



## اثر عصاره آبی گیاه حرا (*Avicennia marina*) و آنغوزه (*Ferula assa*) بر پارامترهای استرس اکسیداتیو سلول‌های بافت مغز موش‌های صحرائی دیابتی

راهله رهباریان<sup>۱\*</sup>، حشمت سپهری مقدم<sup>۲</sup>، سید دامون صدوقی<sup>۳</sup>

۱- استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۲- استادیار، گروه کشاورزی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

۳- دانشجوی دکتری تخصصی بیولوژی سلولی تکوین، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مشهد، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران

### مقاله پژوهشی اصیل

### چکیده

#### مقدمه

هدف مطالعه حاضر بررسی اثر عصاره آبی گیاهان آنغوزه و حرا بر سطح آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی سلول‌های بافت مغز موش‌های صحرائی دیابتی و مقایسه میزان اثربخشی این دو عصاره با یکدیگر بود.

#### مواد و روش‌ها

تعداد ۵۴ سر موش صحرائی نر به تعداد مساوی به گروه‌های شاهد، شاهد دیابتی و دیابتی تیمار شده با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره آنغوزه و با غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم عصاره حرا به صورت تصادفی تقسیم شدند. گروه‌های شاهد دیابتی و تجربی دیابتی، با یک بار تزریق داخل صفاقی ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم آلوکسان دیابتی شدند. گروه‌های تجربی دیابتی به مدت یک ماه، عصاره آبی حرا و آنغوزه را به صورت داخل صفاقی دریافت نمودند. در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ پس از القاء دیابت تجربی سطح آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون اس-ترانسفراز (GST) و کاتالاز (CAT)، همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در سلول‌های بافت مغز اندازه‌گیری شد. داده‌ها بر اساس آزمون واریانس دوطرفه و آزمون تعقیبی LSD تحلیل شدند.

#### یافته‌ها

تزریق عصاره گیاهان آنغوزه و حرا با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های دیابتی منجر به کاهش معنی‌دار در MDA و افزایش معنی‌دار در میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، GST و CAT در سلول‌های بافت مغز موش‌های دیابتی پس از ۳۰ روز گشت ( $P < 0.05$ ). همچنین مشخص شد که عصاره گیاه حرا عملکرد نسبتاً مناسب‌تری نسبت به عصاره گیاه آنغوزه دارد.

#### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه تأییدکننده نقش آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت عصاره گیاهان آنغوزه و حرا در بهبود شاخص‌های استرس‌اکسیداتیو سلول‌های بافت مغز موش‌های صحرائی دیابتی می‌باشد.

#### کلیدواژه‌ها

آنزیم‌ها، آنتی‌اکسیدان، دیابت، مغز، موش صحرائی

تاریخ دریافت: ۹۵/۲/۳

تاریخ پذیرش: ۹۶/۲/۲۵

\*نویسنده مسئول: گروه زیست‌شناسی،

دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران،

ایران

تلفن: ۰۹۱۵۳۵۱۸۱۵۷

پست الکترونیکی:

Ra\_rahbarian@yahoo.com



## مقدمه

هیپرگلیسمی، اصلی‌ترین مشخصه بیماران دیابتی است و از مهم‌ترین عوامل شروع نوروپاتی محسوب می‌شود (۱). افزایش گلوکز خون به نوبه خود، شروع یک سری از واکنش‌های آبخاری را القاء می‌کند که در نهایت منجر به افزایش تولید رادیکال‌های آزاد در خون و بافت‌های گوناگون بدن از جمله کبد، کلیه و مغز می‌شود (۱). بررسی‌های متعددی نقش گونه‌های اکسیژن فعال<sup>۱</sup> را در ایجاد عوارض ناشی از دیابت نشان می‌دهند (۲). بررسی‌ها نشان داده است که دیابت سبب کاهش معنی‌دار مقدار آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در خون و بافت‌های متأثر از آن می‌گردد. از این رو استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی بویژه آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی برای جلوگیری از صدمات اکسیداتیو در بیماران دیابتی می‌تواند سودمند باشد (۳). یکی از شاخص‌های بررسی استرس-اکسیداتیو مالون‌دی‌آلدئید است که میزان آسیب‌پذیری لیپیدهای سلول در برابر اکسیداسیون و رادیکال‌های آزاد را نشان می‌دهد (۴).

کنترل قند خون بالا در بیماران دیابتی نوع ۱ و ۲ با روش‌های معمول بطور کامل امکان‌پذیر نمی‌باشد. لذا احتمال بروز و ایجاد نوروپاتی در بیماران دیابتی وجود دارد. تقریباً در ۶۰ درصد افراد مبتلا به دیابت، آسیب‌های نوروپاتی ناشی از استرس اکسیداتیو مشاهده شده است که سبب گسترش نوروپاتی در این افراد گشته است (۵).

بررسی‌ها نشان داده است که افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها جهت میلینه شدن آکسون نوروپاتی‌های ریشه خلفی ضروری است. با حذف ترکیبات آنتی‌اکسیدانی عملکرد نوروپاتی محیطی کاهش می‌یابد (۶). علاوه بر این استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان از قبیل ملاتونین و

عصاره خرما می‌تواند از پیشرفت دژنراسیون نوروپاتی و حساس شدن سیستم عصبی در موش‌های دیابتی جلوگیری و از مرگ نوروپاتی پیشگیری نماید. به نظر می‌رسد ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در عصاره گیاهی، از طریق فعال کردن رسپتورهای اوپیوئیدی، مهار سیکلواکسیژناز و کاهش تولید گونه‌های اکسیژن فعال نقش حفاظتی در برابر آسیب‌های نوروپاتی ناشی از عوارض تخریبی دیابت داشته باشند (۶).

