	10.34±0.45	10.12±0.18	11.27±0.46
FIV	12.84±0.21	12.16±0.23	11.42±0.64	12.80±0.25
FV	11.12±0.66	11.40±0.48	12.09±0.43	11.77±0.17
FVI	9.05±0.71*	8.00±0.66*	12.53±0.51	11.53±0.41

*P≤0.05 compare with control group **P≤0.001 compare with control group

کورتیزول

نتایج مندرج در Table 4 نشان داد که میانگین کورتیزول پس از تزریق سم خام در تمامی ساعت‌های مورد مطالعه نسبت به گروه کنترل افزایش یافته که این افزایش در تمامی زمان‌ها از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین میانگین مقادیر این هورمون در فراکسیون II و VI در تمامی ساعت‌های مورد مطالعه به صورت معنی‌داری افزایش یافته است.

Table 4: Mean ± standard deviation of cortisol (pg/ml)after injection of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom fractions in different groups and times

Group	Sampling time			
	1 h	3 h	24 h	72 h
C	3.10±0.12	3.25±0.34	2.78±0.30	2.66±0.24
F0	12.95±1.72**	11.48±0.61**	9.49±0.56**	9.51±0.23**
F1	3.56±0.21	3.00±0.21	3.43±0.43	3.70±0.51
FII	6.87±2.71**	5.87±0.98**	5.05±0.78**	4.06±0.14*
FIII	3.67±0.43	3.14±0.28	3.15±0.17	2.90±0.18
FIV	3.89±0.53	3.47±0.63	3.12±0.14	3.23±0.36
FV	3.97±0.18	3.57±0.63	3.22±0.45	3.14±0.23
FVI	5.72±0.51**	4.12±083*	3.48±0.39	2.77±0.60

*P≤0.05 compare with control group **P≤0.001 compare with control group

گلوکاگون

همان طور که در Table 5 قابل مشاهده است، میانگین گلوکاگون پس از تزریق سم خام در تمامی ساعت‌های مورد مطالعه و پس از تزریق فراکسیون‌های II و VI در زمان‌های ۱ و ۳ ساعت بعد از تزریق به طور معنی‌داری افزایش یافته است.

Table 5: Mean ± standard deviation of glucagon (pg/ml) after injection of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom fractions in different groups and times

Group	Sampling time			
	1 h	3 h	24 h	72 h
C	113.5±7.77	106.00±7.54	103.00±7.70	101.12±4.54
F0	160.50±6.24**	171.75±11.23**	132.00 ±6.05*	131.01±4.52*
F1	121±4.50	113.66±4.50	107.00±4.58	104.33±3.78
FII	142.00±3.60*	137.00±7.60*	116.00±6.24	116.50±14.84
FIII	110.5±8.88	107.66±5.50*	107.00±4.58	107.00±5.00
FIV	114.33±4.72	104.66±2.51	98.33±2.51	107.33±5.03
FV	111.33±4.61	103.00±9.16	97.33±5.03	104.66±3.05
FVI	136.33±5.50*	126.66±3.05*	115.66±7.57	107.00±4.58

*P≤0.05 compare with control group **P≤0.001 compare with control group

بحث

امروزه از سم عقرب و خالص سازی توکسین های آن برای تهیه آنتی‌ونوم و درمان عوارض مختلف عقرب گزیدگی استفاده می‌شود (Abroug et al, 2020; Godoy et al, 2021; Lergos et al, 2001). در کنار فواید پرشمار آن نظیر درمان برخی از اختلالات بدخیم، (Setayesh-Mehr et al, 2023) و خواص درمانی دیگر (Bagheri-Ziari et al, 2021) شناسایی اثرات هر یک از اجزای سم علاوه بر اهمیت آن در مباحث درمانی در شناخت هر چه بهتر عوارض سم نیز از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مطالعات انجام شده بر اثرات انواع سم عقرب‌ها در

حیوانات آزمایشگاهی نشان داده است که کلیه اثرات ناشی از زهر این عقرب‌ها مربوط به پلی‌پپتیدهای با وزن ملکولی پایین بوده که به عنوان توکسین‌های اصلی زهر عقرب قلمداد می‌شوند (Legros et al, 2001).

