Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences

Yazdanimehr, et al. *Med J Tabriz Uni Med Sciences.* 2025;47(2): 155-167.
doi:10.34172/mj.025.33724
https://mj.tbzmed.ac.ir

TUOMS PRESS

Original Article

Protective effects of Dorema aucheri hydroalcoholic extract on antioxidant system and oxidative damage of pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats

Samira Yazdanimehr[1], Elham Rezazade[2], Mohammad Taghi Mohammadi[2*]

[1]Student Research Committee, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[2]Department of Physiology and Medical Physics, Faculty of Medicine, Baqiyatallah University of Medical Sciences, Tehran, Iran

ARTICLE INFO

Article History:
Received: 29 Jul 2024
revised: 29 Oct 2024
Accepted: 2 Nov 2024
ePublished: 19 Apr 2025

Keywords:
- Diabetes mellitus
- Dorema aucheri
- Hyperglycemia
- Oxidative damage
- Antioxidant
- Pancreas

Abstract

Background. The hydroalcoholic extract of Dorema aucheri (DA), as a medicinal plant, has powerful antioxidant properties. Accordingly, the present study aimed to examine the protective effects of DA hydroalcoholic extract against oxidative damage of pancreas by potentiation of the antioxidant capacity in streptozotocin-induced diabetic rats.

Methods. The experiment was performed in four groups of male Wistar rats (n=6 for each group), including normal rats, normal rats treated with DA, diabetic rats, and diabetic rats treated with DA. Diabetes was induced by a single intravenous injection of streptozotocin (45 mg/kg) at the beginning of the study. Treatment groups orally received hydroalcoholic extract of DA at a dose of 200 mg/kg/day by gavage. After two months, the contents of glutathione (GSH), NOx (nitrite and nitrate), and malondialdehyde (MDA), as well as superoxide dismutase (SOD) activity were assessed by biochemical methods.

Results. The administration of DA extract decreased blood glucose level in diabetic rats by 17%. The MDA content of the pancreas significantly increased in diabetic rats by 92%. Diabetes also decreased the content of GSH (56%) and SOD (68%) activity of the pancreas. Treatment with DA extract noticeably decreased the MDA (86%) levels in diabetic pancreas. Moreover, DA extract significantly improved the GSH content (35%) and SOD activity (68%) of the pancreas in treated diabetic rats, as well as histopathological changes and NOx content. Moreover, DA extract significantly decreased the glutathione content of the pancreas in normal rats.

Conclusion. Our findings revealed that hydroalcoholic extract of DA was able to improve the uncontrolled hyperglycemia-induced oxidative damage of the pancreas through potentiation of the antioxidant defense system accompanied by partial improvement of blood glucose.

Practical Implications. The DA extract can be used as a valuable compound for reducing blood glucose in diabetic patients. Additionally, it can prevent diabetic complications in these people.

How to cite this article: Yazdanimehr S, Rezazade E, Mohammadi MT. Protective effects of Dorema aucheri hydroalcoholic extract on antioxidant system and oxidative damage of pancreas in streptozotocin-induced diabetic rats. *Med J Tabriz Uni Med Sciences.*2025; 47(2): 155-167. doi:10.34172/mj.025.33724. Persian.

*Corresponding author; Email: Mohammadi.mohammadt@yahoo.com, Mohammadi.mohammad.t@gmail.com
© 2025 The Authors. This is an Open Access article published by Tabriz University of Medical Sciences under the terms of the Creative Commons Attribution CC BY 4.0 License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Extended Abstract

Background

Dorema aucheri (DA) or Bilhar plant is a medicinal plant native to Iran. It grows in cold mountainous and central regions of Iran at the beginning of spring. It is used to control diabetes mellitus, reduce blood triglycerides, and also modulate and diminish pains. The antioxidant and antimicrobial properties of the DA extract have been reported in previous studies. It has been demonstrated that DA extract has many antioxidant compounds that can inhibit oxidative stress in different pathophysiological conditions, particularly during diabetes. Hence, the present study aimed to investigate the protective effects of the hydroalcoholic extract of DA on the blood glucose level, the activity of the antioxidant enzyme superoxide dismutase, and the indices of oxidative damage in the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats.

Methods

Male Wistar rats, weighing approximately 210-230 g, were obtained from the animal house facility of Baqiyatallah University of Medical Sciences. Induction of diabetes mellitus (DM) was performed by an intravenous injection of streptozotocin (STZ, Sigma Aldrich). In brief, under light anesthesia using ethyl ether, diabetes was induced by an intravenous injection of 45 mg streptozotocin per kg body weight of rats (45 mg/kg) into the lateral tail vein. Five days after the injection of streptozotocin, blood glucose levels were measured to confirm diabetes, and the rats with blood glucose levels above 350 mg/dL were considered diabetic animals. The experiment was performed in four groups of male Wistar rats (n=6 for each group), including normal rats, normal rats treated with DA, diabetic rats, and diabetic rats treated with DA. All rats were kept in the standard situation with free access to rat chow and water during the study. Blood glucose levels at the beginning (day 5) and termination (day 60) of the experiment were measured using a commercial kit (Pars Azmoon Company, Tehran, Iran) by an enzymatic colorimetric method according to the manufacturer's protocol. Treatment groups orally received hydroalcoholic extract of DA at a dose of 200 mg/kg/day by gavage. At the termination of the study (day 60), the pancreas tissues were rapidly removed under deep anesthesia using ethyl ether. Tissues were washed in an ice-cold phosphate buffer saline (PBS), immersed in liquid nitrogen, and finally kept at -80°C until biochemical analysis. Then, the tissues were weighed and homogenized 1:10 in ice-cold PBS. The homogenates were centrifuged at 14000×g for 15 minutes at 4°C. After centrifugation, the supernatants were removed and used for measurement of glutathione (GSH), NOx (nitrite and nitrate), and malondialdehyde (MDA), as well as superoxide dismutase (SOD) activity by the chemical biochemical techniques.

Results

The mean blood glucose level of the diabetic rats was 385±21 mg/dL, which is higher compared to the normal group (123±15 mg/dL). Treatment with DA extract significantly decreased blood glucose level in the treated diabetic rats by 17% compared to non-treated diabetic animals (287±19 mg/dL). However, DA treatment in normal rats did not change the blood glucose level of these normal rats. The MDA content of the pancreas significantly increased in diabetic rats by 92% compared with normal animals. Diabetes also decreased the content of GSH (56%) and SOD (68%) activity of the pancreas in the diabetic rats compared with normal animals. Treatment with DA extract noticeably decreased the MDA (86%) levels of the pancreas in the treated diabetic rats compared with the non-treated diabetic group. Furthermore, DA extract significantly improved the GSH content (35%) and SOD activity (68%) of the pancreas in the treated diabetic rats, as well as histopathological changes. The NOx content of the pancreas, as an index of nitric oxide (NO) production, also decreased following diabetes induction, while treatment with DA extract improved the NOx levels of the pancreas in the treated diabetic rats. In the pathological assessments of the pancreas in normal animals, the number of pancreatic islets and cells and their

dispersions were normal. However, the number of pancreatic islets and cells reduced in the diabetic rats and these damages (pyknotic and necrotic cells with dense and shrunken nuclei) were clearly visible in the photomicrographs of diabetic rats. Treatment with DA extract partially improved the mentioned damages in the pancreas of treated diabetic rats.

Conclusion

The findings of the present study showed that hydroalcoholic extract of Dorema aucheri can reduce blood glucose level, prevent damage to the cells of pancreatic islets, and relatively improve the symptoms of diabetes. Based on the results of the present study, it can also be concluded that using hydroalcoholic extract of Dorema aucheri increases the strength of the antioxidant defense system and the antioxidant capacity of pancreatic tissue against oxidative damage in diabetic rats. Accordingly, the hydroalcoholic extract of Dorema aucheri can be used as an effective compound along with other drugs in the treatment of diabetes symptoms and prevention of its progression. Hence, the Dorema aucheri extract can be used as a valuable compound for reducing diabetic complications in diabetic people.