در مطالعه حاضر با استفاده از ماده شیمیایی آلوکسان مونوهیدرات شرایطی مشابه با دیابت نوع ۱ ایجاد شد. طبق تحقیقات انجام شده آلوکسان به صورت انتخابی از طریق القای آپوپتوزیس، سلول‌های بتای پانکراس را تخریب و با توقف و یا کاهش ترشح انسولین موجب بروز هیپرگلیسمی می‌شود (۷).

با توجه به مطالب ذکر شده استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در کاهش عواقب ناشی از بیماری دیابت خواهند داشت و در این بین استفاده از ترکیبات با منشأ گیاهی اهمیت خاص خود را دارد (۸). پژوهش‌های بسیاری استفاده از گیاه حرا<sup>۲</sup> را جهت کاهش عوارض ناشی از دیابت پیشنهاد کرده‌اند (۹). وجود ترکیبات تری-ترپنوئیدی، تانن‌ها، استروئیدها و ایریدوئیدها این گیاه را به منبع غنی از آنتی‌اکسیدان مبدل کرده است (۹). علاوه بر این اثر ضد دیابتی ترکیبات اسید آلاژیک به عنوان یک ترکیب بیولوژیکی فعال اثبات شده است. شالکون‌ها از جمله متیل هیدروکسی شالکون جزو ترکیبات فلاونوئیدی در گیاه حرا هستند که از تشکیل رادیکال‌های آزاد جلوگیری می‌کنند (۱۰، ۱۱).

<sup>۲</sup>Avicennia maria<sup>۱</sup>Reactive Oxygen Species: ROS



دیابتی تزریق و محلول تهیه شده از فیلتر ۰/۲ میکرومتر عبور داده و استریل شد (۱۵-۱۷).

### نگهداری حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه از موش‌های صحرایی نژاد ویستار نر بالغ با سن تقریبی ۱۲-۱۳ هفته و با وزن تقریبی  $128/63 \pm 4/81$  گرم حیوانات در دمای تقریبی ۲۳-۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۳۵-۴۰ درصد و دوره روشنایی تاریکی ۱۲ ساعته نگهداری شدند. حیوانات در قفس‌های استاندارد قرار داشتند و آب به مقدار کافی در اختیارشان بود و از غذای مخصوص موش (غذای فشرده) تغذیه نمودند. به منظور حصول حالت سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۱۰ روز پس از استقرار حیوانات به انجام رسید. رعایت تمامی حقوق حیوانات آزمایشگاهی در پژوهش برای استفاده انسانی مبتنی بر دستورالعمل‌های بین‌المللی مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. همچنین در کلیه مراحل، قوانین و مقررات اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی در نظر گرفته شده است (۱۵، ۱۶).

### گروه‌بندی و روش تیمار

تعداد ۵۴ سر موش صحرایی نر طور تصادفی به شش گروه ۹ تایی تقسیم شدند. شامل گروه سالم، گروه شاهد دیابتی و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره گیاه حرا غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و گروه‌های دیابتی تحت تیمار با عصاره صمغ گیاه آنغوزه غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم. نمونه‌های گروه شاهد سالم به مدت یک ماه به صورت یک روز درمیان به روش داخل صفاقی آب مقطر استریل دریافت نمودند. این عمل به منظور یکسان نمودن شوک حاصل از تزریق انجام گرفت. گروه شاهد دیابتی پس از ایجاد دیابت تجربی به مدت یک ماه

صمغ گیاه آنغوزه<sup>۱</sup> نیز دارای ترکیبات سولفیدی، مشتقات کومارین، کامولونفرول، ایپی سامارکاندین، آمبلی پرین و کانفرول می‌باشد (۱۲). بررسی‌ها نشان داده است که استفاده از عصاره آبی صمغ گیاه آنغوزه در کاهش قند خون، افزایش انسولین و کاهش اثرات جانبی ناشی از دیابت موثر است (۱۳، ۱۴). با توجه به اینکه تاکنون مطالعه‌ای بر روی اثرات آنتی-اکسیدانی عصاره آبی گیاهان آنغوزه و حرا بر سلول‌های بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی صورت نگرفته است، این پژوهش با هدف یافتن اثر عصاره آبی گیاهان آنغوزه و حرا بر پارامترهای استرس اکسیداتیو سلول‌های بافت مغز موش‌های دیابتی و مقایسه میزان اثربخشی آنها در کاهش اثرات جانبی دیابت بر سلول‌های بافت مغز انجام شد.

### مواد و روش‌ها

مطالعه تجربی آزمایشگاهی حاضر در آزمایشگاه تحقیقاتی جانوری گروه زیست‌شناسی و کشاورزی دانشگاه پیام نور مرکز مشهد در سال ۱۳۹۳ انجام شد.

### تهیه عصاره آبی از گیاه حرا و صمغ گیاه آنغوزه

عصاره آبی اندام هوایی گیاه حرا و صمغ گیاه آنغوزه با استفاده از دستگاه سوکسله تهیه شد. ابتدا ۵۰ گرم پودر خشک شده (اندام هوایی گیاه حرا و صمغ گیاه آنغوزه) به همراه ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به عنوان حلال در داخل بالن دستگاه ریخته شد. پس از حدود ۱۰ ساعت، مایع نسبتاً غلیظی در ته بالن جمع شد. سپس با حذف حلال در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد عصاره تام استخراج گردید. پس از حذف حلال عصاره با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن به موش‌های صحرایی

<sup>۱</sup> Ferula assafoetida



مالون دی آلدئید (MDA) در بافت مغز به آزمایشگاه تشخیص طبی منتقل شد.