نتایج این مطالعه نشان داد که سم خام و برخی فراکسیون‌های عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* موجب افزایش آزادسازی هورمون‌های گلوکاگون و کورتیزول و همچنین کاهش ترشح انسولین می‌گردد که به دنبال آن میزان ترشح گلوکز افزایش می‌یابد. بیش‌تر تغییرات ناشی از سم و فراکسیون‌های II و VI در زمان‌های ۱ و ۳ ساعت پس از تزریق بوده و حکایت از اثرات سریع سم بر پارامترهای مورد نظر و به تبع آن سایر متابولیت‌ها بوده است.

این نتایج با یافته‌های حاصل از بررسی سایر عقرب‌ها در خصوص افزایش گلوگاگون (Johanson et al, 1976)، افزایش کورتیزول (Gureon et al, 1987; Freire et al, 1987) و کاهش سطح انسولین (Murthy et al, 1986) هم‌خوانی دارد. بنابراین در این شرایط این انتظار وجود دارد که متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و چربی‌ها به سمت کاتابولیسم هدایت شود. این رخداد نیز موجب تحریک گلوکونئوژنز و افزایش گلوکز سرم می‌گردد. در این حالت اسیدهای چرب آزاد و به عنوان سوخت برای متابولیسم رقابت می‌کنند. عوارض هایپرگلایسمی نیز با کاهش سطح سیتوکاین‌های پیش التهابی، افزایش ترشح انسولین و افزایش فعالیت گلوتاتیون پراکسیداز همراه است. بنابراین، مسمومیت منجر به افزایش گلوکز سرم و هیپرگلایسمی می‌شود (Murthy et al, 1988). Omran و همکاران (۱۹۹۲) و Zare و همکاران (۱۹۹۴) نیز بر این باور بودند که سم خام این عقرب منجر به هیپرگلایسمی در مدل حیوانی می‌شود. در مطالعات مشابه دیگر نیز افزایش سطح گلوکز خون ۱، ۲ و ۴ ساعت پس از تزریق سم این عقرب گزارش شده است (Salman et al, 2017).

Arjmand و همکاران (۲۰۱۵) نشان داده‌اند که بیش‌ترین اثرات سم عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* در قربانیان این عقرب بر پانکراس، سلول‌های عصبی و طحال بوده است. از طرفی با ایجاد طوفان اتونومیک در اثر عقرب گزیدگی، تولید کتکول آمین‌ها اتفاق می‌افتد و این خود منجر به ترشح کورتیزول و گلوکاگون و افزایش سطح هورمون‌های تیروئیدی خواهد شد و در نتیجه منجر به کاهش سطح انسولین و افزایش قند خون می‌گردد. Bahloul و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی به بررسی مکانیسم‌ها و پیامدهای هایپرگلایسمی ناشی از عقرب گزیدگی پرداختند نشان دادند که سم عقرب پس از تأثیر بر بافت‌های مختلف و متعاقب افزایش استرس و مقاومت انسولینی، منجر به هایپرگلایسمی می‌گردد. در مطالعات مشابه دیگر نیز مشخص شده است که سم این عقرب می تواند منجر به ایجاد پانکراتیت گردد (Fletcher et al, 2010). همچنین مشخص شده است که القا مستقیم سم این عقرب در پانکراس موش صحرایی نیز منجر به مهار ترشح انسولین و تحریک ترشح گلوکاگون می‌شود (Johnson et al, 1976). از این روی می‌توان بیان نمود که آزاد شدن گلوگاکون به دنبال سم عقرب به دلیل آزاد شدن نوراپی‌نفرین از پایانه‌های عصبی آدرنرژیک پانکراس است، همچنین احتمالا سم این عقرب محرک مؤثرتری نسبت به نوراپی‌نفرین در ترشح گلوکاگون از سلول‌های پانکراس است (Salman et al, 2017). در مطالعه Razi Jalali و همکاران (۲۰۲۰) بر اثرات سم عقرب *مزوبوتوس‌اپئوس* نشان داده شد که سم این عقرب موجب سرکوب ترشح هورمون‌های T_3، T_4 و انسولین و همچین تحریک ترشح گلوکاگون و کورتیزول گردیده و منجر به هیپرگلایسمی می‌شود. Moghadam و همکاران (۲۰۰۹) نیز به بررسی اثرات این عقرب روی پارامترهای بیوشیمیایی پرداختند. نتایج مطالعه آنان نشان از آن داشت که در اغلب موارد، گلوکز خون در یک ساعت اول پس از مسمومیت به میزان کم‌تر از ۶۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر کاهش می‌یابد و سطح کلسترول، تری گلیسیرید و پروتئین کل به طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. اما، سایر پارامترها مانند اوره، کراتینین و اسید اوریک بدون تغییر باقی می‌مانند. آنان بر اساس

مشاهدات خود اذعان داشتند که علت تغییرات بیوشیمیایی، به دلیل افزایش ترشح کاتکول آمین‌ها و افزایش شدید انسولین در ۳۰ دقیقه اول پس از مسموم شدن است و پس از آن به دلیل کاهش سطح انسولین، میزان گلوکز افزایش می‌یابد.