یزدانی‌مهر و همکاران. مجله *پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تبریز*. خرداد و تیر ۱۴۰۴؛ ۴۷(۲): ۱۵۵-۱۶۷.
doi:10.34172/mj.025.33724
https://mj.tbzmed.ac.ir

مقاله پژوهشی

اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی گیاه کندل کوهی بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین

سمیرا یزدانی‌مهر[۱]، الهام رضازاده[۲]، محمدتقی محمدی[*۲]

[۱]کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تهران، تهران، ایران
[۲]گروه فیزیولوژی و فیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج) تهران، تهران، ایران

اطلاعات مقاله

سابقه مقاله:
دریافت: ۱۴۰۳/۵/۸
اصلاح نهایی: ۱۴۰۳/۸/۸
پذیرش: ۱۴۰۳/۸/۱۲
انتشار برخط: ۱۴۰۴/۱/۳۰

کلیدواژه ها:
- دیابت شیرین
- کندل کوهی
- هیپرگلیسمی
- آسیب اکسیداتیو
- آنتی‌اکسیدان
- پانکراس

چکیده

زمینه. عصاره هیدروالکلی برگ گیاه کندل کوهی (DA)، به‌عنوان یک گیاه دارویی، دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قوی است. بر این اساس، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلیDA در برابر آسیب‌اکسیداتیو پانکراس با تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی در موش‌های دیابتی ناشی از استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش‌کار. آزمایش بر روی چهارگروه موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار (هرگروه n=۶) درگروه‌های سالم، سالم تیمار با DA، دیابتی و دیابتی تیمار با DA انجام شد. موش‌ها با یک‌بار تزریق داخل‌وریدی استرپتوزوتوسین (۴۵ میلی‌گرم درکیلوگرم) در ابتدای مطالعه دیابتی شدند. گروه‌های درمان، روزانه عصاره DA به میزان ۲۰۰ میلی‌گرم درکیلوگرم از طریق دهان با استفاده از لوله گاواژ دریافت کردند. پس از دو ماه، محتوای گلوتاتیون (GSH)، نیتریت و نیترات (NOx)، مالون‌دی‌آلدوئید (MDA) و همچنین فعالیت سوپراکساید دیسموتاز (SOD) پانکراس با روش‌های بیوشیمیایی بررسی شدند.

یافته‌ها. عصاره DA گلوکز خون موش‌های دیابتی را به میزان ۱۷درصد کاهش داد. محتوای MDA پانکراس در موش‌های دیابتی به میزان ۹۲درصد افزایش معنی‌داری داشت. دیابت همچنین محتوای (۵۶٪) GSH و فعالیت (۶۸٪) SOD پانکراس را کاهش داد. درمان با عصاره DA به‌طور معنی‌داری سطوح (۸۶٪) MDA پانکراس حیوانات دیابتی را کاهش داد. علاوه‌براین، عصاره DA به‌طور قابل‌توجهی محتوای (۳۵٪) GSH و فعالیت (۶۸٪) SOD پانکراس به همراه آسیب‌های بافتی و سطح NOx در موش‌های دیابتی تحت درمان را بهبود بخشید. عصاره DA همچنین میزان گلوتاتیون پانکراس در حیوانات سالم را به‌طور معنی‌داری کاهش داد.

نتیجه‌گیری. یافته‌های ما نشان داد که عصاره هیدروالکلی DA می‌تواند از آسیب اکسیداتیو پانکراس ناشی از هیپرگلیسمی کنترل‌نشده از طریق تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و بهبود نسبی سطح گلوکز خون جلوگیری کند.

پیامدهای عملی. عصاره DA می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ارزشمند برای کاهش قند خون و پیشگیری از اثرات مخرب عوارض دیابت در بیماران دیابتی مورد استفاده قرار گیرد.

مقدمه

دیابت شیرین یک بیماری متابولیک مزمن با شیوع بالا در جهان است. میزان شیوع این بیماری در سال ۲۰۱۹ حدود ۴۶۳ میلیون نفر در سطح جهان گزارش شده است. بر اساس نتایج تحقیقات، تخمین زده می‌شود شیوع آن در سال ۲۰۳۰ به ۵۷۸ میلیون نفر و تا سال ۲۰۴۵ به ۷۰۰ میلیون نفر در سراسر جهان افزایش یابد.[۱] افزایش مزمن گلوکز خون در بیماران دیابتی، حالتی پیچیده و آسیب‌رسان در تمام بافت‌های بدن ایجاد می‌کند. این وضعیت، از طریق تولید و تجمع مواد سمی سلولی، از جمله در بافت پانکراس، به مرگ سلولی منجر می‌شود.[۲] بر اساس نتایج مطالعات، سمیت ناشی از گلوکز در سلول‌های بتای جزایر لانگرهانس در افراد مبتلا به دیابت نوع ۲ بسیار شایع است. همچنین، افزایش غلظت گلوکز پس از مصرف مواد غذایی می‌تواند به سلول‌های بتای باقی‌مانده آسیب وارد کند.[۳]

در جریان دیابت شیرین، تولید انواع رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال‌های فعال اکسیژن (Reactive oxygen species, ROS)

* نویسنده مسؤول؛ ایمیل: Mohammadi.mohammadt@yahoo.com , Mohammadi.mohammad.t@gmail.com

حق تألیف برای مؤلفان محفوظ است. این مقاله با دسترسی آزاد توسط دانشگاه علوم پزشکی تبریز تحت مجوز کریتیو کامنز CC BY 4.0 (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0) منتشر شده که طبق مفاد آن هرگونه استفاده تنها در صورتی مجاز است که به اثر اصلی به نحو مقتضی استناد و ارجاع داده شده باشد.

به‌طور قابل‌توجهی در بافت‌های مختلف بدن، از جمله بافت پانکراس، افزایش می‌یابد. [۵،۴] اندازه‌گیری شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی نشان می‌دهد که این استرس و آسیب‌های ناشی از آن در اغلب بافت‌های بدن، ازجمله بافت پانکراس، رخ می‌دهد.[۲] تضعیف سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در بافت پانکراس طی هیپرگلیسمی مزمن، یکی از مکانیسم‌های اصلی تجمع ROS و بروز آسیب اکسیداتیو در این بافت محسوب می‌شود.[۵]

گیاه بیلهر، با نام علمی کندل کوهی یکی از گیاهان بومی ایران است که در مناطق سردسیر کوهستانی و مرکزی ایران در ابتدای فصل بهار رشد می‌کند.[۶] این گیاه به‌عنوان یک داروی گیاهی در میان مردم این مناطق شناخته شده و عمدتاً برای کنترل دیابت شیرین، کاهش تری‌گلیسیرید خون و تعدیل دردهای مزمن استفاده می‌شود.[۷]

خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی عصاره گیاه کندل کوهی در مطالعات پیشین گزارش شده است.[۹،۸] علاوه‌بر این، اثرات کاهندگی چربی خون و ضددیابتی عصاره هیدروالکلی برگ این گیاه در موش‌های دیابتی نوع ۲ که با نیکوتین‌آمیداستریتوزوتوسین القا شده‌اند، به اثبات رسیده است.[۱۰] منابع علمی موجود نشان داده‌اند که عصاره گیاه کندل کوهی حاوی مقدار قابل‌توجهی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسید فنولیک است.[۱۱،۶] وجود این ترکیبات، به‌ویژه فلاونوئیدها، خاصیت آنتی‌اکسیدانی چشمگیری به این گیاه بخشیده است.[۱۳،۱۲] علاوه بر این، اثرات مفید عصاره گیاه کندل کوهی بر هورمون‌های تیروئیدی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین سطوح سرمی تستوسترون، FSH و LH در برخی حالات پاتوفیزیولوژیک گزارش شده است.[۱۶-۱۴،۱۲]