### تجزیه و تحلیل آماری

اطلاعات بدست آمده توسط نرم افزار آماری JUMP v.4.2 تحلیل شد. تحلیل داده‌ها بر اساس آزمون واریانس دوطرفه آنالیز شدند و سپس میانگین‌ها بر اساس آزمون تعقیبی LSD با یکدیگر مقایسه شدند. همچنین اثر متقابل غلظت عصاره تزریقی و زمان (Interaction) مورد بررسی قرار گرفت.

### یافته‌ها

نتایج حاصل از بررسی گیاه آنغوزه:

بر اساس نتایج بدست آمده میزان MDA در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش در مقایسه با نمونه‌های گروه سالم به طور معنی‌داری افزایش یافت ( $P < 0.05$ ). همچنین عصاره گیاه آنغوزه با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم توانست میزان MDA را در هر یک از روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش در موش‌های صحرایی دیابتی در مقایسه با نمونه‌های گروه شاهد دیابتی بطور معنی‌داری کاهش دهد. در مقایسه بین غلظت ۱۰۰ و ۲۰۰ مشخص شد که شدت کاهش MDA در گروه تیمار شده با غلظت ۲۰۰ عصاره آنغوزه بیشتر از غلظت ۱۰۰ آن می‌باشد. از طرفی میزان کاهش MDA در روز سی‌ام بیشتر از روز پانزدهم بود (جدول ۱-۳).

به صورت یک روز درمیان به روش داخل صفاقی آب مقطر استریل دریافت نمودند. گروه دیابتی تیمار شده با غلظت - ۱۰۰ و گروه دیابتی تیمار شده با غلظت ۲۰۰ پس از ایجاد دیابت تجربی به مدت یک ماه به صورت یک روز درمیان عصاره آبی گیاه حرا و آنغوزه را بصورت داخل صفاقی دریافت نمودند (۱۵، ۱۶).

### ایجاد دیابت تجربی

مدل تجربی دیابت (دیابت وابسته به انسولین) در موش‌های صحرایی با یک بار تزریق داخل صفاقی آلوکسان مونوهیدرات (Sigma-Aldrich, Germany) به میزان ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ایجاد گردید (۱۵). همچنین از بافر سیترات به عنوان حلال آلوکسان استفاده شد. تزریق آلوکسان به گروه شاهد دیابتی و گروه دیابتی تحت تیمار با عصاره صورت گرفت. به دلیل اینکه مطالعه بر روی دیابت مزمن می‌باشد، حدود ۳۰ روز پس از تزریق آلوکسان و القاء دیابت تجربی جهت تأیید آن خون‌گیری از ورید دمی صورت گرفت و قند خون توسط دستگاه گلوکومتر (EasyGluco, Korea) اندازه‌گیری و قندخون بالای ۳۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر به عنوان شاخص دیابتی شدن و روز صفر آزمایش در نظر گرفته شد (۱۶).

### سنجش‌های بیوشیمیایی

در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش ۳ سر موش از هر گروه با دی‌اتیل‌اتر (MERCK, Germany) بیهوش شد. بافت مغز از بدن نمونه آزمایشگاهی خارج شد و پس از شستشو با محلول سالین جهت سنجش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دسموتاز (SOD)، گلووتاتیون اس ترانسفراز (GST)، کاتالاز (CAT) و همچنین میزان



جدول ۱- میانگین سطح MDA، SOD بافت مغز، در گروه‌های تحت تیمار با عصاره آنگوزه در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ به تفکیک گروه

گروه / روز	SOD			MDA		
	۳۰	۱۵	۱	۳۰	۱۵	۱
شاهد سالم	۶/۷۷±۱/۲۷ a	۶/۹۰±۰/۲e	۷/۵۶±۱/۴a	۲/۶±۰/۴۶e	۲/۵۳±۰/۴۷e	۲/۴۳±۰/۴e
شاهد دیابتی	۲/۹±۰/۴۱bc	۲/۷±۰/۳۲bc	۱/۶±۰/۲۹c	۷/۰۶±۰/۳۷ ab	۷/۷۳±۰/۸۸ a	۷/۰۶±۰/۷۷ ab
دیابتی تیمار با غلظت ۱۰۰	۲/۹±۰/۴۱bc	۲/۷±۰/۳۲bc	۱/۶±۰/۲۹c	۵/۳۸±۰/۵۸abcd	۶/۳۳±۰/۵۶abc	۷/۰۶±۰/۷۷ ab
دیابتی تیمار با غلظت ۲۰۰	۴/۴۳±۰/۱۲b	۳/۷۷±۰/۳۷b	۱/۶۷±۰/۲۹c	۴/۴±۰/۱۷d	۵/۲۳±۰/۶۴cd	۷/۰۶±۰/۷۷ ab

طبق آزمون LSD میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ( $P < 0.05$ )

جدول ۲- میانگین سطح CAT و GST بافت مغز، در گروه‌های تحت تیمار با عصاره آنگوزه در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ به تفکیک گروه