مطالعات دیگر انجام شده بر سایر اثرات سمی این عقرب نشان دهنده اثرات منفی بر سایر ارگان‌های بدن بوده است (Brady et al, 2023). به طور مثال Dehghani و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که سم این عقرب می‌تواند هم به صورت موضعی و به صورت سیستمی به ارگان‌های مختلف با درجات مختلف کبد (۷۶ درصد)، کلیه (۶۸ درصد) و ریه (۶۶ درصد) آسیب رساند. در مطالعات مشابه درصدهای مشابه دیگری نظیر کبد (۷۶ درصد)، کلیه (۳۵ درصد) و طحال (۲۷ درصد) گزارش کرده‌اند (Dehghani et al, 2004). برخی نیز بر این باورند که آسیب وارده می‌تواند منجر به نارسایی کلیوی و مرگ بیمار گردد (Rahmani et al, 2012; Shahi et al, 2015). Heidarpour و همکاران (۲۰۱۲) نیز در مشاهدات بافت-شناسی خود دریافتند که سم *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* منجر به تغییرات دژنراتیو کلیه به همراه تغییر در گلومرول‌ها می‌شود و این تغییرات در ۶ ساعت پس از مواجه به حداکثر میزان خود می‌رسد. آنان همچنین دریافتند که سم این عقرب موجب می‌شود تا روده‌ها ادم لامینا پروپریا و نکروز خفیف پرز را نشان دهند و فعالیت آنزیمی کراتین کیناز و لاکتات دهیدروژناز نیز به صورت معنی‌داری در سرم در ۹ ساعت افزایش یابد. اما آنان هیچ ضایعه نکروزی در ریه‌ها و کبد مشاهد نکردند.

همچنین بر اساس نتایج این مطالعات مشخص شده است که تأثیر سم این عقرب بر ارگان‌ها مختلف وابسته به دوز می‌باشد. مطالعات مشابه نظیر Salman و همکاران (۲۰۱۷) نیز اثرات مختلفی با دوزهای مختلف تجویز سم عقرب مشاهده کردند.

با توجه به نتایج حاصل از این مطالعه نشان داده شد که ترکیبات متفاوت با اثرات متنوعی در اجزای پروتیینی سم عقرب وجود داشته که تفکیک هر چه بیش‌تر آن‌ها با بهره-گیری از تکنولوژی‌های جدید می‌تواند اطلاعات بیش‌تری را در ارتباط با فرآیندای بیماری‌زایی و عوارض جدی ناشی از گزش با این گونه خطرناک را در اختیار قرار دهد. اثرات فراکسیون‌های سم عقرب *همی‌اسکورپیوس‌لپتوروس* بر افزایش سطح هورمون‌های گلوکاگون و کورتیزول و کاهش سطح انسولین نشان دهنده امکان بروز بسیاری از تغییرات متابولیسمی به دنبال گزش این عقرب بوده و به نوعی تأیید کننده مخاطرات جدی ناشی از این عقرب خواهد بود. طبیعتا انجام این مطالعه به عنوان دستاورد اولیه‌ای برای انجام مطالعات دقیق‌تر و جزیی‌تر به شمار می‌رود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات کارشناسان محترم موسسه واکسن و سرم سازی رازی اهواز و همچنین آقای تونی، کارشناس محترم بخش کلینیکال پاتولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و سایر همکاران بخش تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض و منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین گردیده است.

منابع

Abroug, F., Ouanes-Besbes, L., Tilouche, N., & Elatrous, S. (2020). Scorpion envenomation: state of the art. *Intensive care medicine*, *46*(3): 401-410.

Amaral, C. F. S., de Rezende, N. A., & Freire-Maia, L. (1993). Acute pulmonary edema after Tityus serrulatus scorpion sting in children. *The American journal of cardiology*, *71*(2): 242-245.

Arjmand, M., Akbari, Z., Taghizadeh, N., Shahbazzadeh, D., Zamani, Z. (2015) . NMR-based metabonomics survey in rats envenomed by *Hemiscorpius lepturus* venom. *Toxicon*, 94: 16-22.