مصرف طولانی مدت این عصاره نیز می‌تواند پیامدهای ناشی از سکته مغزی را کاهش داده و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی مغز را تقویت کند.[۱۷] با بررسی مطالعات موجود، مشخص شد که اثرات عصاره کندل کوهی بر شاخص‌های استرس اکسیداتیو در بافت پانکراس، به‌ویژه در شرایط دیابت، تاکنون به‌طور کامل مورد بررسی قرار نگرفته است. از این‌رو، با توجه به ترکیبات آنتی-اکسیدانی موجود در عصاره گیاه کندل کوهی، مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات محافظتی عصاره هیدروالکلی این گیاه بر میزان فعالیت آنزیم‌آنتی‌اکسیدانی سوپراکساید دیسموتاز و شاخص‌های آسیب اکسیداتیو در بافت پانکراس موش‌های صحرایی دیابتی شده با استرپتوزوتوسین انجام شد.

روش‌کار

این پژوهش که یک مطالعه مداخله‌ای- تجربی بود، از موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار تهیه شده از مرکز پژوهشی حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) استفاده نمود. محدوده سنی این حیوانات ۶ تا ۸ هفته و محدوده وزنی آنها ۱۹۰ تا ۲۲۰ گرم بود.

تمامی آزمایش‌ها با رعایت دستورالعمل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی مصوب کمیته اخلاق (کد اخلاق مطالعه: IR.BMSU.REC.1397.408) دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) انجام شد. حیوانات در شرایط استاندارد شامل چرخه ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی، دمای محیط ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد و بدون محدودیت در مصرف آب و غذا نگهداری شدند.

برای تهیه عصاره، گیاه کندل کوهی در ابتدای فصل بهار از مناطق اطراف رشته‌کوه‌های زاگرس جمع‌آوری شد. نمونه‌های گیاه ابتدا توسط مردم محلی شناسایی و در نهایت توسط یک گیاه-شناس تأیید شدند. پس از خشک‌شدن برگ‌ها و قسمت‌های انتهایی ساقه در سایه، گیاه با استفاده از آسیاب برقی به پودر تبدیل شد. سپس، ۵۰ گرم از پودر گیاه در ۱۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد به مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق خیسانده شد. مخلوط به-دست آمده از کاغذ صافی واتمن (شماره ۱) عبور داده شد و پس از سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت۲۰ دقیقه) تبخیر شد. عصاره در دمای اتاق خشک و تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. عصاره تهیه شده گیاه کندل کوهی به‌صورت روزانه و با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم از طریق گاواژ برای تیمار موش‌ها استفاده شد.[۱۰]

برای القای دیابت شیرین نوع یک، از استرپتوزوتوسین (Sigma, USA) استفاده شد. حیوانات با ترکیبی از کتامین (۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و زایلازین (۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) بیهوش شدند.[۱۸] سپس محلول استرپتوزوتوسین با دوز ۴۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از طریق ورید جانبی دم تزریق شد. ۷۲ ساعت پس از تزریق، میزان گلوکز خون غیرناشتا اندازه‌گیری شد و حیواناتی که گلوکز سرمی بالاتر از ۳۵۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر داشتند، به‌عنوان حیوان دیابتی در مطالعه انتخاب شدند.

موش‌های صحرایی به‌صورت تصادفی به چهار گروه شش‌تایی تقسیم شدند (N=۲٤):

گروه نرمال: شامل موش‌های صحرایی سالمی که در طول مطالعه هیچ دارویی مصرف نکرده و روزانه یک میلی‌لیتر آب مقطر از طریق گاواژ و به مدت دو ماه دریافت کردند.

۱. گروه نرمال دریافت‌کننده عصاره: حیوانات این گروه مشابه گروه نرمال نگهداری شدند، اما روزانه عصاره کندل کوهی (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از طریق گاواژ دریافت کردند.
۲. گروه کنترل دیابتی: شامل حیوانات دیابتی بودند که بدون دریافت هیچ دارویی، روزانه یک میلی‌لیتر آب مقطر به مدت دو ماه دریافت کردند.
۳. گروه دیابتی دریافت‌کننده عصاره: این گروه مشابه گروه کنترل دیابتی بود، اما روزانه عصاره کندل کوهی (۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) از طریق گاواژ دریافت کردند.

در پایان آزمایش، حیوانات با استفاده از دوز بالای تیوپنتال سدیم تحت بیهوشی عمیق قرار گرفتند[۱۷] و پس از خون‌گیری، بافت پانکراس جدا شده و بلافاصله در نیتروژن مایع منجمد شد. نمونه‌ها در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سرم خون نیز با استفاده از سانتریفوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) جدا شده و برای اندازه‌گیری گلوکز خون به وسیله دستورالعمل شرکت پارس آزمون به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت. برای اندازه‌گیری گلوکز خون از کیت تشخیصی کمی به روش نورسنجی (پارس آزمون، ایران) استفاده شد. در این روش، آب اکسیژنه آزاد شده از گلوکز در حضور آنزیم گلوکز اکسیداز، با فنول و ۴-امینوآنتی‌پیرین در مجاورت آنزیم پراکسیداز واکنش داده و تشکیل کینون‌ایمین می‌دهد.

میزان کینون‌ایمین تشکیل شده که با روش نورسنجی قابل اندازه‌گیری است، با مقدار گلوکز رابطه‌ای کاملا مستقیم دارد. بدین‌منظور، ۱۰ میکرولیتر از نمونه (سرم تهیه شده) یا محلول استاندارد با ۱۰۰۰ میکرولیتر از معرف کیت تشخیص گلوکز مخلوط شد. سپس این ترکیب به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. جذب نوری در طول موج ۵۴۶ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (CECIL-2501، انگلستان) اندازه‌گیری شد و غلظت گلوکز خون (میلی‌گرم در دسی‌لیتر) طبق فرمول زیر محاسبه شد:

گلوکز خون (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر) = [جذب نوری نمونه÷جذب نوری استاندارد] × غلظت محلول استاندارد (میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر)

در روز آزمایش، بافت‌های منجمد شده با دقت وزن شده و به نسبت ۱ به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنیزه شدند. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و شتاب ۱٤۰۰۰g سانتریفوژ شدند. از محلول رویی برای اندازه‌گیری شاخص‌استرس اکسیداتیو (مالون‌دی‌آلدوئید)، فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، میزان گلوتاتیون و سطح NOx (شامل نیتریت و نیترات) استفاده شد. برای اندازه‌گیری شاخص پراکسیداسیون لیپیدی (مالون‌دی‌آلدوهید)، ۵۰۰ میکرولیتر از هموژنه با ۱/۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک‌اسید ۱۰ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. سپس ۱/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲ میلی‌لیتر اسیدتیوباربیتوریک ٦۷/ ۰درصد ترکیب و به مدت ۳۰ دقیقه در بن‌ماری جوشانده شد. پس از آن، ۲ میلی‌لیتر ۱- بوتانل به مخلوط افزوده و محلول به‌شدت ورتکس شد. پس از سانتریفیوژ ۱۵ دقیقه‌ای در ٤۰۰۰ دور، جذب محلول صورتی رنگ در طول موج ۵۳۲ نانومتر با اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. غلظت مالون‌دی‌آلدوئید، با استفاده از استاندارد ۱، ۱، ۳ و ۳ تترا اتوکسی‌پروپان و بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید. محلول استاندارد مالون‌دی‌آلدوئید در غلظت‌های ۲۰-۰/۲ میکرومولار در اسیدسولفوریک ۱۰٪ تهیه شد. در نهایت مقدار مالون‌دی‌آلدوئید برحسب نانومول در میلی‌لیتر ارایه شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز، ۰/۲ میلی‌لیتر EDTA ۰/۱ مولار در سدیم سیانید ۰/۳ میلی‌مولار، ۰/۱ میلی‌لیتر نیتروبلوتترازولیوم ۱/۵ میلی‌مولار و ۲۰۰ میکرولیتر بافت هموژنیزه (یا بافر برای کنترل) به یک کووت اضافه و بعد از مخلوط کردن به مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۰/۰۵ میلی‌لیتر ریبوفلاوین ۰/۱۲ میلی‌مولار در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰٦۷ مولار pH= ۷/۸ اضافه و به مدت ۱۲ دقیقه در درجه حرارت اتاق نگهداری شد.