گروه / روز	GST			CAT		
	۳۰	۱۵	۱	۳۰	۱۵	۱
شاهد سالم	۶/۹۰±۰/۶۴ a	۷/۱۶±۰/۷۹ a	۷/۴±۰/۷۵ a	۶/۸±۰/۲۶ a	۷/۱±۰/۰۷ a	۷/۰۰±۰/۲۳ a
شاهد دیابتی	۱/۴۶±۰/۱۸e	۱/۴۶±۰/۱۸e	۱/۶۳±۰/۴۱e	۱/۴۳±۰/۲۱e	۱/۴±۰/۲۶e	۱/۶±۰/۳۶de
دیابتی تیمار با غلظت ۱۰۰	۲/۸۶±۰/۱۸cd	۲/۳۷±۰/۱۸cde	۱/۶۳±۰/۴۱de	۲/۸۳±۰/۳۴cd	۲/۵۳±۰/۲۹cde	۱/۶±۰/۳۶de
دیابتی تیمار با غلظت ۲۰۰	۴/۵۳±۰/۳۱b	۳/۳۷±۰/۳۱bc	۱/۶۳±۰/۴۱de	۴/۵۳±۰/۲۴b	۳/۶۳±۰/۳۳bc	۱/۶±۰/۳۶de

طبق آزمون LSD میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند ( $P < 0.05$ )

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت عصاره آنگوزه تزریق شده، زمان و اثر متقابل غلظت- زمان بر پارامترهای MDA، SOD، CAT و GST

متغیر	P-value				میانگین مربعات			
	GST	CAT	SOD	MDA	GST	CAT	SOD	MDA
اثر غلظت	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱۶۶/۰۴**	۱۵۸/۲۰**	۱۶۴/۲۲**	۱۱۷/۲۰**
اثر زمان	۰/۰۲۱	۰/۰۱۰	۰/۲۵۷	۰/۰۱۵	۵/۷۴*	۵/۴۳**	۳/۲۸	۱۰/۱۱*
اثر متقابل غلظت- زمان	۰/۰۱۴	۰/۰۲۳	۰/۱۲۴	۰/۰۱۵	۱۲/۸۸*	۹/۳۶*	۱۲/۹۳	۲۰/۲۲*

\*\* و \* به ترتیب معنی‌داری در سطح  $P < 0.01$  و  $P < 0.05$  را نشان می‌دهد



جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت عصاره حرا تزریق شده، زمان و اثر متقابل غلظت- زمان بر پارامترهای GST، CAT، SOD، MDA

متغیر	P-value				میانگین مربعات			
	GST	CAT	SOD	MDA	GST	CAT	SOD	MDA
اثر غلظت	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۱۶۹/۵۶**	۱۵۸/۶۷**	۱۶۳/۱۲**	۱۲۱/۳۳**
اثر زمان	۰/۰۴۷	۰/۰۱۰	۰/۲۳۵	۰/۱۸	۴/۵۶*	۵/۹۶**	۳/۴۱	۴/۰۱
اثر متقابل غلظت- زمان	۰/۰۳۴	۰/۰۲۰	۰/۱۱۲	۰/۲۱۲	۱۰/۹۵*	۱۰/۲۵*	۱۳/۰۰*	۱۰/۲۰

\*\* و \* به ترتیب معنی‌داری در سطح  $P < 0/01$  و  $P < 0/05$  را نشان می‌دهد

یافت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳ و ۴). تزریق عصاره گیاه حرا با غلظت ۱۰۰ توانست میزان فعالیت آنزیم CAT را در روز ۱۵ و ۳۰ بطور معنی‌داری نسبت به شاهد دیابتی افزایش دهد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳ و ۴). همچنین میزان فعالیت آنزیم GST نیز در گروه تیمار شده با غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه حرا، در روز سی‌ام بطور معنی‌داری نسبت به شاهد دیابتی افزایش یافت ( $P < 0/05$ ) در گروه تیمار شده با غلظت ۲۰۰ عصاره گیاه حرا نیز میزان فعالیت آنزیمهای SOD، CAT و GST در روزهای ۱۵ و ۳۰ بطور معنی-داری نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش یافت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳ و ۴).

#### مقایسه میزان اثر بخشی عصاره آبی گیاه حرا و آنگوزه:

در مقایسه میزان اثر بخشی عصاره حرا و آنگوزه بر کاهش میزان مالون دی آلدئید مشخص گردید که گروه تیمار شده با غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه حرا در روز ۳۰ تفاوت معنی‌داری را نسبت به گروه تیمار شده با غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه آنگوزه دارد ( $P = 0/016$ ). سایر گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند (در مقایسه غلظت ۱۰۰ حرا با غلظت ۱۰۰ آنگوزه در روز ۱۵ ( $P = 0/42$ ))، در مقایسه غلظت ۱۰۰ حرا با غلظت ۱۰۰ آنگوزه در روز ۳۰ ( $P = 0/225$ ))، در مقایسه غلظت ۲۰۰ حرا با غلظت ۲۰۰ آنگوزه در روز ۱۵ ( $P = 0/367$ ))، در مقایسه غلظت ۲۰۰

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GST در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه سالم بطور معنی‌داری کاهش یافت ( $P < 0/05$ ). تزریق عصاره با غلظت ۱۰۰ توانست میزان فعالیت آنزیم CAT و GST را روز سی‌ام بطور معنی‌داری نسبت به شاهد دیابتی افزایش دهد ( $P < 0/05$ ). در گروه تیمار شده با غلظت ۲۰۰ عصاره آنگوزه نیز میزان فعالیت آنزیمهای SOD، CAT و GST در روزهای ۱۵ و ۳۰ به طور معنی‌داری نسبت به گروه شاهد دیابتی افزایش یافت ( $P < 0/05$ ) (جدول ۱-۳).