Bahloul, M., Souissi, B., Turki, O., Dlela, M., Ben Mahfoudh, K., & Bouaziz, M. (2018). Evidence of direct toxicological effects of scorpion venom on central nervous system in tunisian children. Hindawi, *Case Reports in Critical Care*, https://doi.org/10.1155/2018/8304375.

Bagheri-Ziari, S., Shahbazzadeh, D., Sardari, S., Sabatier, J. M., & Pooshang Bagheri, K. (2021). Discovery of a new analgesic peptide, leptucin, from the iranian scorpion, *Hemiscorpius lepturus*. *Molecules*, *26*(9): 2580.

Biggin, P. C., Roosild, T., & Choe, S. (2000). Potassium channel structure: domain by domain. *Current opinion in structural biology*, *10*(4): 456-461.

Brady, M. F., Kumar, P., Currier, C., & Ruha, A. M. (2023). Treatment of Scorpion Envenomations in the Middle East: Understanding the Stinging Controversy. *Wilderness & Environmental Medicine*, 34(2), doi.org/10.1016/j.wem.2023.01.001.

Catterall, W. A., Cestèle, S., Yarov-Yarovoy, V., Frank, H. Y., Konoki, K., & Scheuer, T. (2007). Voltage-gated ion channels and gating modifier toxins. *Toxicon*, *49*(2): 124-141.

Dehghani R, Rastegar Pouyani N, Dadpour B, Keyler D, Panjehshahi M, Jazayeri M, et al. (2016). A survey on non-venomous snakes in Kashan (Central Iran). *Journal of Biology and Today's World*, 5(4):65-75.

Dehghani, R., Khamechian, T., Vazirianzadeh, B., Vatandoost, H., & Moravvej, S. A. (2012). Toxic effects of scorpion, *Hemiscorpius lepturus* (Hemiscorpiidae) venom on mice. *Journal of Animal and Plant Sciences*, *22*(3): 593-596.

Dehghani, R., Khamechian, T., Vatandoost, H., Asadi, M. A., & Mosavi, G. A. (2004). The effect of *Hemiscorpius lepturus* venom on pathologic changes of rat orangs. *Quarterly Research Journal of Lorestan University of Medical Sciences and Health Services*, *6*(22): 37-41.

Devarbhavi, P.K., & Vasudeva Murthy, C.R. (2013). Scorpion sting envenomation - an overview. *Journal of Clinical Biomedicine and Science*, 3:159–166.

Di Nicola, M. R., Colombo, M., Kass, G. E. N., Paolino, G., Strong, P. N., & Dorne, J. L. C. M. (2024). Scorpions: Taxonomy, anatomy, medical relevance, venom composition, pharmacology, toxicology and clinical management . Encyclopedia of Toxicology, 8: 445-456.

Elmourid, A., Boussaa, S., El Hidan, M. A., Amahmid, O., & Touloun, O. (2023). Epidemiological, toxicological and physiopathological characteristics of scorpion stings and their management in Morocco: A literature review. *Acta tropica*, *239*, 106812.

Fletcher, M. D., Weninger, K., Anderson, T. E., & Martin, B. M. (2010). Vesicle-associated membrane protein (VAMP) cleavage by a new metalloprotease from the Brazilian scorpion *Tityus serrulatus*. *Journal of Biological Chemistry*, *285*(10): 7405-7416.

Freire-Maia, L., & Campos, J. A. (1987). On the treatment of the cardiovascular manifestations of scorpion envenomation. *Toxicon*, *25*(2):125-130.

Godoy, D. A., Badenes, R., Seifi, S., Salehi, S., & Seifi, A. (2021). Neurological and systemic manifestations of severe scorpion envenomation. *Cureus*, *13*(4), doi: 10.7759/14715

Goudet, C., Chi, C. W., & Tytgat, J. (2002). An overview of toxins and genes from the venom of the Asian scorpion *Buthus martensi Karsch*. *Toxicon*, *40*(9): 1239-1258.

Gueron, M., & Ovsyshcher, I. (1987). What is the treatment for the cardiovascular manifestations of scorpion envenomation?. *Toxicon: Official journal of the International Society on Toxinology*, *25*(2): 121-130.

Gueron, M., Ilia, R., & Margulia, G. (2000). Arthropod poisons and the cardiovascular system. *The American journal of emergency medicine*, *18*(6), 708-714.