جذب در طول موج ٥٦۰ نانومتر پس از ۵ دقیقه قرائت شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز برای مهار ۵۰ درصد از سرعت احیاء نیتروبلوتترازولیوم مورد نیاز است. فعالیت آنزیم بر حسب واحد بر میلی‌لیتر محاسبه گردید.

برای سنجش میزان گلوتاتیون، غلظت مناسبی از نمونه هموژنه با ۱۰ میکرولیتر اسیدسولفوسالسیلیک ۵ درصد مخلوط و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با دور ۲۰۰۰g سانتریفوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۸۱۰ میکرولیتر دی‌سدیم فسفات (۰/۳ مولار) مخلوط و سپس ۹۰ میکرولیتر معرف دی‌تیو-بیس- نیتروبنزوئیک‌اسید ۰/٤ درصد به آن اضافه گردید و محلول در سیترات سدیم ۱ درصد شروع به واکنش کرد. تغییرات جذب در طول موج ٤۱۲ نانومتر در طی ۵ دقیقه قرائت شد. با استفاده از محلول گلوتاتیون ۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر منحنی استاندارد گلوتاتیون رسم گردید و غلظت گلوتاتیون بر حسب نانومول در میلی‌لیتر محاسبه گردید. محلول استاندارد گلوتاتیون در غلظت‌های ۲۰۰ – ۲۵ میکرو مولار تهیه شد. برای سنجش NOx، ابتدا بافت پانکراس منجمد با دقت وزن شده و به نسبت ۱

به ۱۰ در بافر فسفات سالین هموژنیزه گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد و شتاب g ۱٤۰۰۰ سانتریفوژ شدند. از محلول رویی برای اندازه‌گیری NOx استفاده شد. برای حذف پروتئین‌ها، نمونه‌ها با سولفات روی تیمار شدند و سپس ۱۰۰ میکرولیتر محلول کلرید وانادیوم III (۸ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به آنها اضافه شد تا نیترات به نیتریت احیا شود. پس از آن، محلول گریس شامل ۵۰ میکرولیتر سولفانیل آمید (۲%) و ۵۰ میکرولیتر اتیلین دی‌آمید دی‌هیدروکلرید (۱%) اضافه گردید و مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. رنگ حاصل در طول موج ٥٤۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. غلظت نمونه‌ها با استانداردهای نیتریت (۵، ۱۰، ۲۰، ٤۰، ٦۰ ، ۸۰ و ۱۰۰ میکرومولار) مقایسه و محاسبه شد و در نهایت، غلظت NOx برحسب نانومول در میلی-لیتر بیان شد.

در پایان آزمایش، حیوانات تحت بیهوشی عمیق کشته شدند و بافت پانکراس برای تثبیت به مدت دو هفته در فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. پس از آن، مراحل آماده‌سازی بافت و قالب‌گیری با پارافین طبق روش‌های روتین انجام گرفت.

برش‌های بافتی با ضخامت ۵ میکرومتر توسط دستگاه میکروتوم تهیه شد. مقاطع تهیه‌شده پس از انتقال به لام، با استفاده از روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. سپس، مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی و فرآیند مانت‌گذاری انجام شد. لام‌های آماده توسط میکروسکوپ نوری (Nikon، ژاپن) بررسی شدند و تصاویر نقاط مورد نظر با استفاده از دوربین متصل به کامپیوتر (CMEX، هلند) تهیه گردید. درنهایت، شاخص‌های نکروز سلولی (مانند هسته‌های پیکنوتیک، متراکم و چروکیده) و تخریب بافتی (واکوئولیزاسیون) ارزیابی شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به‌صورت میانگین و خطای استاندارد میانگین (Mean±SEM) ارایه شدند. داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ تحلیل شدند. برای بررسی توزیع نرمال داده‌ها از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. از آزمون آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) با آزمون تعقیبی توکی (Tukey) برای تحلیل داده‌های بین‌گروهی استفاده گردید. همچنین، برای مقایسه داده‌های درون‌گروهی و بررسی تأثیر زمان بر غلظت گلوکز خون در ابتدا و انتهای مطالعه، از آزمون T زوجی استفاده شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. علاوه‌بر این، در تمامی موارد سطح اطمینان ۹۵ درصد و توان آماری آزمون‌ها ۸۰ درصد بود.

یافته‌ها

میزان گلوکز خون حیوانات مورد مطالعه در شروع و پایان آزمایش در گروه‌های مطالعه در جدول ۱ ارایه شده است. میزان گلوکز خون حیوانات گروه نرمال و نرمال دریافت‌کننده عصاره کندل کوهی در ابتدای آزمایش در محدوده ۱۵۰-۱۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر قرار داشت. القای دیابت موجب افزایش معنی‌دار گلوکز خون در حیوانات گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل شد ($P<۰/۰۰۱$)، به‌طوری که این مقدار در حیوانات دیابتی و دیابتی درمان‌شده با عصاره کندل کوهی در آغاز مطالعه در محدوده ٤۰۰-۳۰۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر قرار داشت.

در بررسی اثرات زمانی، برای مقایسه غلظت گلوکز خون در شروع و پایان آزمایش برای حیوانات گروه نرمال و نرمال درمان‌شده با عصاره کندل کوهی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. میزان گلوکز خون حیوانات گروه نرمال و نرمال دریافت‌کننده عصاره کندل کوهی در پایان آزمایش تغییرات قابل ملاحظه‌ای نسبت به شروع آزمایش نداشت و میزان آن به ترتیب ۱۵±۱۲۳ و ۸±۱۲٦ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. مقایسه آماری بین این دو گروه تغییر معنی‌داری را نشان نداد. در حیوانات گروه دیابتی میزان گلوکز خون در طول آزمایش تغییر چندانی پیدا نکرده و میزان آن در پایان آزمایش در حدود ۲۱± ۸۵ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر باقی ماند. در حالی‌که درمان با عصاره گیاه کندل کوهی، میزان گلوکز خون را در حیوانات گروه دیابتی تیمار شده در مقایسه با گروه کنترل دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$)، و مقدار آن در پایان آزمایش برابر با ۱۹± ۲۸۷ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر بود. تغییرات میزان مالون‌دی‌آلدهید بافت پانکراس بر حسب نانومول در میلی‌لیتر در جدول ۱ ارایه شده است. القای دیابت میزان مالون‌دی‌آلدوئید بافت پانکراس را در حیوانات گروه دیابتی (۳/۲۷±۰/۲۰ نانومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه نرمال (۰/۲۲±۰/۱۳ نانومول در میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری افزایش داد ($P<۰/۰۰۱$). تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی میزان مالون‌دی‌آلدوئید بافت پانکراس گروه دیابتی درمان‌شده (۰/٤۳±۰/۲۰ نانومول در میلی‌لیتر) را در مقایسه با گروه دیابتی به‌طور معنی‌داری کاهش داد ($P<۰/۰۰۱$). در حالی‌که تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی تأثیر معنی‌داری در میزان مالون‌دی‌آلدوئید بافت پانکراس حیوانات گروه نرمال درمان‌شده (۰/۳۷±۰/۰٦ نانومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه نرمال ایجاد نکرد. میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت پانکراس بر حسب واحد بر میلی‌لیتر در جدول ۱ ارایه شده است. میانگین فعالیت این آنزیم در گروه‌های نرمال و نرمال تیمار شده با عصاره گیاه کندل کوهی