نتایج حاصل از بررسی گیاه حرا:

بر اساس نتایج بدست آمده میزان MDA در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در هر یک از روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش در مقایسه با نمونه‌های گروه سالم به طور معنی-داری افزایش یافت ( $P < 0/05$ ). همچنین تجویز عصاره گیاه حرا با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز ۱۵ و با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، در روزهای ۱۵ و ۳۰ آزمایش توانست میزان MDA را در مقایسه با نمونه-های گروه شاهد دیابتی بطور معنی‌داری کاهش دهد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۳ و ۴).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، CAT و GST در روزهای ۱، ۱۵ و ۳۰ آزمایش در نمونه‌های گروه شاهد دیابتی در مقایسه با گروه سالم به‌طور معنی‌داری کاهش



دیابت و افزایش مزمن قند خون با افزایش تجمع ROS، منجر به ایجاد استرس اکسیداتیو و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در انواع سلول‌های بدن می‌شود (۱۸). تحقیقات نشان داد مهم‌ترین دلیل افزایش سلولی رادیکال‌های آنیونی سوپراکسید، کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در بافت بیضه موش‌های صحرایی دیابتی است (۱۹). نتایج پژوهشی حاکی از کاهش استرس اکسیداتیو و دفاع آنزیمی در افراد دیابتی در مقایسه با افراد طبیعی است. همچنین گزارش شد تولید رادیکال‌های آزاد در افراد دیابتی بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد (۲۰). در مطالعه دیگری مشخص شد، دیابت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکوتیون پراکسیداز را نسبت به گروه کنترل بطور معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین عنوان شد کاتالاز که یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مهم در سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد می‌باشد، در گروه دیابتی نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری یافت (۲۱). نتایج مطالعه حاضر با یافته‌های اخیر مطابقت دارد زیرا در موش‌های صحرایی دیابتی احتمالاً افزایش رادیکال‌های آزاد باعث تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی، در نتیجه کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌شود.

مطالعات گذشته نشان داده است که غلظت گلوکز در سلول‌های عصبی بیماران دیابتی تا چهار برابر افراد سالم افزایش می‌یابد و این امر سبب آسیب‌های نورونی می‌شود (۲۲).

استرس اکسیداتیو عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن می‌باشد و با دیابت و عوارض ناشی از آن رابطه مستقیم دارد. بررسی‌ها نشان داده است که طی هر دو نوع دیابت ۱ و ۲، استرس

حرا با غلظت ۲۰۰ آنغوزه در روز ۳۰ ( $P=0/497$ )، در مقایسه غلظت ۱۰۰ حرا با غلظت ۲۰۰ آنغوزه در روز ۱۵ ( $P=0/21$ )، و مقایسه غلظت ۲۰۰ حرا با غلظت ۱۰۰ آنغوزه در روز ۱۵ ( $P=0/133$ ) بود.

همچنین در مقایسه میزان اثر بخشی عصاره حرا و آنغوزه بر افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشخص گردید که گروه تحت تیمار با غلظت ۲۰۰ عصاره گیاه آنغوزه میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در روز پانزدهم، بطور معنی‌داری بیشتر از گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه حرا است ( $P=0/019$ ). به علاوه، در گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه حرا میزان فعالیت آنزیم گلوکوتیون اس ترانسفراز در روز پانزدهم، بطور معنی‌داری بیشتر از گروه تحت تیمار با غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه آنغوزه است ( $P=0/026$ ) همچنین تفاوت معنی‌داری بین گروه تیمار شده با غلظت ۲۰۰ عصاره گیاه حرا و غلظت ۱۰۰ عصاره گیاه آنغوزه در روزهای ۱۵ ( $P=0/005$ ) و ۳۰ ( $P=0/032$ ) مشاهده شد. گروه‌های مورد مقایسه تفاوت معنی‌داری از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نشان ندادند.

با توجه به نتایج حاصل از مقایسه دو نوع عصاره مورد استفاده در کاهش میزان مالون دی‌آلدئید و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشخص شد که عصاره حرا عملکرد مناسب‌تری نسبت به عصاره آنغوزه داشته است.

### بحث

در پژوهش حاضر مشخص شد فعالیت آنزیم‌های SOD، GST و CAT در موش‌های صحرایی دیابتی بطور معنی‌داری کاهش و میزان پراکسیداسیون لیپیدی افزایش می‌یابد. با توجه به تحقیقات انجام شده گزارش شده است



دچار آسیب می‌شوند (۵). در بیماران دیابتی اختلالات متابولیک منجر به استرس اکسیداتیو و اختلال در عملکرد میتوکندری گردیده که از علل مهم ضایعات ایجاد شده در نوروپاتی دیابتی می‌باشد (۲۵). با اندازه‌گیری غیر مستقیم استرس اکسیداتیو در نورون‌های حسی نمونه‌های دیابتی، این موضوع تایید شده است (۲۵).