Heidarpour, M., Ennaifer, E., Ahari, H., Srairi-Abid, N., Borchani, L., Khalili, G., ... & Shahbazzadeh, D. (2012). Histopathological changes induced by Hemiscorpius lepturus scorpion venom in mice. *Toxicon*, *59*(3), 373-378.

Hill, R. G. (1981). The status of naloxone in the identification of pain control mechanisms operated by endogenous opioids. *Neuroscience Letters*, *21*(2), 217-222.

Hmed, B., Serria, H. T., & Mounir, Z. K. (2013). Scorpion peptides: potential use for new drug development. *Journal of toxicology*, *2013*.

Ismail, M., Fatani, A. J., & Dabees, T. T. (1992). Experimental treatment protocols for scorpion envenomation: a review of common therapies and an effect of kallikrein-kinin inhibitors. *Toxicon*, *30*(10): 1257-1279.

Johnson, D. G., & Ensinck, J. W. (1976). Stimulation of glucagon secretion by scorpion toxin in the perfused rat pancreas. *Diabetes*, *25*(8), 645-649.

Johnson, D. G., Henry, D. P., Moss, J., & Williams, R. H. (1976). Inhibition of insulin release by scorpion toxin in rat pancreatic islets. *Diabetes*, *25*(3), 198-201.

Khataminia, A., Razi Jalali, M., Jalali, S. M., & Jafari, H. (2020). The Effect of Various Fractions of *Hemiscorpius lepturus* Scorpion (Scorpionida: Hemiscorpiidae) Venom on Hemostatic System in Peripheral Blood of Rats in Comparison to Whole Venom. *Jundishapur Journal of Health Sciences*, 12(3), e102586.

Legros, C., Kaabi, H., El Ayeb, M., Céard, B., Vacher, H., Bougis, P. E., & Martin-Eauclaire, M. F. (2001). Use of fusion protein constructs to generate potent immunotherapy and protection against scorpion toxins. *Vaccine*, *20*(5-6): 934-942.

Moghadam, A. T., Masihipour, B., Bakhshandeh, N., & Navidpour, S. (2009). Biochemical manifestation of Mesobuthus eupeus envenomation in h¯ uman. *Biochemical and Cellular Archives*, *9*(1), 83-85.

Murthy, K. R., & Ag, J. (1986). Reduced insulin secretions in acute myocarditis produced by scorpion (Buthus tamulus) venom injection in rabbits. *Indian Heart J*.

Murthy, K. R., Zolfagharian, H., Medh, J. D., Kudalkar, J. A., Yeolekar, M. E., Pandit, S. P., ... & Billimoria, F. R. (1988). Disseminated intravascular coagulation & disturbances in carbohydrate & fat metabolism in acute myocarditis produced by scorpion (*Buthus tamulus*) venom. *Indian Journal of Medical Research*, 87: 318.

Omran, M. A., & Abdel-Rahman, M. S. (1992). Effect of scorpion *Leiurus quinquestriatus* (H&E) venom on the clinical chemistry parameters of the rat. *Toxicology letters*, *61*(1): 99-109.

Ortiz, E., Gurrola, G. B., Schwartz, E. F., & Possani, L. D. (2015). Scorpion venom components as potential candidates for drug development. *Toxicon*, *93*: 125-135.

Petricevich, V. L. (2006). Balance Between Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in Mice Treated With *Centruroides noxius* Scorpion Venom. Mediators of Inflammation, 6(6):54273, doi: 10.1155/MI/2006/54273.

Pipelzadeh, M. H., Jalali, A., Taraz, M., Pourabbas, R., & Zaremirakabadi, A. (2007). An epidemiological and a clinical study on scorpionism by the Iranian scorpion *Hemiscorpius lepturus*. *Toxicon*, *50*(7): 984-992.

Radmanesh, M., 1990. Clinical study of *Hemiscorpion lepturus* in Iran. *Journal of tropical medicine and hygiene.* 93: 327-332.

Radmanesh, M., 1998. Cutaneous manifestations of the *Hemiscorpius lepturus* sting: a clinical study. *International Journal of Dermatology*. 37, 500-507.

Rahmani, A. H., & Jalali, A. (2012). Symptom patterns in adult patients stung by scorpions with emphasis on coagulopathy and hemoglubinuria. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, *18:* 427-431.

Razi Jalali, M., Jalali, S. M., Jafari, H., & Babakhan, M. (2020). An Experimental Study of the Effects of Mesobuthus eupeus Scorpion Venom on Plasma Concentrations of Metabolic Hormones and Glucose in Rats. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, *14*(1).