در پایان دوره آزمایش به‌ترتیب برابر با ۱/۳۵±۰/۰۲ و ۱/۴۱±۰/۰۲ واحد بر میلی‌لیتر بود که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. القای دیابت میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت پانکراس را به‌طور معنی‌داری در حیوانات گروه دیابتی (۰/۴۳±۰/۰۴ واحد بر میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه نرمال کاهش داد ($P<0/001$). با این وجود، تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی میزان فعالیت این آنزیم را در حیوانات گروه دیابتی درمان‌شده (۱/۳۶±۰/۰۱ واحد بر میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش داد ($P<0/001$).

جدول ۱ تغییرات میزان گلوتاتیون بافت پانکراس را بر حسب نانومول در لیتر در گروه‌های مختلف آزمایشی نشان می‌دهد. تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی در حیوانات گروه نرمال درمان‌شده (۳۲۳±۳۹ نانومول در میلی‌لیتر) و القا دیابت در حیوانات گروه دیابتی (۲۱۲±۸ نانومول در میلی‌لیتر) به‌طور معنی‌داری میزان گلوتاتیون بافت پانکراس را در مقایسه با گروه نرمال (۴۹۱±۲۰ نانومول در میلی‌لیتر) کاهش داد ($P<0/001$). همچنین، تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی در حیوانات گروه دیابتی درمان‌شده (۳۳۰±۱۴ نانومول در میلی‌لیتر) میزان گلوتاتیون را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش داد ($P<0/01$). تغییرات غلظت NOx (نیترات و نیتریت) در بافت پانکراس (بر حسب نانومول در میلی‌لیتر) در جدول ۱ نشان داده شده است. القای دیابت، باعث کاهش قابل‌توجه سطح NOx در گروه دیابتی (۱۲/۸۱±۰/۷۲ نانومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه نرمال (۱۸/۵۹±۰/۸۳ نانومول در میلی‌لیتر) شد ($P<0/05$). تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی در طول دوره آزمایش تأثیر معنی‌داری بر میزان NOx بافت پانکراس حیوانات گروه نرمال درمان‌شده (۱۷/۲±۱۸/۳۹ نانومول در میلی‌لیتر) در مقایسه با گروه نرمال ایجاد نکرد. با این‌حال، تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی توانست سطح NOx در گروه دیابتی درمان‌شده (۱/۹۷ ± ۱۸/۰۲ نانومول در میلی‌لیتر) را به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه دیابتی افزایش دهد ($P<0/05$). تصاویر میکروسکوپی تهیه شده از بافت پانکراس (شکل ۱) پراکندگی سلول‌های جزایر لانگرهانس در مقاطع تهیه شده را به خوبی نشان می‌دهد. سلول‌ها در گروه‌های نرمال و نرمال درمان‌شده با عصاره کندل کوهی پراکندگی طبیعی دارند. در بررسی‌های آسیب‌شناسی مقاطع بافتی تهیه شده در حیوانات گروه دیابتی، میزان پراکندگی و تعداد سلول‌های جزایر لانگرهانس به‌همراه کاهش اندازه جزایر به خوبی قابل مشاهده است. علاوه‌بر این، تخریب و آسیب سلولی در بافت پانکراس به‌همراه سلول‌های پیکنوته و نکروز شده (هسته‌های متراکم و چروکیده) به وضوح قابل مشاهده است. میزان این آسیب‌ها در مقاطع بافت پانکراس حیوانات دیابتی درمان‌شده با عصاره کندل کوهی به مقدار زیادی کاهش یافته و تعداد سلول‌ها و خود جزایر لانگرهانس در شرایط مطلوب‌تری در مقایسه با گروه دیابتی قرار داشتند.

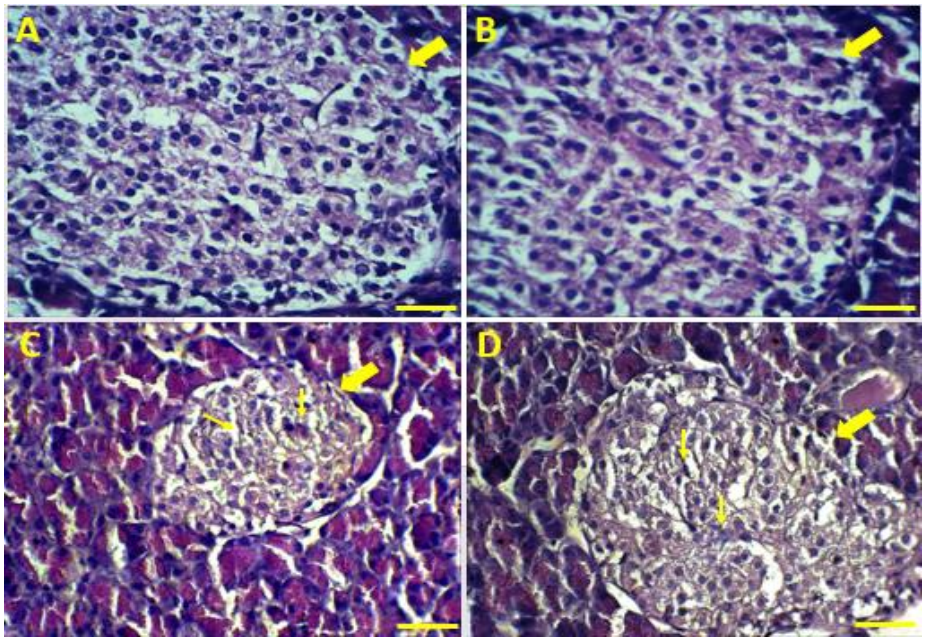
جدول ۱. تغییرات غلظت گلوکز خون در شروع و پایان آزمایش، سطوح غلظت‌های مالون‌دی‌آلدهید، گلوتاتیون و NOx، و همچنین فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز بافت پانکراس در گروه‌های مطالعه

گروه‌ها	گلوکز خون روز پایانی (میلی‌گرم بر دسی لیتر)	مالون‌دی‌آلدوئید (نانومول بر میلی‌لیتر)	سوپراکساید دیسموتاز (واحد بر میلی‌لیتر)	گلوتاتیون (نانومول برمیلی‌لیتر)	NOx (نانومول بر میلی‌لیتر)
نرمال	۱۵±۱۲۳	۰/۲۲ ± ۰/۱۳	۱/۳۵ ± ۰/۰۲	۴۹۱ ± ۲۰	۱۸/۵۹ ± ۰/۸۳
نرمال و کندل کوهی	۰۸±۱۲۶	۰/۳۷ ± ۰/۰۶	۱/۴۱ ± ۰/۰۲	۳۲۳ ± ۳۹***	۱۷/۱۸ ± ۲/۳۹
دیابتی	۲۱±۳۸۵***	۳/۲۷ ± ۰/۲۰***	۰/۴۳ ± /۰۴***	۲۱۲ ± ۸***	۱۲/۸۱ ± ۰/۷۲*
دیابتی و کندل کوهی	۱۹±۲۸۷**†††	۰/۴۳ ± ۰/۲۰†††	۱/۳۶ ± ۰/۰۱†††	۳۳۰ ± ۱۴***††	۱۸/۰۲ ± ۱/۹۷†