از مشخصه‌های اصلی آسیب‌های عصبی ناشی از دیابت اختلال در عملکردهای شناختی، صدمه به حافظه و کاهش یادگیری می‌باشد. بررسی‌ها نشان داده است که دیابت سبب اختلال در حافظه و یادگیری می‌گردد. همچنین تحریک فیبرهای عصبی میلین‌دار و غیر میلین‌دار در افراد دیابتی مشاهده می‌شود که منجر به کاهش آستانه درد و بالتبع آن کاهش کیفیت زندگی در این افراد می‌گردد (۵).

مطالعات نشان داده‌اند که ترکیبات آنتی‌اکسیدانی تاثیر مطلوبی بر کنترل نوروپاتی ناشی از دیابت دارند (۲۲). در مطالعه‌ای که توسط شریفی و همکاران، بر روی موش‌های دیابتی انجام شد مشخص گردید که میزان مالون دی‌آلدئید در نورون موش‌های دیابتی افزایش و میزان فعالیت آنزیم SOD کاهش یافت (۲۵). در بررسی‌های انجام شده توسط فقیهی و همکاران نیز مشخص شد که مهم‌ترین عامل آسیب به بافت عصبی و نورون‌ها، افزایش گلیکوزیله شدن پروتئین‌ها و لیپیدهای مغز می‌باشد. علاوه بر آن تولید گونه‌های اکسیژن فعال در حین هیپرگلیسمی سبب اختلال در عملکرد صحیح نورون‌ها می‌گردد (۵). استفاده از گیاهان حاوی ترکیبات فلاونوئیدی از جمله کوئرستین و کامپفرول می‌تواند در کاهش آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو و کاهش آپتوز سلول‌های بافت مغز در بیماران دیابتی موثر باشد (۲۲).

ترکیبات موجود در گیاهان دارویی می‌توانند با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های GPX، CAT و SOD

اکسیداتیو افزایش می‌یابد. دیابت وابسته به انسولین، هیپرگلیسمی مزمن با افزایش تولید پراکسید هیدروژن و کتوآلدئیدها از طریق اکسیداسیون خود به خودی گلوکز باعث صدمه به سلول‌ها می‌شود. رادیکال‌های آزاد بطور کنترل نشده‌ای در بیماران دیابتی به وسیله اکسیداسیون گلوکز، گلیکاسیون غیر آنزیماتیک پروتئین‌ها و به دنبال آن تخریب اکسیداتیو پروتئین‌های گلیکوله ایجاد می‌شوند (۲۳). افزایش سطوح رادیکال‌های آزاد و کاهش همزمان فعالیت آنتی‌اکسیدانی بدن می‌تواند منجر به صدمه بافت‌های بدن بویژه بافت مغز شده همچنین پراکسیداسیون لیپیدی و مقاومت به انسولین را افزایش دهد (۴). سلول‌ها با تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله گلوکاتایون، ویتامین E، ویتامین C و آنزیم‌هایی مانند گلوکاتایون اس-ترانسفراز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز از خودشان در مقابل رادیکال‌های آزاد بویژه ROS محافظت می‌کنند. آنتی‌اکسیدان‌ها مواد بیوشیمیایی مهمی هستند که DNA را در برابر آسیب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. مشخص شده است گیاهان دارویی با دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدان می‌توانند با کاهش رادیکال‌های آزاد ناشی از دیابت موجب بهبود آسیب‌های وارده به سلول‌ها شوند (۲۴). وقتی اسیدهای چرب غیراشباع تحت تاثیر رادیکال‌های آزاد قرار گیرند، یک سری واکنش‌های زنجیره‌ای منجر به تشکیل لیپیدهای الکترون دوست و پراکسیداسیون لیپیدی می‌شود. در اثر پراکسیداسیون لیپیدی مالون‌دی‌آلدئید که یکی از سمی‌ترین انواع آلدئید است ایجاد و منجر به آسیب‌های سلولی و بافتی می‌شود (۲۴).

بیماری نوروپاتی دیابتی یک عرضه مهم در دیابت نوع ۱ و ۲ محسوب می‌شود. طی این عرضه قسمت‌های مختلف مغز از جمله تالاموس، هیپوتالاموس، هیپوکامپ و مخچه





حضور آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند فلاونوئید و ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنوئیدی نسبت داده شد (۱۶). در پژوهشی مشخص شد تجویز عصاره گیاه چرخه با غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم موجب بهبود پارامترهای اسپرمی، افزایش تعداد اسپرم و کاهش آتروفی لوله‌های اسپرم‌ساز در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود و نیز به دلیل دارا بودن ترکیبات آنتی‌اکسیدانی موجب افزایش محافظت اسپرم‌ها در مقابل رادیکال‌های می‌شود (۲۸). مطالعه‌ای نشان داد عصاره گیاه چرخه موجب افزایش ترشح انسولین و کاهش گلوکز خون و نیز افزایش میانگین تعداد و قطر جزایر لانگرهانس در موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود (۱۵).

بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر میزان MDA در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش‌های سالم بطور معنی‌داری افزایش یافت. همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GST و CAT در موش‌های دیابتی در مقایسه با موش‌های سالم بطور معنی‌داری کاهش نشان داد. نتایج این بررسی نشان داد که تجویز عصاره آبی گیاهان آنگوزه و حرا با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به موش‌های صحرایی دیابتی به مدت ۳۰ روز بصورت یک روز درمیان موجب بهبود سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD، GST، CAT و میزان MDA سلول‌های بافت مغز در مقایسه با نمونه‌های دیابتی می‌شود. همچنین در مقایسه میزان اثربخشی دو نوع عصاره مورد استفاده مشخص شد که عصاره هر دو گیاه مورد بررسی خواص آنتی‌اکسیدانی داشته و سبب مهار استرس اکسیداتیو در سلول‌های بافت مغز شده اند با این حال عصاره گیاه حرا عملکرد نسبتاً مناسب‌تری نسبت به عصاره گیاه آنگوزه نشان داده است.