Salman, M. M., & Hammad, S. (2017). Oxidative stress and some biochemical alterations due to scorpion (*Leiurus quinquestriatus*) crude venom in rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *91:* 1017-1021.

Setayesh-Mehr, Z., Asoodeh, A., & Ghasemi, L. V. (2023). The Anti-cancer Effect of Two Extract Fractions from the *Hemiscorpius lepturus* Scorpion Venom. *Applied Biochemistry and Microbiology*, *59*(6): 850-857.

Shahbazzadeh, D., Srairi-Abid, N., Feng, W., Ram, N., Borchani, L., Ronjat, L., et al. (2007). Hemicalcin, a new toxin from the Iranian scorpion *Hemiscorpius lepturus* which is active on ryanodine-sensitive Ca2+ channels. *The Biochemical journal*, 404(1): 89-96.

Shahi, M., Rafinejad, J., Az-Khosravi, L., & Moosavy, S. H. (2015). First report of death due to *Hemiscorpius acanthocercus* envenomation in Iran: Case report. *Electronic physician*, *7*(5): 1234.

Srairi-Abid, N., Shahbazzadeh, D., Chatti, I., Mlayah-Bellalouna, S.,Mejdoub, H., Borchani, L., Benkhalifa, R., Akbari, A. and El-Ayeb, M. (2008). Hemitoxin, the first potassium channel toxin from the venom of the Iranian scorpion *Hemiscorpius lepturus*. *FEBS Journal*, 275(18): 4641-4650.

Yazdkhasti, M., Razi Jalali, M., Khadjeh, G. H., Jafari, H., & Rezaie, A. (2021). Cardiotoxic effects of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom fractions in rats. *Iranian Journal of Toxicology*, 15(1): 27-36.

Zare, M. A., Murthy, K. R. K., & Haghnazari, L. (1994). Scorpion venom poisoning in experimental animals. *Archives of Razi Institute journal*, *44*(45): 67-72.

Received: 08.01.2024
Accepted: 29.01.2024

Vol. 20, No. 2, Summer, 2024 **Original Article**
DOI: 10.22055/ivj.2024.434558.2673

Study the effects of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom fractions on the levels of Glucose and Insulin, Glucagon and Cortisol Hormones in rats

Navid Koshki[1], Mohammad Razi Jalali[2*], Seyed Reza Fatemi Tabatabaae[3] and Hedieh Jafari[4]

[1] DVSc Student of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[4] Assistant Professor of Parasitology, Razi Vaccines and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Ahvaz, Iran

Received: 08.10.2023 Accepted: 29.01.2024

Abstract

The *Hemiscorpius lepturus scorpion* is known as the most dangerous *scorpion* in the south and southwest regions of Iran. This *scorpion* can cause illness and even death in humans and animals. The purpose of this study was to investigate the metabolic and endocrine effects of different fractions of *Hemiscorpius lepturus* venom. For this purpose, scorpion venom was extracted by electric shock method and after separating the solution phase and activation of the venom by freeze drying method and with the help of column chromatography by Sephadex G-250 gel, 6 fractions were separated based on optical absorption at 280 nm. Then 72 male Wistar rats were divided into 8 equal groups including control (NS), crude venom (1000 µg/kg), fractions I (120 µg/kg), II (430 µg/kg), III (80µg/kg), IV (180 µg/kg), V (60 µg/kg) and VI (130 µg/kg) divided and according to the above amounts, respectively, with normal saline, crude venom and different fractions through intraperitoneal injection. After 1, 3, 24 and 72 hours, the concentration of glucose and the insulin, glucagon and cortisol were measured by elisa with specific rat kits. The results showed that the injection of crude venom and all fractions caused a significant increase in glucose compared to the control group. Also, a significant increase of cortisol and glucagon was observed after injection in crude venom and fractions II and VI. Also, the average insulin in the groups receiving crude venom and fractions II and VI showed a significant decrease. These findings showed that the injection of different fractions of *Hemiscorpius lepturus* scorpion venom can affect the metabolic process and cause changes in the metabolic processes by affecting the glucose regulating hormones. Identifying these effects, considering the wide effects of these hormones in metabolism, as well as the changes caused by the venom fractions, can help to identify the toxicity mechanisms as accurately as possible and also to adopt specific treatment methods in cases of scorpion stings. be helpful and useful.

Key words*: Hemiscorpius lepturus scorpion*, Fractions, Insulin, Glucagon, Cortisol, Glucose

[*] **Corresponding Author**: Mohammad Razijalali, Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: jalali_m@scu.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).