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است

* و ** و *** نشانگر تفاوت معنی دار با $P<0/05$ و $P<0/01$ و $P<0/001$ در مقایسه با گروه نرمال

† و †† و ††† نشانگر تفاوت معنی دار با $P<0/05$ و $P<0/01$ و $P<0/001$ در مقایسه با گروه دیابت



شکل ۱. مقاطع عرضی تهیه شده از بافت پانکراس، که با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین تهیه شده پراکندگی سلول های جزایر لانگرهانس پانکراس را نشان می دهند. **A:** گروه نرمال، **B:** گروه نرمال درمان شده با عصاره کندل کوهی، **C:** گروه کنترل دیابتی، و **D:** گروه دیابتی درمان شده با عصاره کندل کوهی می باشد. نوک پیکان نشان دهنده جزایر لانگرهانس پانکراس (پیکان بزرگ) و سلول های آسیب دیده (پیکان کوچک) می باشد (Scale bars: 20 µm، 400X).

بحث

بر اساس نتایج مطالعه حاضر القای دیابت علاوه بر افزایش میزان گلوکز خون در حیوانات دیابتی منجر به تضعیف سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت پانکراس گردید. این موضوع با کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز و سطح گلوتاتیون احیا و افزایش میزان مالون‌دی‌آلدوئید (به‌عنوان شاخص تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن) در بافت پانکراس همراه بود. در حالی‌که تیمار با عصاره هیدروالکلی گیاه کندل کوهی میزان گلوکز خون حیوانات دیابتی را در پایان آزمایش به‌طور معنی‌داری کاهش داده و سبب کاهش میزان مالون‌دی‌آلدوئید در بافت پانکراس گردید.

تیمار با عصاره کندل کوهی همچنین فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکساید دیسموتاز و سطح گلوتاتیون در بافت پانکراس حیوانات دیابتی را به‌طور قابل ملاحظه‌ای بهبود بخشید. در نهایت، استفاده از این عصاره در حیوانات دیابتی علاوه‌بر بهبود آسیب‌های بافت‌شناسی، باعث افزایش سطح نیتریک اکساید در بافت پانکراس گردید.

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر تیمار با عصاره کندل کوهی (۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) در طول آزمایش میزان گلوکز حیوانات دیابتی را در پایان آزمایش به‌طور معنی‌داری کاهش داد. نتایج مطالعات انجام شده در این زمینه نشان می‌دهد این ترکیب دارای اثرات کاهش‌دهنده گلوکز خون بوده و مردم مناطق مرکزی ایران که در محل رویش این گیاه زندگی می‌کنند، به‌طور سنتی از عصاره آن در جهت کاهش گلوکز خون و کنترل بیماری دیابت استفاده می‌نمایند.[۱۹،۶]

بر اساس نتایج مطالعه آهنگرپور و همکاران، استفاده از عصاره هیدروالکلی کندل کوهی به مدت یک ماه به میزان ۱۰۰، ۲۰۰، و ۴۰۰ میلی‌گرم بر گیلوگرم وزن حیوان می‌تواند سبب کاهش گلوکز خون حیوانات دیابتی شده و سطح پلاسمایی انسولین را به‌طور قابل ملاحظه‌ای افزایش دهد.[۱۰]

نتایج یافته‌های این تحقیق نشان می‌هد استفاده از عصاره این گیاه در مقادیر ۲۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم اثرات موثرتری بر میزان بهبود گلوکز خون در حیوان آزمایشگاهی دیابتی داشته و همچنین سطح تغییرات لیپیدهای پلاسمایی را به میزان قابل قبولی بهبود می‌بخشد.[۱۰]

علاوه‌بر این، عصاره کندل کوهی دارای اثرات کاهنده قوی بر چربی و کلسترول خون بوده و می‌تواند در بهبود وضعیت لیپیدهای خون طی دیابت مفید واقع شود.[۱۰] بر اساس نتایج تحقیقات، عصاره این گیاه غنی از ترکیبات فنولی، کومارین‌ها و فلاونوئیدهای گیاهی است که اثرات بیولوژیکی مختلفی را ایجاد می‌کنند.[۱۹،۶] از جمله این اثرات می‌توان به خاصیت کاهندگی رادیکال‌های اکسیژن، کاهش گلوکز خون و برخی لیپیدهای مضر

پلاسما اشاره کرد.[۲۱،۲۰] به‌ویژه، اثرات کاهنده گلوکز خون توسط فلاونوئیدها که به مقدار فراوان در عصاره کندل کوهی یافت می‌شوند، در مطالعات مختلف بالینی و آزمایشگاهی گزارش شده است.[۲۲،۲۱]

همچنین برخی از این ترکیبات قادرند سلول‌های بتای پانکراس را در برابر آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت کنند، از تشدید دیابت جلوگیری کرده و در مواردی حتی به بهبود نسبی دیابت منجر شوند. [۲۳و۲۲،۱۰] در مطالعه حاضر، این اثرات بهبودبخش در بررسی‌های آسیب‌شناختی تایید شد، به‌طوری که بهبود نسبی جزایر لانگرهانس در تصاویر میسکروسکوپی تهیه شده مشاهده گردید.

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تیمار با عصاره هیدروالکلی کندل کوهی باعث کاهش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدوئید در بافت پانکراس حیوانات دیابتی شد. مالون‌دی‌آلدهید شاخصی از تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و آسیب اکسیداتیو در بافت است. تحقیقات پیشین نیز اثرات ضداکسیدانی این عصاره و توانایی آن در کاهش رادیکال‌های آزاد را تأیید کرده‌اند.[۸،۹]. نتایج مطالعه رسولی و همکاران نشان می‌دهد درمان با عصاره هیدروالکلی کندل کوهی به مدت یک ماه و دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانسته است از تجمع رادیکال‌های آزاد و بروز پدیده استرس اکسیداتیو ناشی از سکته مغزی جلوگیری کند.[۱۷] به نظر می‌رسد کاهش استرس اکسیداتیو در مطالعه حاضر با ترکیبات مختلف آنتی‌اکسیدانی موجود در عصاره این گیاه که توسط مطالعات پیشین نیز گزارش شده است، مرتبط باشد. مطالعات اخیر نشان داده‌اند که عصاره گیاه کندل کوهی به‌دلیل وجود مقادیر زیادی از ترکیبات ضداکسیدانی مانند فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و اسید فنولیک دارای خوص دارویی قابل‌توجهی است.[۱۹،۱۱] بر اساس نتایج تحقیق سامانتا و همکاران، فلاونوئیدها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و مهارکننده آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد سمی در بافت عصبی در شرایط پاتولوژیک، اثرات محافظت‌کننده نورونی دارند.[۲۴] همچنین مطالعات اخیر نشان داده‌اند که فلاونوئیدها به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی قوی خود قادرند از آسیب اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های آزاد جلوگیری کرده و در بیماری‌های تخریب عصبی مانند آلزایمر اثرات محافظتی داشته باشند [۲۵،۱۳] همچنین، آنتوسیانین و اسید فنولیک به‌عنوان ترکیباتی با خواص محافظت‌کننده سلولی شناخته می‌شوند که می‌توانند از تخریب سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد جلوگیری کنند.[۲۷،۲۶] عصاره گیاه کندل کوهی علاوه‌بر کاهش رادیکال‌های آزاد سمی، باعث افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و بافت‌ها می‌شود. یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد تیمار با عصاره هیدروالکلی گیاه کندل کوهی فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکساید دیسموتاز را زیاد و باعث افزایش میزان گلوتاتیون بافت پانکراس حیوانات دیابتی می‌گردد. آنزیم سوپراکساید دیسموتاز نقش مهمی در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن داشته و باعث تبدیل آنیون سوپراکساید به رادیکال پراکسید هیدروژن می‌شود. در نهایت، پراکسید هیدروژن توسط آنزیم‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز تبدیل به آب می‌گردد.[۲۸،۱۸] در این میان، گلوتاتیون به‌عنوان یک کوفاکتور کلیدی برای عملکرد آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز شناخته می‌شود که در حیوانات دیابتی درمان‌شده با عصاره کندل کوهی افزایش یافته بود. از این‌رو، در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد تقویت ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت پانکراس توسط عصاره کندل کوهی باعث مهار تجمع رادیکال‌های آزاد سمی و جلوگیری از آسیب اکسیداتیو (کاهش میزان مالون‌دی‌آلدوئید) در حیوانات دیابتی شده است. همچنین، نتایج نشان داد که تیمار با عصاره کندل کوهی می‌تواند موجب کاهش میزان گلوتاتیون در حیوانات نرمال گردد. اگرچه مطالعات انجام شده در این زمینه بسیار محدود هستند، اما بنظر می‌رسد علت این کاهش وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانی فعال در عصاره این گیاه باشد. انجام مطالعات بیشتر در این زمینه می‌تواند کمک‌کننده باشد.