نقش محافظتی در برابر استرس اکسیداتیو و آسیب‌های بافتی ناشی از دیابت داشته باشند. از آنجا که تضعیف سیستم آنتی‌اکسیدانی یکی از عوارض بیماری دیابت می‌باشد، می‌توان با تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی در افراد دیابتی تا حدودی از پیشرفت بیماری جلوگیری کرد (۲۶). بررسی‌ها نشان داده است که گیاه آنگوزه و حرا دارای ترکیباتی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی می‌باشند که می‌توانند در مهار استرس اکسیداتیو ناشی از دیابت موثر واقع گردند (۹، ۱۰، ۱۲). ترکیباتی نظیر آزاوئیتیدین، فروکولیسین، آزاوئیتیدینول، آزاوئیتیدینول B، سارادافرین، استرهای جدید و فوئیتیدین از گروه کومارین‌های سزکوئی ترپنوئیدی از رزین صمغ آنگوزه جداسازی شده است. خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه حرا را نیز به وجود ترکیبات فیتوالکسین، تری ترپن، ساپونین و فلاونوئیدی در این گیاه نسبت داده‌اند (۲۷). بررسی‌ها نشان داده است که عصاره هیدروالکلی گیاه آنگوزه می‌تواند موجب کاهش سطح سرمی قند خون در اثر افزایش سطح سرمی انسولین شود (۱۳). اثرات ضد دیابتی این عصاره را می‌توان به حضور آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند فلاونوئید و ترکیبات آلکالوئیدی و ترپنوئیدی نسبت داد. همچنین مشخص شده است تجویز عصاره گیاه آنگوزه علاوه بر اصلاح نسبی اختلالات متابولیکی ناشی از هیپرگلیسمی و کاهش سطح سرمی گلوکز خون، می‌تواند در ترمیم زخم افراد دیابتی نیز تاثیر بسزایی داشته باشد (۱۴). براساس تحقیقات انجام شده مشخص شد عصاره هیدروالکلی گیاه چرخه با افزایش ترشح انسولین در نتیجه هیپرتروفی سلول‌های بتا پانکراس می‌تواند موجب کاهش سطح سرمی قند خون موش‌های صحرایی دیابتی شود. این اثرات به خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی گیاه چرخه و



## نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره آبی گیاهان آنگوزه و حرا با غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بصورت وابسته به دوز موجب بهبود شاخص‌های استرس-اکسیداتیو سلول‌های بافت مغز موش‌های صحرایی دیابتی می‌شود. همچنین با توجه به نتایج بررسی حاضر می‌توان گفت عصاره آبی گیاه حرا در کاهش آسیب‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو تا حدودی موثرتر از گیاه آنگوزه است. محدودیت‌های این مطالعه شامل عدم بررسی‌های سلولی و مولکولی در مورد نتایج بدست آمده و عدم امکانات لازم جهت بررسی مکانیسم دقیق ترکیبات عصاره گیاهان مورد بررسی در بهبود شرایط استرس اکسیداتیو می‌باشد.

با توجه به نقش گسترده آنتی‌اکسیدان‌ها به خصوص در بیماران دیابتی پیشنهاد می‌شود مطالعات بیشتری بر روی خواص آنتی‌اکسیدانی گیاه آنگوزه و حرا و نقش آنها در کنترل عوارض دیابت در حجم نمونه وسیع‌تر صورت گیرد. می‌توان با آنالیز بیوشیمیایی عصاره گیاه حرا و صمغ گیاه آنگوزه، اثر ترکیبات آن را بر پارامترهای استرس اکسیداتیو در بیماران دیابتی مورد بررسی قرار داد. همچنین مطالعات تکمیلی و گسترده‌تری پیرامون شناخت دقیق مکانیسم-های سلولی و مولکولی مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی عصاره این گیاهان در کنترل دیابت و استرس اکسیداتیو لازم است، تا اطلاعات در زمینه اثرات بالقوه آن کامل‌تر شود.