میزان فعالیت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز پانکراس در حیوانات سالم تیمار شده با عصاره کندل کوهی در مقایسه با حیوانات سالم تیمار نشده تغییری نداشت. علت عدم تغییر این آنزیم در پانکراس حیوانات سالم تیمار شده با عصاره می‌تواند به‌دلیل عدم وجود آسیب استرس اکسیداتیو در حیوانات سالم باشد، چراکه میزان شاخص استرس اکسیداتیو در بافت پانکراس (مالون‌دی‌آلدوئید) حیوانات سالم تیمار نشده در مقایسه با حیوانات سالم تیمار شده تغییری نداشت.

در دیابت قندی کنترل‌نشده میزان نیتریک اکساید بافتی که یک ماده گشادکننده عروقی است، کاهش یافته و باعث انقباض عروقی و کاهش جریان خون بافتی می‌شود.[۱۸] از این‌رو، میزان پاسخ اتساعی عروقی از طریق نیتریک اکساید در افراد دارای دیابت قندی کنترل‌نشده کاهش می‌یابد.[۲۹] از جمله دلایل دیگر کاهش تولید نیتریک اکساید در طی دیابت می‌توان به کاهش فعالیت آنزیم نیتریک اکساید سنتاز اندوتلیالی به‌دلیل کاهش انسولین، افزایش میزان مهارکننده درون‌زاد نیتریک اکساید و در نهایت کاهش فراهم‌زیستی نیتریک اکساید به‌دلیل واکنش با رادیکال‌های آزاد اکسیژن اشاره کرد.[۳۰] در مطالعه حاضر میزان

نیتریک اکساید بافت پانکراس حیوانات گروه کنترل دیابتی کاهش قابل‌توجهی داشت. با این‌حال، تیمار با عصاره گیاه کندل کوهی میزان متابولیت‌های نیتریک اکساید را به‌طور قابل توجهی در حیوانات دیابتی درمان‌شده افزایش داد. بر این اساس، بنظر می‌رسد عصاره کندل کوهی در مطالعه حاضر از طریق افزایش میزان تولید نیتریک اکساید باعث بهبود عملکرد عروق و بافت پانکراس شده است. بنابراین، می‌توان بدین نتیجه دست یافت که عصاره کندل کوهی در طی دیابت می‌تواند از آسیب به بافت پانکراس از طریق افزایش تولید نیتریک اکساید و همچنین افزایش فراهم‌زیستی آن به واسطه کاهش استرس اکسیداتیو جلوگیری کرده و باعث بهبود عملکرد عروقی و نهایتا مانع آسیب بافتی گردد.

با توجه به اینکه مطالعه حاضر در نظر داشت آثار محافظتی عصاره هیدروالکلی گیاه کندل کوهی بر آسیب اکسیداتیو بافت پانکراس در موش‌های صحرایی دیابتی را مورد بررسی قرار دهد، اندازه‌گیری سطح انسولین پلاسما و محتوای انسولین سلول‌های بتای پانکراس و همچنین میزان ترشح انسولین توسط این سلول‌ها قطعا می‌توانست نتایج بسیار مفید و ارزشمندی ارایه‌نماید. با این‌حال، به‌دلیل هزینه ناکافی و محدودیت زمانی مطالعه نشد و در مطالعات آینده می‌تواند مورد بررسی قرار گیرد. از طرفی، در برخی از مطالعات اثرات سمی مصرف عصاره این گیاه بر بافت کبد گزارش شده است که این عارضه کبدی قابل توجه بوده و نیاز به مطالعات بیشتری در این زمینه وجود دارد.

نتیجه‌گیری

یافته‌های مطالعه حاضر نشان می‌دهد عصاره هیدروالکلی گیاه کندل کوهی ضمن کاهش گلوکز خون می‌تواند از آسیب به سلول‌های جزایر لانگرهانس جلوگیری کرده و تا حدودی باعث بهبود علایم دیابت گردد. همچنین می‌توان نتیجه گرفت استفاده از عصاره گیاه کندل کوهی در طی دیابت می‌تواند از طریق افزایش قدرت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بافت پانکراس از آسیب اکسیداتیو به این بافت و نهایتاً از صدمه به سلول‌های بتای پانکراس جلوگیری نموده و مانع تشدید دیابت گردد. از این‌رو، از عصاره گیاه کندل کوهی به‌عنوان یک عامل مؤثر در درمان دیابت قندی همراه با سایر داروهای مورد استفاده می‌توان بهره برد.

قدردانی

بدین وسیله از همکاران بزرگوار گروه فیزیولوژی و فیزیک پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) بخصوص سرکار خانم کفایت بغلانی جهت انجام مطالعه حاضر تقدیر و تشکر می‌شود.

مشارکت پدیدآوران

سمیرا یزدانی‌مهر: اجرای پژوهش و جمع‌آوری داده‌ها؛ الهام رضازاده: ایده‌پردازی و طراحی تحقیق و تهیه پیش‌نویس مقاله؛ محمدتقی محمدی: ایده‌پردازی و طراحی تحقیق، نظارت بر اجرای تحقیق و جمع‌آوری داده‌های پژوهش، تفسیر داده‌ها و تهیه پیش‌نویس مقاله.

منابع مالی

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج)، جهت تأمین هزینه مالی این طرح تقدیر و تشکر می‌نمایند.

دسترسی پذیری داده‌ها

داده‌های به‌دست آمده در مطالعه حاضر در صورت درخواست از پدیدآور رابط ارایه می‌گردد.

ملاحظات اخلاقی

در تمامی مراحل آزمایشات شرایط استاندارد کار با حیوانات آزمایشگاهی تعیین شده توسط کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله(عج) (کد: IR.BMSU.REC.1397.408) رعایت گردید.

تعارض منافع

مؤلفان اظهار می‌کنند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند.

References

1. Saeedi P, Petersohn I, Salpea P, Malanda B, Karuranga S, Unwin N, et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas. Res Clin Pract. 2019;157:107843. doi: 10.1016/j.diabres.2019.107843.
2. Mukai E, Fujimoto S, Inagaki N. Role of Reactive Oxygen Species in Glucose Metabolism Disorder in

Diabetic Pancreatic β-Cells. Biomolecules. 2022;12(9):1228. doi: 10.3390/biom12091228
3. Eguchi N, Vaziri ND, Dafoe DC, Ichii H. The role of oxidative stress in pancreatic β cell dysfunction in diabetes. Int J Mol Sci. 2021;22(4):1509. doi: 10.3390/ijms22041509
4. Yaribeygi H, Sathyapalan T, Atkin SL, Sahebkar A. Molecular Mechanisms Linking Oxidative Stress and Diabetes Mellitus. Oxid Med Cell Longev. 2020;2020:8609213. doi: 10.1155/2020/8609213
5. Lima JE, Moreira NC, Sakamoto-Hojo ET. Mechanisms underlying the pathophysiology of type 2 diabetes: From risk factors to oxidative stress, metabolic dysfunction, and hyperglycemia. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2022;874:503437. doi: 10.1016/j.mrgentox.2021.503437
6. Zibaee E, Amiri MS, Boghrati Z, Farhadi F, Ramezani M, Emami SA, et al. Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacology of Dorema species (Apiaceae): a review. Journal of Pharmacopuncture. 2020;23(3):91-123. doi: 10.3831/kpi.2020.23.3.91
7. Mostafavi SH, Fazilati M, Mostafavi SA, Vahhabi MR, Mostafavi F, Omidvarinia S, et al. Hepatotoxicity of Dorema aucheri (Bilhar) in albino mice. Arch Iran Med. 2013;16(9):530-2.
8. Mianabadi M, Hoshani M, Salmanian S. Antimicrobial and Anti-oxidative Effects of Methanolic Extract of Dorema aucheri Boiss. J Agr Sci and Tech. 2015;17(3):623-34.
9. Khanahmadi M, Miraghaee SS, Karimi I. Evaluation of the antioxidant and antimicrobial properties of Dorema aucheri plant. Iran Red Crescent Med J. 2012;14(10):684-5.
10. Ahangarpour A, Zamaneh HT, Jabari A, Nia HM, Heidari H. Antidiabetic and hypolipidemic effects of Dorema aucheri hydroalcoholic leave extract in streptozotocin-nicotinamide induced type 2 diabetes in male rats. Iran J Basic Med Sci. 2014;17(10):808-14
11. Hossiniyan SA, Ghalamfarsa F, Rostami yasuj S, Salehpour Z, Latifpour M, Mohammadi B, et al. Chemical composition and cytotoxic activity of the essential oil from the aerial parts of Dorema aucheri. J of Herbmed Pharmacol. 2021;10(3):344-50. doi: 10.34172/jhp.2021.40
12. Mottaghipisheh J, Vitalini S, Pezzani R, Iriti M. A comprehensive review on ethnobotanical, phytochemical and pharmacological aspects of the genus Dorema. Phytochemistry Reviews. 2021;20(5):945-89. doi: 10.1007/s11101-020-09727-z
13. Akter R, Chowdhury MA, Rahman MH. Flavonoids and polyphenolic compounds as potential talented agents for the treatment of Alzheimer's disease and their antioxidant activities. Curr Pharm Des. 2021;27(3):345-56. doi: 10.2174/1381612826666201102102810
14. Khatamsaz S, Azarnioshan F, Sadeghi H. Effects of hydroalcoholic extract of Dorema aucheri on pituitary-gonad axis hormones in adult male rats. Nature, Environment and Pollution Technology. 2010;9(3):507-11.
15. Tavana A, Pourrajab F, Hekmatimoghaddam S, Khalilzadeh S, Lotfi M. The hypoglycemic effect of Dorema aucheri (bilhar) extract in diabetic type 2 patients: A first clinical trial. Intl J Pharm Clin Res. 2015;7:343-7.
16. Azarneushan F, Karami M, Golizadeh L, Davary K. The effect of Dorema aucheri-Hydroalcoholic extracts on thyroids hormones in adult male rats. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2010;12(2):76-83. [Farsi]
17. Rasouli Vani J, Taghi Mohammadi M, Sarami Foroshani M, Rezazade E. Evaluation of the neuroprotective and antioxidant effects of Dorema aucheri extract on cerebral ischaemia-reperfusion injury in rats. Pharm Biol. 2019;57(1):255-62. doi: 10.1080/13880209.2019.1597132
18. Akbarian A, Rahimmalek M, Sabzalian M, Saeidi G. Assessment of phytochemical, morphological and antioxidant variation of bilehar (Dorema aucheri) populations cultivated in different environmental conditions. Journal of Medicinal Plants. 2017;16(62):120-35.
19. Brahmachari G. Bio-flavonoids with promising antidiabetic potentials: A critical survey. Research signpost. 2011;661(2):187-212.
20. Hussain T, Tan B, Murtaza G, Liu G, Rahu N, Kalhoro MS, et al. Flavonoids and type 2 diabetes: Evidence of efficacy in clinical and animal studies and delivery strategies to enhance their therapeutic efficacy. Pharmacol Res. 2020;152:104629. doi: 10.1016/j.phrs.2020.104629
21. Xiao J. Recent advances in dietary flavonoids for management of type 2 diabetes. Current Opinion in Food Science. 2022;44:100806. doi: 10.1016/j.cofs.2022.01.002
22. Song Y, Manson JE, Buring JE, Sesso HD, Liu S. Associations of dietary flavonoids with risk of type 2 diabetes, and markers of insulin resistance and systemic inflammation in women: a prospective study and cross-sectional analysis. J Am Coll Nutr. 2005;24(5):376-84. doi: 10.1080/07315724.2005.10719488
23. Samanta S, Dash R, Karpiński TM, Habibi E, Sadiq A, Ahmadi A, et al. The neuroprotective effects of fisetin, a natural flavonoid in neurodegenerative diseases: Focus on the role of oxidative stress. Front Pharmacol. 2022;13:1015835. doi: 10.3389/fphar.2022.1015835
24. Calderaro A, Patanè GT, Tellone E, Barreca D, Ficarra S, Misiti F, Laganà G. The Neuroprotective Potentiality of Flavonoids on Alzheimer's Disease. Int

J Mol Sci. 2022;23(23):14835. doi: 10.3390/ijms232314835
25. Chen S, Hu N, Wang H, Wu Y, Li G. Bioactivity-guided isolation of the major anthocyanin from Lycium ruthenicum Murr. fruit and its antioxidant activity and neuroprotective effects in vitro and in vivo. Food & Function. 2022;13(6):3247-57. doi: 10.1039/d1fo04095b
26. Gao S-H, Zhao T-R, Liu Y-P, Wang Y-F, Cheng G-G, Cao J-X. Phenolic constituents, antioxidant activity and neuroprotective effects of ethanol extracts of fruits, leaves and flower buds from Vaccinium dunalianum Wight. Food Funct. 2022;374:131752. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.131752
27. Drikvandi P, Bahramikia S, Alirezaei M. Modulation of the antioxidant defense system in liver, kidney, and pancreas tissues of alloxan-induced diabetic rats by camphor. J Food Biochem. 2020;44(12):e13527. doi: 10.1111/jfbc.13527
28. Yazdanimehr S, Mohammadi MT. Protective effects of rosuvastatin against hyperglycemia-induced oxidative damage in the pancreas of streptozotocin-induced diabetic rats. Physiology and Pharmacology. 2018;22(1):19-27.
29. Poredos P, Poredos AV, Gregoric I. Endothelial Dysfunction and Its Clinical Implications. Angiology. 2021;72(7):604-15. doi: 10.1177/0003319720987752
30. Emerald BS, Mohsin S, D'Souza C, John A, El-Hasasna H, Ojha S, et al. Diabetes Mellitus Alters the Immuno-Expression of Neuronal Nitric Oxide Synthase in the Rat Pancreas. Int J Mol Sci. 2022;23(9):4974. doi: 10.3390/ijms23094974