## References

1. Sheikhpour R. Diabets and oxidative stress: The mechanism and action. *Ijdo* 2013; 5(1):40-5.
2. Pop-Busui R, Sima A, Stevens M. Diabetic neuropathy and oxidative stress. *Diabetes Metab Res Rev* 2006; 22(4):257-73.
3. Hosseini A, Abdollahi M. Diabetic neuropathy and oxidative stress: Therapeutic perspectives. *Oxid Med Cell Longe* 2013; 2013:1-15.
4. Fatehi-Hassanabad Z, Chan CB, Furman BL. Reactive oxygen species and endothelial function in diabetes. *Eur J Pharmacol* 2010; 636(1-3):8-17.
5. Faghihi N, Mohammadi MT, Salem F. Effect of atrovastatin on hyperglycemia induced brain oxidative stress and neuropaty induced by diabetes. *J Birjand Univ Med Sci* 2015; 21(1):48-58
6. Jafari Mg, Zangiabadi N, Tajadini H, Shabani M, Sheibani V, Ghasemi GH, *et al.* Effect of date adua extract and melatonin on diabetic neuropaty in STZ induced diabetic rat. *Hormozgan Med J* 2012; 17(4):289-97. [Persian]
7. Hye-won R, Ji-Na L, Hyung-Rhokim M. Protective mechanism of glucose against alloxan-induced B-cell damage. *Exp Mol Med* 2000; 32(1):12-7.
8. Vadim D. Mechanisms of oxidative stress in plants: From classical chemistry to cell biology. *Environ Exper Bot* 2015; 109:212-28.
9. Revathi P, Jayaseelan senthinath T, Thiromalaikolundusuberamanian P, Piabhu N. An overview of antidiabetic profile of mangrove plants. *Int J Pharm Pharm Sci* 2014; 6(3):1-5.
10. Fathi Moghaddam H, Mokhtari M, Kamaei A, Ahangarpour A. Effects of *Avicennia marina* leaves aqueous and hydro alcoholic extract on Streptozotocin induced diabetic male rats. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2011; 10(4):245-54. [Persian]
11. Mahera SA, Saifullah SM, Ahmad VU, Mohammad FV. Phytochemical studies on mangrove *Avicennia marina*. *Pak J Bot* 2013; 45(6):2093-4.
12. Iranshahy M, Iranshahi M. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of asafetida (*Ferula assafoetida* oleo-gum-resin)-a review. *J Ethnopharmacol* 2011; 134(1):1-10.
13. Rahbarian R, Sadooghi SD. Investigating the effects of aqueous extract of asafetida resin on the serum level of insulin and blood glucose in type 1 diabetic rats. *Shahrekord Univ Med Sci J* 2014; 16(3):16-21. [Persian]



14. Sadooghi SD. Effects of aqueous extract of asafoetida resin on wound healing of streptozotocin induced diabetic rats. *Q Horizon Med Sci* 2013; 19(3):129-35. [Persian]
15. Sadoughi SD, Chamipa M. Effects of aqueous extract of *Holothuria arenicola* and low frequency electromagnetic field on serum insulin, glucose and beta-amyloid (A $\beta$ 1-42) in diabetic rats. *Feyz* 2016; 20(1):1-10. [Persian]
16. Sadoughi SD, Edalatmanesh M. The effect of Curcumin and weak low-frequency electromagnetic fields on thyroid hormones in type 1 male diabetic rats. *J Zanjan Univ Med Sci* 2017; 25(110):34-45. [Persian]
17. Babizhayev MA, Stokov IA, Nosikov VV, Savel'yeva EL, Sitnikov VF, Yegorov YE, *et al.* The role of oxidative stress in diabetic neuropathy: generation of free radical species in the glycation reaction and gene polymorphisms encoding antioxidant enzymes to genetic susceptibility to diabetic neuropathy in population of type 1 diabetic patients. *Cell Biochem Biophys* 2015; 71(3):1425-43.
18. Chen CH, Lu Y, Chen Y, Lee W, Lu CH, Chen Y, *et al.* Hemopexin is up-regulated in plasma from type 1 diabetes mellitus patients: Role of glucose-induced ROS. *J Proteomics* 2012; 75(12):3760-77.
19. Kuo CW, Shen CJ, Tung YT, Chen HL, Chen YH, Chang WH, *et al.* Extracellular superoxide dismutase ameliorates streptozotocin-induced rat diabetic nephropathy via inhibiting the ROS/ERK1/2 signaling. *Life Sci* 2015; 135:77-86.
20. Varsha MKNS, Thiagarajan R, Manikandan R, Dhanasekaran G. Vitamin K alleviates streptozotocin-induced type 1 diabetes by mitigating free radical stress, as well as inhibiting NF- $\kappa$ B activation and iNOS expression in rat pancreas. *Nutrition* 2014; 31(1):214-22.
21. Salimnejad R, Jalali M, Nikravesh MR, Fazel AR. Effect of Garlic aqueous extract on markers of oxidative stress in diabetic rats testes. *J Rafsanjan Univ Med Sci* 2014; 13(4):371-82. [Persian]
22. Farhadi M, Jameie SB, Hayat P. Study of the antioxidant effects of total flavonoids extracts of *Cuscuta Lehmanniana Bunge* against on PC12 cells in vitro diabetic model. *Razi J Med Sci* 2011; 18(90):17-26. [Persian]
23. Davi G, Falco A, Patrono C. Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal* 2005; 7(1-2):256-68.
24. Chang YC, Chuang LM. The role of oxidative stress in the pathogenesis of type 2 diabetes: from molecular mechanism to clinical implication. *Am J Transl Res* 2010; 2(3):316-31.
25. Pishgooli A. Diabetic neuropathy and prevention of it. *J Army Univ Med Sci IR Iran.* 2011; 11(1):7-12. [Persian]
26. Shrilatha B, Muralidhara. Occurrence of oxidative impairments, response of antioxidant defences and associated biochemical perturbations in male reproductive milieu in the Streptozotocin diabetic rat. *Int J Androl* 2007; 30(6):508-18.
27. Kafilzadeh F, ZEinali Sh, Solhjoo K. Evaluation of antibacterial activity of *Avicennia marina* young branch and mature leaf extract in Khor-e- Tiab Hormozgan province. *Environ Sci Technol* 2015; 17(3):15-23. [Persian]
28. Behnam-Rassouli M, Ghayour N, Ghayour M, Ejtehadi M. Investigating the effects of hydro-alcoholic extract of *Launaea acanthodes* on the serum levels of glucose, insulin, lipids and lipoproteins in streptozotocin induced type I diabetic rats. *Arak Med Univ Sci J* 2012; 14(6):48-56. [Persian]

1.